



CONFEDERAZIONE SVIZZERA
UFFICIO FEDERALE DELLA PROPRIETÀ INTELLETTUALE

⑪ CH 653 008 A5

**⑯ Int. Cl.4: C 07 C 101/30
A 61 K 31/205**

Brevetto d'invenzione rilasciato per la Svizzera ed il Liechtenstein
Trattato sui brevetti, del 22 dicembre 1978, fra la Svizzera ed il Liechtenstein

⑫ FASCICOLO DEL BREVETTO A5

㉑ Numero della domanda: 1485/81

㉓ Titolare/Titolari:
Sigma-Tau Industrie Farmaceutiche Riunite
S.p.A., Roma (IT)

㉒ Data di deposito: 05.03.1981

㉔ Inventore/Inventori:
Cavazza, Claudio, Roma (IT)
De Witt, Paolo, Roma (IT)
Tinti, Maria Ornella, Roma (IT)

㉕ Priorità: 06.03.1980 IT 48099/80

㉖ Mandatario:
A. Braun, Braun, Héritier, Eschmann AG,
Patentanwälte, Basel

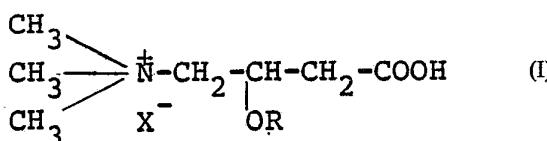
**㉗ Fascicolo del
brevetto pubblicato il:** 13.12.1985

㉘ Acil-derivati della carnitina, procedimento per la loro preparazione e composizione farmaceutica.

㉙ Viene descritta una nuova classe di acil-derivati della carnitina in cui il radicale acilico è il radicale di acidi organici insaturi (tipicamente, l'acido acrilico) oppure di acidi organici saturi sostituiti con radicali ter-alchilici, cicloalcanici, cicloalchenici, alcossidici, eterociclici, aldeidi-ci, carboalcossi, o con ossidrili. Tali acil-derivati della carnitina sono utili agenti terapeutici nel trattamento di disturbi cardiaci, dislipidemie e iperlipoproteinemie.

RIVENDICAZIONI

1. Acil-derivati della carnitina aventi formula generale:



in cui: X^- è un anione e R è il radicale dei seguenti acidi organici:

- (a) acidi organici insaturi;
- (b) acidi organici saturi sostituiti con un radicale ter-alchilico;
- (c) acidi organici saturi sostituiti con un radicale cicloalcanico;
- (d) acidi organici saturi sostituiti con un radicale cicloalchenico;
- (e) acidi organici saturi sostituiti con un radicale alcossidico;
- (f) acidi organici saturi sostituiti con un radicale carboalcossi;
- (g) acidi organici saturi idrossi-sostituiti;
- (h) acidi organici saturi sostituiti con un gruppo aldeidico;
- (i) acidi organici saturi sostituiti con un radicale eterociclico.

2. Acil-derivati della carnitina secondo la rivendicazione 1, in cui detto acido (a) è scelto nel gruppo comprendente acido acrilico, acido vinil-acetico e acido allil-acetico.

3. Acil-derivati della carnitina secondo la rivendicazione 1, in cui detto acido (b) è scelto nel gruppo comprendente acido ter-butil acetico e acido ter-butil propionico.

4. Acil-derivati della carnitina secondo la rivendicazione 1, in cui detto acido (c) è scelto nel gruppo comprendente acido ciclopantan-carbossilico, acido ciclopantan-acetico, acido ciclopantan-propionico, acido ciclosil-acetico e acido ciclosil-butirrico.

5. Acil-derivati della carnitina secondo la rivendicazione 1, in cui detto acido (d) è scelto nel gruppo comprendente acido 3-cicloesan-carbossilico e acido 2-ciclopanten-acetico.

6. Acil-derivati della carnitina secondo la rivendicazione 1, in cui detto acido (e) è scelto nel gruppo comprendente acido metossiacetico e acido etossiacetico.

7. Acil-derivati della carnitina secondo la rivendicazione 1, in cui detto acido (f) è scelto nel gruppo comprendente acido 3-carbometossipropionico e acido 4-carbometossi butirrico.

8. Acil-derivati della carnitina secondo la rivendicazione 1, in cui detto acido (g) è scelto nel gruppo comprendente acido 2-idrossi isobutirrico, acido 2-idrossi isovalerico, acido 2-idrossi isocaproico, acido 2-idrossi-2-metil butirrico, acido 2-metil-3-idrossi-propionico, acido 2-idrossi-ter-butil-acetico, acido 3-idrossi-3-metil-glutarico (monoestere), acido 3-idrossi-2-metil-glutarico (monoestere) e acido 3-idrossi propionico.

9. Acil-derivati della carnitina secondo la rivendicazione 1, in cui detto acido (h) è scelto nel gruppo comprendente acido 2-formil propionico e acido formil-isobutirrico.

10. Acil-derivati della carnitina secondo la rivendicazione 1, in cui detto acido (i) è scelto nel gruppo comprendente acido 1,2-ditiolano-3-pentanoico, acido 2-tiofencarbossilico e acido 2-tiofenacetico.

