

Brevet N° **82387**
du **22 avril 1980**
Titre délivré : **31 JUIL. 1980**

GRAND-DUCHÉ DE LUXEMBOURG

D. 51.115

BE-621



Monsieur le Ministre
de l'Économie Nationale et des Classes Moyennes
Service de la Propriété Industrielle
LUXEMBOURG

Demande de Brevet d'Invention

I. Requête

La société dite: **SIGMA-TAU Industrie Farmaceutiche Riunite** (1)
S.p.A., 47, Viale Shakespeare, à 00144 ROME, Italie, repré-
sentée par Monsieur Jacques de Muyser, agissant en qualité (2)
de mandataire

dépose ce **vingt-deux avril 1980** quatre-vingt (3)
à **15** heures, au Ministère de l'Économie Nationale et des Classes Moyennes, à Luxembourg :

1. la présente requête pour l'obtention d'un brevet d'invention concernant :
"Esters d'acyl-carnitines, leur procédé de préparation et (4)
compositions pharmaceutiques contenant ces esters".

déclare, en assumant la responsabilité de cette déclaration, que l'(es) inventeur(s) est (sont) :
Claudio CAVAZZA, 35, Via Marocco, à 00144 ROME, Italie (5)

2. la délégation de pouvoir, datée de **ROME** le **11 avril 1980**
3. la description en langue **française** de l'invention en deux exemplaires ;
4. **//** planches de dessin, en deux exemplaires ;
5. la quittance des taxes versées au Bureau de l'Enregistrement à Luxembourg,

le **22 avril 1980**
revendique pour la susdite demande de brevet la priorité d'une (des) demande(s) de
(6) **brevet** déposée(s) en (7) **Italie**
le **23 avril 1979 (No. 48816A/79)** (8)

au nom de **la déposante** (9)
élit domicile pour lui (elle) et, si désigné, pour son mandataire, à Luxembourg
35, bld. Royal (10)

sollicite la délivrance d'un brevet d'invention pour l'objet décrit et représenté dans les annexes
susmentionnées, — avec ajournement de cette délivrance à **//** mois.

Le **mandataire**

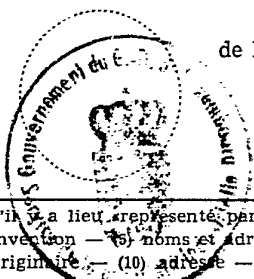
II. Procès-verbal de Dépôt

La susdite demande de brevet d'invention a été déposée au Ministère de l'Économie Nationale
et des Classes Moyennes, Service de la Propriété Industrielle à Luxembourg, en date du :

22 avril 1980

à **15** heures

Pr. le Ministre
de l'Économie Nationale et des Classes Moyennes,
p. d.

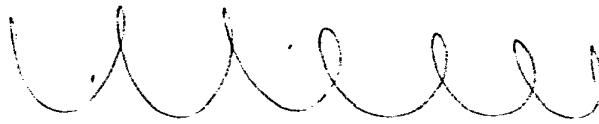


A 68007

(1) Nom, prénom, firme, adresse — (2) s'il y a lieu, représenté par ... agissant en qualité de mandataire — (3) date du
dépôt en toutes lettres — (4) titre de l'invention — (5) noms et adresses — (6) brevet, certificat d'addition, modèle d'utilité
— (7) pays — (8) date — (9) déposant originaires — (10) adresse — (11) 6, 12 ou 18 mois.

REVENDEICATION DE LA
PRIORITE DU DEPOT DE
LA DEMANDE DE BREVET
EN ITALIE
DU 23 avril 1979

D. 51.115



Mémoire Descriptif

déposé à l'appui d'une demande de

BREVET D'INVENTION

au

Luxembourg

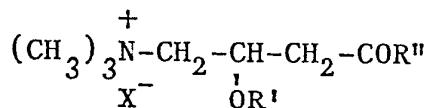
formée par: SIGMA-TAU Industrie Farmaceutiche Riunite S.p.A.

pour: Esters d'acyl-carnitines, leur procédé de préparation et
compositions pharmaceutiques contenant ces esters.



La présente invention concerne une nouvelle classe d'esters d'acyl-carnitines, leurs procédés de préparation et les compositions pharmaceutiques contenant ces esters.

Plus particulièrement, la présente invention concerne des esters d'acyl-carnitines répondant à la formule générale (I) :



dans laquelle

X^- représente un anion halogène, de préférence, un anion Cl^-

R' représente un groupe acétyle, un groupe acétyle substitué par un atome d'halogène (par exemple, un groupe chloracétyle, un groupe dichloracétyle, un groupe bromacétyle et analogues), un groupe propionyle, un groupe propionyle substitué par un atome d'halogène (par exemple, un groupe bromopropionyle), un groupe butyryle, un groupe butyryle substitué par un atome d'halogène (par exemple, un groupe chlorobutyryle), un groupe isobutyryle, un groupe β -hydroxybutyryle, un groupe acétoacétyle, un groupe linoléyle et un groupe pantothényle, et

R'' représente un groupe méthoxy, un groupe éthoxy, un groupe propyloxy, un groupe butyloxy (à condition que R' ne soit pas un groupe acétyle), un groupe isopropyloxy, un groupe isobutyloxy, un groupe trichloréthoxy, un groupe trifluoréthoxy, un groupe 3-carbéthoxy-2-propyloxy, un groupe 3-pyridylméthoxy, un groupe 2-diéthylaminoéthoxy, un groupe 2-acétamido-3-méthyl-butyloxy, un groupe 2-acétamido-4-méthyl-pentyloxy, un groupe 2-acétamido-3-méthyl-pentyloxy et un groupe 4-hydroxyméthyl-5-hydroxy-6-méthyl-pyrid-3-yl-méthoxy.

On a trouvé que les composés de la présente invention possédaient des propriétés pharmacologiques intéressantes et que, par conséquent, ils avaient des applications thérapeutiques utiles.

En particulier, on a constaté que les esters de formule (I) étaient dotés d'un effet inotrope important par suite de la prolongation de leur action et du fait qu'ils n'exercent aucun effet pouvant réduire l'excitabilité du myocarde. Sans vouloir donner ici une interprétation théorique, on prétend que cette caractéristique est due au fait que la liaison ester est à même de protéger l'acyl-carnitine contre une dégradation métabolique rapide et contre la chute rapide des niveaux sanguins. Ces composés exercent des effets neurochimiques cérébraux consistant à provoquer des changements dans les activités sérotoninergiques centrales.

En conséquence, ces composés peuvent être utilisés thérapeutiquement :

a) pour le traitement de l'hypocontractilité du myocarde ne s'accompagnant pas de troubles du rythme, par exemple, dans le choc cardiogénique déterminé par l'absence primaire de force contractile ;

b) comme anti-dépressifs dans les cas de sommeil perturbé .

Suivant la présente invention, on prépare les esters de formule (I) à partir de chlorhydrate de carnitine en suivant deux méthodes distinctes de synthèse suivant que le groupe hydroxy de la carnitine est tout d'abord transformé en un groupe acyle, le groupe carboxy de la carnitine étant ensuite estérifié (procédé A) ou suivant que le groupe carboxy de la carnitine est tout d'abord estérifié, le groupe hydroxy de la carnitine étant ensuite transformé en

un groupe acyle (procédé B).

Plus spécifiquement, le procédé A comprend les étapes consistant à :

a) ajouter, à une solution de carnitine dans un solvant choisi parmi le groupe comprenant les acides organiques et les anhydrides correspondants, un halogénure d'acyle de formule $R'X$ dans laquelle R' a la signification indiquée ci-dessus, tandis que X représente un atome d'halogène, et maintenir la température du mélange ainsi obtenu à environ 15-60°C pendant environ 4-48 heures pour obtenir ainsi le dérivé acylé correspondant de carnitine ;