11. Acil-derivati della carnitina secondo le rivendicazioni 1-10 nelle loro forme otticamente attive.

12. Acil-derivati della carnitina secondo le rivendicazioni 1-10 nella loro forma racema.

13. Acil-derivati della carnitina secondo la rivendicazione 1, in cui detto anione X^- è alogeno o solfato.

14. Sale farmaceuticamente accettabile degli acil-derivati secondo le rivendicazioni 1-13.

15. Composizione farmaceutica per il trattamento di disfunzioni cardiache, iperlipoproteinemie e dislipidemie, comprendente una quantità terapeuticamente efficace di un acil-derivato della carnitina secondo le rivendicazioni 1-13.

16. Composizione farmaceutica per il trattamento di di-

sfunzioni cardiache, iperlipoproteinemie e dislipidemie, comprendente una quantità terapeuticamente efficace di un sale farmaceuticamente accettabile secondo la rivendicazione 14.

17. Procedimento per preparare gli acil-derivati della carnitina secondo la rivendicazione 1, comprendente:

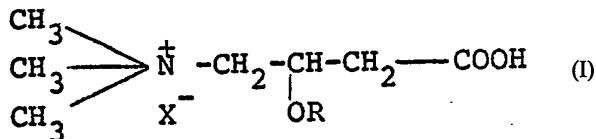
- (1) preparare il cloruro del corrispondente acido da (a) a (i), e
- (2) far reagire il cloruro dello stadio (1) con cloruro di carnitina in presenza di un solvente organico, ad una temperatura compresa fra la temperatura ambiente e 80°C.

18. Procedimento secondo la rivendicazione 17, in cui detto solvente organico è scelto nella classe costituita da acido trifluoroacetico e dall'acido (a) — (i) corrispondente a detto cloruro dello stadio (1).

15

La presente invenzione riguarda una nuova classe di acil-derivati della carnitina (β -idrossi γ -butirrobetaina), un procedimento per la loro preparazione e una composizione farmaceutica che li comprende.

Gli acil-derivati secondo l'invenzione rispondono alla formula generale:



30 in cui: X^- è un anione, preferibilmente alogeno o solfato, e R è il radicale dei seguenti acidi organici:

- (a) acidi organici insaturi: acido acrilico, acido vinil-acetico e acido allil-acetico;
- (b) acidi organici saturi sostituiti con un radicale ter-alchilico: acido ter-butil acetico e acido ter-butil propionico;
- (c) acidi organici saturi sostituiti con un radicale cicloalcanico: acido ciclopantan-carbossilico, acido ciclopantan-acetico, acido ciclopantan-propionico, acido ciclosil-acetico e acido ciclosil-butirrico;
- (d) acidi organici saturi sostituiti con un radicale cicloalchenico: acido 3-cicloesan-carbossilico e acido 2-ciclopanten-acetico;
- (e) acidi organici saturi sostituiti con un radicale alcossidico: acido metossiacetico e acido etossiacetico;
- (f) acidi organici saturi sostituiti con un radicale carboalcossi: acido 3-carbometossipropionico e acido 4-carbometossi butirrico;
- (g) acidi organici saturi idrossi-sostituiti: acido 2-idrossi isobutirrico, acido 2-idrossi isovalerico, acido 2-idrossi isocaproico, acido 2-idrossi-2-metil butirrico, acido 2-metil-3-idrossi-propionico, acido 2-idrossi-ter-butil-acetico, acido 3-idrossi-3-metil-glutarico (monoestere), acido 3-idrossi-2-metil-glutarico (monoestere) e acido 3-idrossi-propionico;
- (h) acidi organici saturi sostituiti con un gruppo aldeidico: acido 2-formil propionico e acido formil-isobutirrico;
- (i) acidi organici saturi sostituiti con un radicale eterociclico: acido 1,2-ditiolano-3-pentanoico, acido 2-tiofencarbossilico e acido 2-tiofenacetico.

La presente invenzione riguarda composti rispondenti alla formula (I) nella forma otticamente attiva (D oppure L) e nella forma racema (D, L) e i relativi sali farmacologicamente accettabili otticamente attivi o no.

I composti rispondenti alla formula generale (I) infatti possono essere preparati come tali o sotto forma di sali con acidi minerali o acidi organici alifatici e aromatici mono o pluricarbossilici o con acidi solfonici o con acidi sulfammici.

In genere i composti rispondenti alla formula (I) e i corrispondenti sali farmacologicamente accettabili hanno dimostrato

interessanti attività cardiotropiche, iperlipoproteinemiche e dislipidemiche.

I composti rispondenti alla formula generale (I) normalmente vengono preparati sotto forma di cloruri.

Si preferisce infatti far reagire la β -idrossi γ -butirrobetaina cloruro con i cloruri acidi dei composti precedentemente menzionati (a) - (i).

Il procedimento per la preparazione di questi nuovi acil-derivati avviene normalmente a temperatura compresa tra 0°C e 80°C in ambiente anidro e in presenza di un solvente organico scelto nella classe costituita da acido trifluoroacetico e dell'acido (a) - (i) precedentemente menzionato in relazione ai composti di formula (I), corrispondente al cloruro acido impiegato. Quando il cloruro acido è solido e non facilmente solubile in detto solvente organico è possibile migliorarne la solubilità, in modo da ottenere un sistema omogeneo, aggiungendo una leggera quantità di solvente clorurato, come ad esempio cloroformio o cloruro di metilene anidro.

Bisognerà curare in modo particolare l'anidricità dell'ambiente proteggendo il sistema di reazione con opportuni mezzi disidratanti, ad esempio tubi a CaCl_2 .