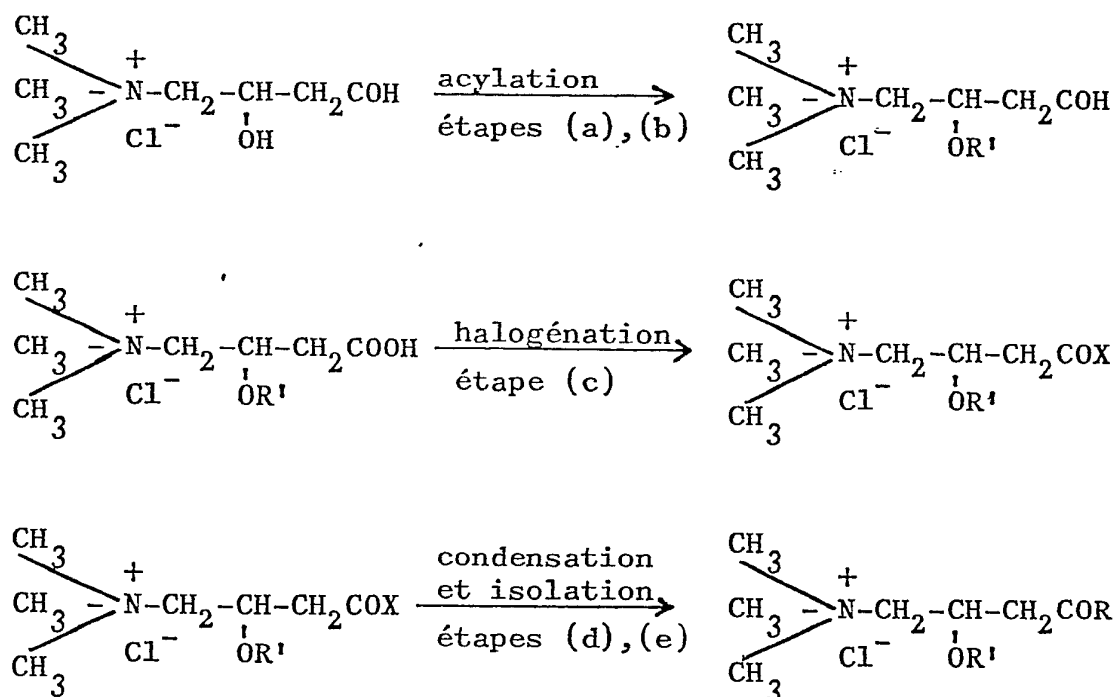
b) isoler le dérivé acylé de carnitine en ajoutant, au mélange de l'étape (a), un agent de précipitation et en purifiant par des cristallisations répétées ;

c) faire réagir le dérivé acylé de carnitine de l'étape (b) avec un excès d'un agent d'halogénéation à une température d'environ 25-60°C pendant environ 0,3-24 heures et éliminer l'excès d'agent d'halogénéation pour obtenir ainsi l'halogénure d'acide correspondant du dérivé acylé de carnitine ;

d) condenser l'halogénure d'acide du dérivé acylé de carnitine de l'étape (c) avec un alcool de formule $R''H$ dans laquelle R'' a la signification indiquée ci-dessus, tout en maintenant le mélange ainsi obtenu sous agitation à la température ambiante pendant environ 2-24 heures afin d'obtenir l'ester de formule (I), puis

e) isoler l'ester de formule (I) en séchant le mélange de l'étape (d) et en procédant à des cristallisations répétées dans des solvants organiques.

Le procédé A est illustré par le schéma de synthèse 1 suivant :



Lors de l'étape (a), il est préférable d'halogéner l'acide organique ou l'anhydride correspondant dans lequel est dissoute la carnitine. Les solvants particulièrement préférés sont l'acide trifluoracétique et l'acide trichloracétique.

Lors de l'étape (b), l'agent de précipitation est choisi parmi la classe comprenant les esters et les cétones, l'éther éthylique étant particulièrement préféré. Lors de l'étape de purification par des cristallisations répétées du dérivé acylé de carnitine, on emploie, de préférence, l'éthanol, l'acétone, l'isopropanol et l'acétonitrile.

Lors de l'étape (c), l'halogénéation est, de préférence, une chloruration. De préférence, on effectue la chloruration avec du chlorure de thionyle à une température d'environ 40 à 50°C pendant environ 20 à 40 minutes, ou avec du chlorure d'oxalyle à la température ambiante pendant environ 3-5 heures, ou encore avec du pentachlorure de s.

phosphore dans un milieu organique (par exemple, le chloroforme) à la température ambiante pendant environ 22-26 heures.

Lors de l'étape (d), on effectue la condensation en ajoutant, à l'alcool choisi, les halogénures des dérivés acylés de carnitine tels quels ou en solution dans un solvant organique inerte anhydre (par exemple, le chloroforme ou le chlorure de méthylène).

Le procédé B comprend les étapes consistant à :

(a') mettre la carnitine en suspension dans l'alcool désiré de formule $R''H$;

(b') faire réagir la suspension de l'étape (a') avec un acide inorganique anhydre jusqu'à dissolution complète de la carnitine en suspension, pour obtenir ainsi l'ester correspondant ;

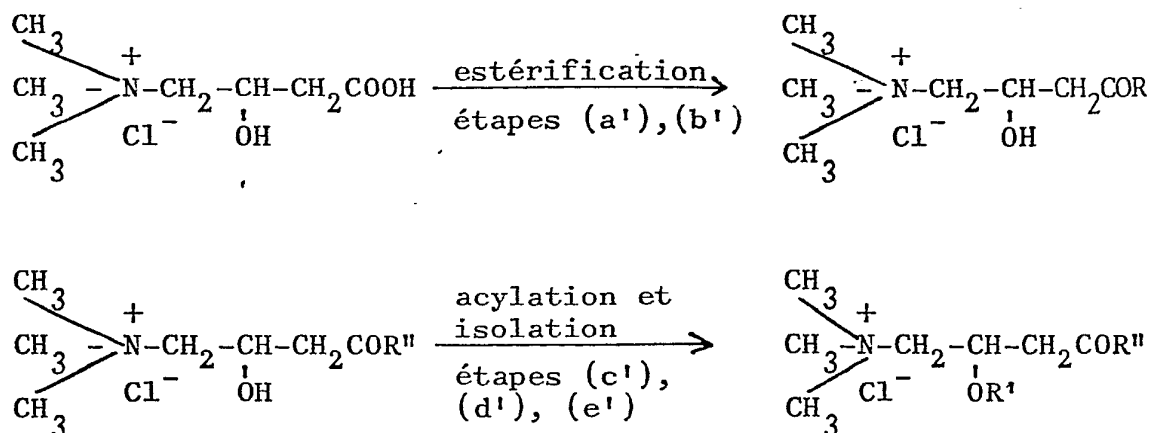
(c') faire réagir l'ester de l'étape (b') avec un excès d'un halogénure d'acyle de formule $R'X$ dans laquelle R' a la signification indiquée ci-dessus, tandis que X représente un atome d'halogène, tout en maintenant le mélange ainsi obtenu à une température d'environ 25-40°C pendant environ 2-24 heures afin d'obtenir l'ester correspondant du dérivé acylé de carnitine de formule (I) ;

(d') traiter le mélange comprenant l'ester de formule (I) avec un solvant organique dans lequel l'excès d'halogénure d'acyle est soluble afin de séparer cet excès d'halogénure d'acyle de l'ester, et

(e') purifier l'ester de formule (I) par des cristallisations répétées.

6

Le procédé B est illustré par le schéma de synthèse 2 suivant :



Lors de l'étape (b'), il est préférable d'effectuer l'estérification en faisant barboter, dans la suspension de carnitine dans un alcool, un courant de HCl gazeux jusqu'à ce que la phase en suspension disparaisse, ou en ajoutant, à la suspension de carnitine dans un alcool, de l'acide sulfurique concentré, pour chauffer ensuite le mélange obtenu à la température de reflux jusqu'à disparition de la phase en suspension.

Lors de l'étape (c'), l'halogénure d'acyle est habituellement un chlorure d'acyle (par exemple, le chlorure d'acétyle, le chlorure de propionyle, le chlorure de butyryle et analogues). L'excès du chlorure d'acyle vis-à-vis de l'ester de carnitine obtenu lors de l'étape (b') est calculé de telle sorte que le rapport molaire entre les deux composés se situe entre 3:1 et 1,5:1 et qu'il soit, de préférence, de 2:1.

Les exemples non limitatifs ci-après illustrent la préparation de certains esters de la présente invention.