Al termine della reazione la miscela risultante viene raffreddata e in genere trattata con acetone; il solido che eventualmente si separa viene scartato, mentre viene raccolto il precipitato che si forma per aggiunta di etere etilico.

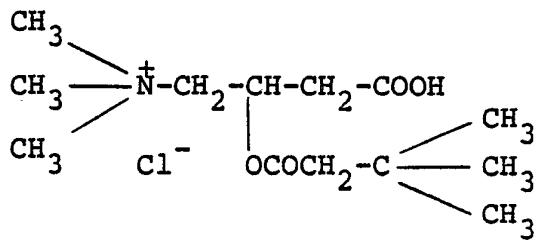
Il prodotto che precipita può essere purificato per cristallizzazione sempre con etere etilico. In genere bastano una o due cristallizzazioni per ottenere un prodotto ad elevato grado di purezza che può essere facilmente controllato per cromatografia su strato sottile usando lastre di silice ed eluenti vari come $\text{CHCl}_3\text{-MeOH-NH}_4\text{OH}$ conc. (50:30:8 v/v) o $n\text{BuOH-AcAc-H}_2\text{O}$ (60:20:20 v/v).

In genere le rese di reazione variano tra 60 e 85% senza tener conto dell'eventuale abbassamento che si può avere in fase di purificazione per cristallizzazione.

I seguenti esempi, oltre a riportare numerosi dati chimico-fisici dei principali prodotti riguardanti la presente invenzione, sono esplicativi del metodo di sintesi senza per questo limitare la validità dell'invenzione stessa.

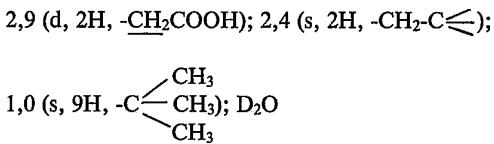
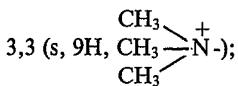
Esempio 1

Preparazione della ter-butil acetil carnitina cloruro



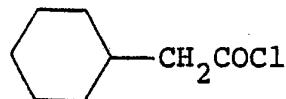
Carnitina cloruro (1,97 g; 0,01 moli) venne sciolta in acido trifluoro-acetico (10 cc). Alla soluzione venne aggiunto lentamente sotto agitazione ter-butil acetil cloruro acido (1,4 cc; 0,01 moli). La miscela risultante venne tenuta sotto agitazione a temperatura ambiente per 48 ore. Alla miscela si aggiunge Et_2O e si filtrò il precipitato ottenuto. Il prodotto grezzo venne cristallizzato da isopropanolo-etero etilico, con ottenimento di un prodotto puro, PF 164-165°C, resa 80%

$\text{NMR } \delta 5,6 (\text{m}, 1\text{H}, -\text{CH}-);$
 $|$
 OCO
 $3,9 (\text{d}, 2\text{H}, \text{N}^+-\text{CH}_2-);$



Esempio 2

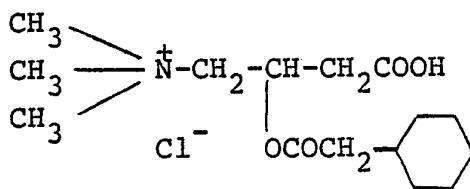
(a) Preparazione del cicloesil acetil cloruro



Acido cicloesil acetico (2,5 g; 0,02 moli) venne mescolato con SOCl_2 (3,7 cc; 0,05 moli) e la soluzione risultante fu mantenuta a 80°C per 1,5 ore.

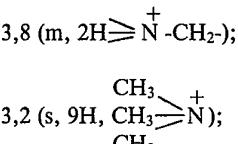
Si concentrò sotto vuoto e si eseguirono dei lavaggi con toluolo anidro per eliminare il cloruro di tionile. Si essicca quindi sotto vuoto e si ottenne il prodotto del titolo allo stato grezzo che venne utilizzato tal quale per il successivo stadio (b).

(b) Preparazione della cicloesil acetil carnitina cloruro

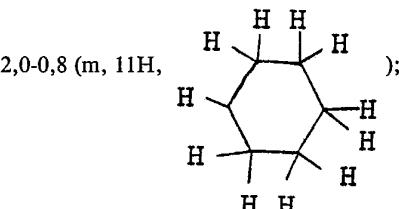


Carnitina cloruro (2,97 g; 0,01 moli) venne sciolta in acido trifluoro-acetico (10 cc). A questa soluzione si aggiunse il ciclosil acetil cloruro preparato come descritto precedentemente (0,01 moli) e si tenne sotto agitazione per 48 ore. Si aggiunse quindi etere etilico e si lasciò sotto agitazione per 0,5 ore alla temperatura di 0°C. Si ottenne un precipitato, che venne filtrato ed essiccato sotto vuoto. PF 161-162°C, resa 70%

$\text{NMR } \delta 5,6 (\text{m}, 1\text{H}, -\text{CH}-);$
 $|$
 OCO



$2,8 (\text{d}, 2\text{H}, -\text{CH}_2\text{COOH}); 2,3 (\text{d}, 2\text{H}, \text{O}-\text{COCH}_2-);$

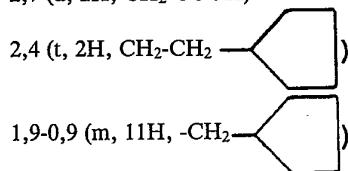
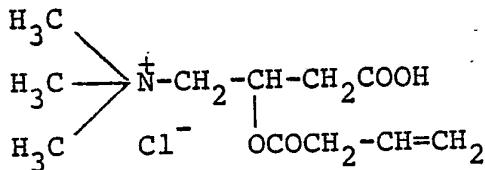


*Esempio 3**Preparazione della ciclopentanpropionil carnitina cloruro*

Carnitina cloruro (1,97 g; 0,01 moli) venne sciolta in acido trifluoroacetico (10 cc). Alla soluzione venne aggiunta lentamente sotto agitazione 3-ciclopentanpropionil cloruro (1,60 g; 0,01 moli). La miscela risultante venne tenuta tutta la notte a 45°C sotto agitazione. La miscela venne quindi raffreddata, si aggiunse acetone (40 ml) e si lasciò sotto agitazione per 2 ore in ghiaccio. Il precipitato formatosi venne allontanato per filtrazione e al filtrato si aggiunse etere etilico. Precipitò un solido bianco che venne disciolto in etanolo: acetone (5:1) e riprecipitato con etere.

PF 170-172°C, resa 90%.

NMR (D_2O) δ 5,5 (m, 1H, $CH_2-CH-CH_2$)
2,8 (d, 2H, $N-CH_2$)
3,2 (s, 9H, $(CH_3)_3$)
2,7 (d, 2H, CH_2-COOH)

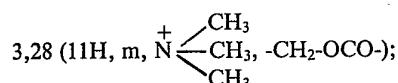
*Esempio 4**Preparazione della vinil acetil carnitina cloruro*

Ad una soluzione di carnitina cloruro (2 g, 0,01 moli) in acido trifluoroacetico (6 ml) venne aggiunto vinil acetil cloruro (1,8 ml; 0,02 moli), sotto agitazione magnetica ed a temperatura ambiente.

La miscela di reazione venne quindi portata a 50°C e tenuta a reagire per una notte. Raffreddata a temperatura ambiente, la miscela venne versata in etere etilico (200 ml) e lasciata sotto agitazione per 20 min. Si decantò la fase eterica ed il precipitato così ottenuto venne ripreso con acetonitrile e la soluzione lasciata riposare per 2 ore. Si filtrò per eliminare la carnitina non reagita, che si è separata come solido cristallino e si precipita la soluzione filtrata con etere etilico. Il prodotto, così ottenuto, si presentava come un solido bianco cristallino.

TLC ($CHCl_3/MeOH/H_2O/NH_4OH$, 55:35:5:5) R_f 0,55.

NMR (D_2O) δ : 2,88 (2H, d- CH_2-COOH);



3,73-4,03 (2H, m, - CH_2-N);

5,06-6,26 (4H, m, $CH_2=CH-$, - $CH-$)



Nel medesimo spettro NMR erano presenti, altresì, i seguenti segnali significativi, che vennero assegnati all'isomero crotonoilcarnitina:
 δ 1,95 (3H, d.d., $CH_3-C=$); 6,64-7,38 (2H, m, - $CH=CH-$).

Dal calcolo degli integrali dei suddetti segnali fu possibile valutare la quantità dell'isomero in questione, presente nel prodotto, in misura del 15-20% circa.

*Esempio 5**Preparazione dell'etossiacetyl carnitina isobutilestere*

(a) Preparazione della carnitina isobutilestere. Carnitina 10 cloruro (10 g; 0,05 moli) venne sospesa in 100 ml di alcool isobutilico.

Si raffreddò con bagno a ghiaccio e si fece gorgogliare acido cloridrico gassoso fino a completa saturazione. La risultante miscela venne mantenuta per due ore a ricadere. La miscela 15 venne concentrata per eliminare l'alcool, il concentrato venne sciolto in acqua distillata e si neutralizzò con resina IR-45. Il prodotto risultante venne liofilizzato, con ottenimento di 12 g di carnitina isobutilestere.

(b) Preparazione del cloruro dell'acido etossiacetico. Ad 20 acido etossiacetico (1,3 cc; 0,012 moli) si aggiunse cloruro di tionile (1,1 cc; 0,0125 moli). La miscela risultante fu mantenuta a temperatura ambiente per 12 ore. La miscela di reazione venne lavata tre volte con una miscela di cloroformio-tere etilico anidro e successivamente concentrata sotto vuoto (80 mm Hg), 25 a 30°C. Si ottennero 1,15 g di cloruro dell'acido etossiacetico.

(c) Reazione fra carnitina isobutilestere e cloruro dell'acido etossiacetico.

Carnitina isobutilestere (1,1 g; 0,043 moli) venne sciolta in acetone anidro e alla risultante soluzione si aggiunse il cloruro dell'acido etossiacetico (1,15 g; 0,009 moli). La miscela di reazione venne portata a secco e il residuo mantenuto sotto gas inerte (argon) a temperatura ambiente per due giorni. Successivamente, il residuo venne cristallizzato da isopropanolo-tere etilico. Si ottenne il prodotto del titolo con resa del 65%.

35 T.L.C. Eluente: $CHCl_3$ 40
 CH_3OH 40
 CH_3COONa 0,01M 10

40 NMR D_2O δ 5,8 (1H, m, CH);



4,2 (2H, s, - $COCH_2O-$);

4,0 (4H, m, - $COOCH_2-$, O- CH_2CH_3);

3,7 (2H, d, $\geqslant^+ N CH_2-$);

50 3,3 (9H, s, CH_3 $\begin{array}{c} + \\ \diagup \\ N \\ \diagdown \\ CH_3 \end{array}$); 2,7 (2H, d, - CH_2COO-);

55 1,9 (1H, m, CH $\begin{array}{c} CH_3 \\ | \\ CH_3 \end{array}$); 1,6 (2H, t, - CH_2CH_3);

60 1,1 (6H, d, - CH $\begin{array}{c} CH_3 \\ | \\ CH_3 \end{array}$).

*Esempio 6**Preparazione della 3-cicloesenilcarbossilcarnitina cloruro*

(a) Preparazione del 3-cicloesencarbossilcloruro.
Acido cicloesen carbossilico (1,2 cc; 0,01 moli) venne mescolato

con ossalil cloruro (0,9 cc; 0,01 moli) e la risultante soluzione fu mantenuta sotto agitazione a temperatura ambiente per 3,5 ore.

La soluzione fu quindi concentrata sotto vuoto (100 mm Hg; t = 70°C). Il prodotto grezzo che si ottenne venne impiegato tal quale nello stadio successivo.

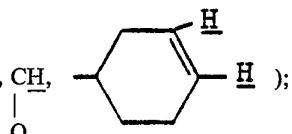
(b) Reazione del 3-cicloesencarbossilcloruro con carnitina cloruro.

Carnitina cloruro (1 g; 0,05 moli) venne sciolta in acido trifluoracetico (2 cc). Alla risultante soluzione si aggiunse lentamente sotto agitazione a temperatura ambiente il cloruro dello stadio precedente (0,01 moli). La risultante miscela di reazione venne mantenuta sotto agitazione per 15 ore. Si aggiunse etere etilico e si ottenne un precipitato che venne successivamente lavato per due volte con etere etilico per eliminare l'eccesso di cloruro acido.

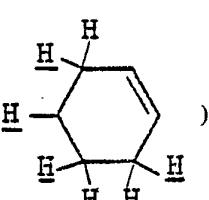
Il precipitato venne filtrato ed essiccato sotto vuoto.
Resa: 90%

| | | |
|-----------------|----------------------|----|
| T.L.C. Eluente: | CHCl ₃ | 60 |
| | MetOH | 40 |
| | H ₂ O | 15 |
| | Isopr OH | 10 |
| | CH ₃ COOH | 15 |

NMR (D₂O) δ 5,76 (3H, m, CH₂,)



3,9 (2H, d, >N+ -CH₂-); 3,27 (9H, s, CH₃—N+—CH₃);
2,86 (2H, d, -CH₂COO-); 2,00 (7H, m,)



Esempio 7

Preparazione della 3-carbometossipropionilcarnitina cloruro

Ad una soluzione di carnitina cloruro (g. 4; 20 m moli) in TFA si aggiunse 3-carbometossipropionil cloruro (3,0 cc; 24 m moli) e la risultante miscela di reazione venne lasciata sotto agitazione a 45°C tutta la notte.

Si raffreddò e si aggiunse etere etilico. Il solido che si formò venne cristallizzato da iso-propanolo.

PF 160-161°C.

T.L.C.: CH Cl₃MeOH/CH₃COONa 40/40/20 m.u.

NMR: D₂O = 2,75 (4H s, CH₂ - CH₂)
2,80 (2H d, CH₂ - COOH)
3,25 (9H s, (CH₃)₃)
3,70 (3H s, COOCH₃)
3,80 (2H d, N-CH₂)
5,65 (m, -CH₂-CH-CH₂)

Esempio 8

Preparazione della 4-carbometossibutirrilcarnitina cloruro

Ad una soluzione di cloruro di carnitina (2,0 g; 10 m moli) in acido trifluoroacetico (5 cc), si aggiunse 4-carbometossibutirril cloruro (1,65 cc; 12 m moli) e la risultante miscela di

reazione venne mantenuta a temperatura ambiente sotto agitazione per 24 ore. A questa miscela si aggiunse quindi dell'etere etilico anidro. Si formò un solido che venne allontanato per filtrazione e fu cristallizzato da isopropanolo a caldo.

5 PF 130-132°C.

NMR D₂O δ 5,6 (1H, m, -CH-);



10 3,7 (5H, m, >N+ -CH₂, OCH₃); 3,2 (9H, s, CH₃—N+—CH₃);
2,8 (2H, d, -CH₂COOH);
2,4 (4H, m, OCOCH₂CH₂CH₂-COO-);
1,9 (2H, m, -OCO-CH₂-CH₂-CH₂-COO)

15

Esempio 9

Preparazione della metossi acetil carnitina cloruro

20 Una miscela di acido metossiacetico (3 ml; 0,04 moli) e di metossi acetil cloruro (3 ml; 0,03 moli) venne mantenuta sotto agitazione a 30°C per 2 ore. A questa miscela venne aggiunto cloruro di carnitina (4 g; 0,02 moli) che era stato precedentemente essiccato. La miscela risultante venne portata a 40°C e mantenuta sotto agitazione per sette giorni. La miscela venne quindi ripresa con acetonitrile e cloruro di carnitina non reagito venne allontanato per filtrazione. Per aggiunta di terz-butil metil etere precipitò un olio. La precipitazione dell'olio venne ripetuta quattro volte con acetonitrile/terz-butil metil etere. L'olio che si separò alla fine venne liofilizzato. Si ottengono in tal modo 4 grammi di metossi acetil carnitina cloruro.

Resa: 75%.

NMR D₂O δ 5,68 (1H, m, -CH-); 4,21 (2H, s, -COCH₂O-);



35 3,85 (2H, d, >N+ -CH₂-); 3,45 (3H, s, -OCH₃);
3,23 (9H, s, CH₃—N+—CH₃); 2,85 (2H, d, -CH₂COOH)

40

Esempio 10

Preparazione della etossi acetil carnitina cloruro

Una miscela di acido etossiacetico (5 ml; 0,07 moli) e di etossi acetil cloruro (1,8 ml; 0,015 moli) che era stata preparata come descritto nello stadio (b) dell'esempio 5, venne mantenuta sotto agitazione a 80°C per 2 ore. A questa miscela venne aggiunta carnitina cloruro (2 g; 0,01 moli) che era stata precedentemente essiccata. La risultante miscela fu prima mantenuta a 80°C fino a completa dissoluzione della carnitina, poi a 40°C per 8 giorni. Una ulteriore quantità di etossi acetil cloruro (0,9 ml; 0,007 moli) venne aggiunta e la risultante miscela fu tenuta a 40°C per 7 giorni. Per aggiunta alla miscela di terz-butil metil etere precipitò un olio. La precipitazione dell'olio venne ripetuta quattro volte con aceto nitrile/terz-butil metil etere fino alla completa scomparsa dell'acido etossiacetico in eccesso. Si ottengono in tal modo 1,5 grammi del composto del titolo.

60 Resa: 75%.

NMR D₂O δ 5,96 (1H, m, -CH-); 4,23 (2H, s, -COCH₂O-);



65 3,78-3,50 (4H, m, >N+ -CH₂-; -OCH₂CH₃);

3,23 (9H, s, CH₃—N+—CH₃);
2,85 (2H, d, -CH₂COOH); 1,2 (3H, t, -OCH₂CH₃)

Attività farmacologica

La tossicità acuta dei composti di formula generale (I) è stata studiata nel topo col metodo di Weil (Weil C.S., Biometr; J. 8, 249, 1952).

I valori della DL50 di alcuni composti riportati nella tabella I, indicano che i composti stessi sono ottimamente tollerati.

L'effetto cardiocinetico è stato studiato sul preparato di cuore di coniglio isolato secondo il metodo di Langendorff.

Dei cuori isolati con tale metodo vennero perfusi con soluzione di Ringer ossigenata a 38,2°C. Le contrazioni isometriche, l'elettrocardiogramma e il flusso coronarico vennero registrati usando un poligrafo «Battaglia-Rangoni».

Escludendo l'ossigeno dal fluido di perfusione venne indotto un danno metabolico nel muscolo cardiaco, fino a raggiungere la riduzione dell'80% della forza contrattile cardiaca.

In queste condizioni di anossia prolungata la glicolisi aerobica del miocardio viene rallentata, con la conseguente formazione di cataboliti acidi dovuta all'accumulo di acido piruvico e alla sua conversione in acido lattico che non può venir utilizzato a causa dell'abbassamento degli enzimi piridinici, quali ad esempio la LDH (lattodeidrogenasi).

Ciò ha una ripercussione sulla glicolisi anaerobica influenzante un numero sempre crescente di enzimi, cui si accompagna un progressivo e crescentemente critico esaurimento del miocardio. Si verifica pertanto una serie di affaticamenti del miocardio che può venir rilevata dal comportamento dei parametri esaminati, cioè la forza contrattile, il flusso coronarico, il battito cardiaco e il ritmo cardiaco. Non appena la forza contrattile risultava ridotta dell'80%, il fluido di perfusione veniva nuovamente ossigenato senza aggiungere altri composti (controlli) oppure con l'aggiunta dei composti in esame.

La tabella II fornisce i valori percentuali della forza contrattile del cuore che illustrano un effetto inotropo positivo, calcolato dopo 10 minuti dall'interruzione del periodo anossico (ripristino miocardico).

L'effetto antiaritmico dei composti è stato inoltre investigato nel topo secondo la procedura di P.W. Nwangwu, e T. Holcslow (P.W. Nwangwu, T.L. Holcslow, Arch. Int. Pharmacodyn. 229, 219 [1977]). Impiegando aconitina (5 γ/ml) come agente che induce le aritmie, vennero registrate le modificazioni

nel ritmo cardiaco degli animali e l'istante di insorgenza dell'aritmia iniziale e/o della tachicardia ventricolare venne impiegata quale punto finale. I risultati sono riportati nella tabella III.

L'effetto dei composti sulla modificazione dell'assetto lipoproteico come pure sui livelli plasmatici del colesterolo e dei trigliceridi, alterati per somministrazione orale di olio di oliva, è stato studiato nel ratto normalmente alimentato, trattato con olio di oliva, 15 ml Kg⁻¹ per os un'ora prima della somministrazione del composto e con i composti sempre per os a varie concentrazioni.

L'effetto maggiore, a due ore dal trattamento con l'olio, espresso con un aumento di trigliceridi e colesterolo, con riduzione delle α lipoproteine ed aumento delle frazioni β e pre β è stato bene antagonizzato da alcuni composti, che come appare dalla tabella IV, si sono rivelati capaci di riportare i parametri alla normalità raggiungendo ampiamente i limiti della significatività statistica.

20 TAVOLA I

DL 50, mg Kg⁻¹ ep nel topo, di alcuni acil derivati della carnitina aventi formula generale (I). Metodo di Weil (N=5, K=4).

| | D150 | e limiti fiduciali |
|-----------------------------|------|--------------------|
| 25 Composti | 1380 | (950-1800) |
| acrilil-CAR | 1200 | (800-1600) |
| vinil-CAR | 1115 | (789-1440) |
| ter-butil ACAR | 850 | (572-1128) |
| cicloesil ACAR | 925 | (675-1175) |
| 30 cicloesil-butiril CAR | 1200 | (850-1550) |
| 2-ciclopenten ACAR | 760 | (545-975) |
| etossiacetil CAR | 985 | (709-1260) |
| 3 carbometossipropionil CAR | 1470 | (1170-1770) |
| 2 idrossi isobutiril CAR | 1585 | (1227-1943) |
| 35 2 idrossi isovaleril CAR | 1010 | (850-1170) |
| formil propionil CAR | 2120 | (1820-2420) |
| etossi ACAR | 1980 | (1630-2330) |
| metossi ACAR | 1870 | (1620-2120) |
| monometilglutaril CAR | | |

TAVOLA II

Effetto di alcuni acil derivati della carnitina, di formula generale (I) sulla forza contrattile del cuore di coniglio «in vitro».

| Composti | Concentrazione | forza contrattile media ± ESM | P |
|-----------------------------|--------------------|-------------------------------|---------|
| Krebs. (controllo) | — | 26,93 ± 5,31 | |
| acrilil CAR | 10 ⁻⁶ M | 55,31 ± 4,36 | ≤ 0,01 |
| vinil CAR | 10 ⁻⁶ M | 48,25 ± 5,12 | ≤ 0,01 |
| ter butil ACAR | 10 ⁻⁶ M | 59,33 ± 5,26 | ≤ 0,001 |
| cicloesil ACAR | 10 ⁻⁶ M | 43,18 ± 4,81 | ≤ 0,05 |
| cicloesil butiril CAR | 10 ⁻⁶ M | 42,15 ± 4,17 | ≤ 0,05 |
| 2 ciclopenten ACAR | 10 ⁻⁶ M | 59,83 ± 3,26 | ≤ 0,01 |
| etossiacetil CAR | 10 ⁻⁶ M | 62,25 ± 3,24 | ≤ 0,01 |
| 3 carbometossipropionil CAR | 10 ⁻⁶ M | 70,35 ± 5,23 | ≤ 0,001 |
| 2 idrossi isobutiril CAR | 10 ⁻⁶ M | 73,88 ± 4,12 | ≤ 0,001 |
| 2 idrossi isovaleril CAR | 10 ⁻⁶ M | 82,53 ± 4,09 | ≤ 0,001 |
| formil propionil CAR | 10 ⁻⁶ M | 74,26 ± 4,15 | ≤ 0,001 |
| etossi ACAR | 10 ⁻⁶ M | 78,15 ± 3,12 | ≤ 0,001 |
| metossi ACAR | 10 ⁻⁶ M | 81,25 ± 4,08 | ≤ 0,001 |
| monometilglutaril CAR | 10 ⁻⁶ M | 58,12 ± 4,25 | ≤ 0,01 |

TAVOLA III

Effetto di alcuni acil derivati della carnitina di formula generale (I) sulla aritmia da Aconitina nel topo. % dell'aumento del tempo di latenza per la comparsa delle aritmie e della tachicardia rispetto al gruppo di controllo.

| Composti | concentrazioni mg kg ⁻¹ i.v. | tempo di latenza per aritmie | tempo di latenza per tachicardia | n. |
|------------------------------|---|------------------------------|----------------------------------|----|
| acril CAR | 50 | 45 | 39 | |
| vinil CAR | 38 | 53 | 41 | |
| ter-butil ACAR | 25 | 59 | 36 | |
| cicloesil ACAR | 35 | 63 | 44 | 15 |
| cicloesil butiril ACAR | 50 | 48 | 32 | |
| ciclopenten ACAR | 100 | 40 | 20 | |
| etossiacetyl CAR | 100 | 40 | 20 | |
| 3 carbometossi propionil CAR | 25 | 65 | 39 | |
| 2 idrossi isobutiril CAR | 25 | 55 | 48 | 20 |
| 2 idrossi isovaleril CAR | 40 | 60 | 30 | |
| formil propionil CAR | 60 | 55 | 34 | |
| etossi ACAR | 20 | 60 | 55 | |
| metossi ACAR | 25 | 65 | 50 | |
| monometilglutaril CAR | 30 | 52 | 40 | 25 |
| Quinidina | 8,9 | 50 | 41,7 | |

TAVOLA IV

Effetto di alcuni acil derivati della carnitina di formula generale (I) sui livelli plasmatici di colesterolo (COL), trigliceridi (TG) e lipoproteine (α - β - pre β) nel ratto trattato con olio di oliva, 15 ml Kg⁻¹ os. 1 ora prima del composto.

| Composti | mg Kg ⁻¹ | olio ml Kg ⁻¹ | TG mg/100 ml | COL mg/100 ml |
|------------------------------|---------------------|--------------------------|---------------------|-------------------|
| Bianco | — | — | 72,12 ± 6,15 ▲ | 65,15 ± 6,18 ▲ |
| Controllo | — | 15 | 215,36 ± 20,18 | 96,18 ± 4,16 |
| vinil CAR | 300 | 15 | 112,15 ± 15,16 n.s. | 78,15 ± 6,16 n.s. |
| ter-butil-Car | 350 | 15 | 99,36 ± 10,12 ▲ | 70,12 ± 3,24 △ |
| cicloesil-CAR | 400 | 15 | 100,12 ± 15,16 △ | 85,15 ± 4,26 n.s. |
| 3 carbo metossipropionil CAR | 350 | 15 | 88,15 ± 15,36 ▲ | 69,25 ± 3,26 ▲ |
| 2 idrossi isobutiril CAR | 450 | 15 | 100,29 ± 12,48 ▲ | 75,03 ± 4,12 △ |
| etossi ACAR | 250 | 15 | 78,25 ± 10,12 ▲ | 70,26 ± 6,48 ▲ |
| metossi ACAR | 300 | 15 | 85,14 ± 13,26 ▲ | 72,12 ± 6,87 ▲ |
| monometilglutaril CAR | 400 | 15 | 120,36 ± 14,15 ▲ | 81,27 ± 5,92 n.s. |

TAVOLA IV (continuazione)

| Composti | mg Kg ⁻¹ | olio ml Kg ⁻¹ | Lipoproteine % | | |
|------------------------------|---------------------|--------------------------|-------------------|-------------------|-------------------|
| | | | α | β | pre β |
| Bianco | — | — | 36,15 ± 2,12 ▲ | 10,15 ± 1,23 △ | 49,22 ± 2,17 △ |
| Controllo | — | 15 | 23,28 ± 2,19 | 16,12 ± 1,48 | 56,45 ± 2,36 |
| vinil CAR | 300 | 15 | 29,46 ± 3,15 n.s. | 14,13 ± 1,63 n.s. | 48,89 ± 2,96 n.s. |
| ter-butil-CAR | 350 | 15 | 31,12 ± 2,17 □ | 13,27 ± 1,12 □ | 51,36 ± 2,11 □ |
| cicloesil-CAR | 400 | 15 | 36,48 ± 2,36 ▲ | 12,15 ± 1,09 ▲ | 49,12 ± 2,17 △ |
| 3 carbo metossipropionil CAR | 350 | 15 | 34,17 ± 3,23 △ | 11,18 ± 1,15 ▲ | 50,03 ± 2,09 △ |
| 2 idrossi butiril CAR | 450 | 15 | 27,19 ± 3,48 n.s. | 10,36 ± 1,12 ▲ | 48,36 ± 1,15 ▲ |
| etossi ACAR | 250 | 15 | 37,15 ± 2,17 ▲ | 10,28 ± 1,52 ▲ | 42,15 ± 2,27 ▲ |
| metossi ACAR | 300 | 15 | 36,39 ± 3,12 ▲ | 12,32 ± 1,65 ▲ | 45,83 ± 3,46 ▲ |
| monometilglutaril CAR | 400 | 15 | 35,28 ± 3,94 n.s. | 14,25 ± 1,83 n.s. | 51,12 ± 4,15 n.s. |

Test «t» di Student per la differenza rispetto al controllo.

□, △ e ▲ indicano rispettivamente P ≤ 0,05; 0,01 e 0,001. N=6

Preparazioni farmaceutiche

1. Soluzioni e soluzioni acqueose sterili contenenti acilcarnitine di formula (I) in concentrazioni da 25 mg a 500 mg per ml.

(a) L'eccipiente per ampolle/fiale iniettabili viene preparato in accordo alla seguente composizione non limitativa:

| | |
|---|-----------|
| sodio carbossimetil cellulosa (a bassa viscosità) | 10 mg/ml |
| polisorbato 80 | 4 mg/ml |
| propilbaraben | 0,4 mg/ml |

acqua per iniezioni sufficiente per ampolle/fiale da 1 ml, 2 ml, 5 ml e 10 ml.

(b) L'eccipiente per bottiglie da fleboclisi contenenti 50 ml, 100 ml, 250 ml, 500 ml e 1000 ml viene preparato in accordo alla seguente composizione non limitativa:

| | |
|-------------------|----------|
| NaCl | 8,6 g/l |
| KCl | 0,3 g/l |
| CaCl ₂ | 0,33 g/l |

acqua per iniezioni quanto basta a 1 litro.

(c) L'eccipiente per bottiglie per uso orale contenenti da 5

ml a 100 ml viene preparato in accordo alla seguente composizione non limitativa:

| | |
|--------------------------|-----------|
| Mannitolo | 11 mg/ml |
| Sorbitolo | 600 mg/ml |
| Sodio benzoato | 3 mg/ml |
| Estratto d'arancia | 200 mg/ml |
| Vitamina B ₁₂ | 3 mcg/ml |

sufficiente acqua pura.

2. Pastiglie contenenti da 20 mg a 500 mg di acilcarnitina di formula (I). L'eccipiente venne preparato in accordo alla seguente composizione non limitativa:

| | |
|--------|-----|
| Amido | 45% |
| Avicel | 45% |
| Talco | 10% |

3. Capsule contenenti da 20 mg a 500 mg di acil carnitina di formula (I) senza eccipienti.

4. Aerosol e spray da 500 mg a 10 g di acilcarnitina di formula (I). L'eccipiente viene preparato in accordo alla seguente composizione non limitativa:

| | |
|------------|-----|
| Etanolo | 30% |
| Acqua pura | 30% |

sufficiente freon 12/114 (50 parti/50 parti).