4

Exemple 1

Préparation de l'ester isopropylique d'acétyl-carnitine (procédé A)

Préparation de chlorure d'acétyl-carnitine :

On dissout 2 g de chlorure de carnitine dans 20 ml d'acide acétique glacial et on y ajoute 10 ml de chlorure d'acétyle. On maintient le mélange réactionnel à la température ambiante pendant 48 heures. On élimine l'excès de chlorure d'acétyle et le solvant sous vide par chauffage au bain-marie à 50°C. On cristallise le résidu dans un mélange d'isopropanol et d'éther éthylique et l'on obtient ainsi un produit pur.

Point de fusion : 188°C (décomposition).

Rendement : 90%.

Analyse élémentaire pour $C_7H_{16}ClNO_3$:

Calculé : C 42,53 ; H 8,16 ; N 7,09 ; Cl 17,94

Trouvé : C 42,39 ; H 8,18 ; N 7,20 ; Cl 17,63.

Spectre de résonance magnétique nucléaire : δ 5,50 (m, 1H, $-\overset{+}{CH}-$) ; 3,82 (d, 2H, $\overset{+}{>N}-CH_2-$) ; 3,20 (s, 9H, $(CH_3)_3\overset{+}{N}-$) ;
1
OCO

2,68 (d, 2H, $-CH_2-CO$) ; 2,02 (s, 3H, $COCH_3$) ; D_2O

Préparation du chlorure d'acide du chlorure d'acétyl-carnitine :

On met 2 g (0,01 mole) de chlorure d'acétyl-carnitine préparé comme indiqué ci-dessus, en suspension dans 5 cm³ de chlorure d'oxalyle. On maintient le mélange réactionnel à la température ambiante pendant 4 heures. Ensuite, on évapore le chlorure d'oxalyle en excès sous vide. On lave trois fois le résidu avec de petits volumes (10 cm³) d'éther éthylique anhydre et on le maintient sous vide jusqu'à élimination complète du solvant. On utilise le

résidu tel quel lors de la réaction suivante.

Préparation de l'ester isopropylique d'acétyl-carnitine :

On fait réagir 2 g du chlorure d'acide obtenu comme décrit ci-dessus avec un excès (8 cm³) d'isopropanol à la température ambiante sous agitation magnétique pendant 3 heures. Ensuite, on ajoute 400 cm³ d'éther éthylique au mélange réactionnel, après quoi une huile épaisse se dépose. On décante les liqueurs mères et on reprend le précipité avec du CH₃CN anhydre. On sépare l'acétyl-carnitine n'ayant pas réagi de la solution claire et on la filtre. On évapore le CH₃CN. On constate que le résidu séché sur du P₂O₅ constitue le produit désiré.

Rendement : 75%.

Analyse élémentaire pour C₁₂H₂₄ClNO₄ :

Calculé : C 51,15 ; H 8,58 ; N 4,97

Trouvé : C 51,00 ; H 8,55 ; N 4,81.

Spectre de résonance magnétique nucléaire : δ 5,6 (m, 1H, -CH-) ; 5,2 (m, 1H, $\begin{array}{c} \text{CH}_3 \\ \diagup \\ \text{CH} \\ \diagdown \\ \text{CH}_3 \end{array}$) ; 3,7 (d, 2H, $\text{>N-CH}_2\text{-}$) ;
1OCO

3,2 (s, 9H, N (CH₃)₃) ; 2,7 (d, 2H, -CH₂-CO) ; 2,1 (s, 3H, -COCH₃) ; 1,3 (d, 6H, $\begin{array}{c} \text{CH}_3 \\ \diagup \\ \text{CH} \\ \diagdown \\ \text{CH}_3 \end{array}$) ; CD₃CN.

Exemple 2

Préparation de l'ester du chlorure d'acétyl-carnitine avec du β -hydroxybutyrate d'éthyle (procédé A)

Préparation de l'ester éthylique d'acide 3-hydroxy-butyrique :

Pendant 15 heures, on maintient, à la température de reflux, une solution de 2 g (0,02 mole) d'acide 3-hydroxy-butyrique dans 50 cm³ d'éthanol absolu et 2 cm³ d'acide

sulfurique concentré. On évapore l'éthanol, puis on reprend le résidu avec de l'eau et de l'éther éthylique. On lave la phase organique avec une solution diluée de NaHCO_3 , puis avec une solution aqueuse saturée de NaCl jusqu'à neutralité. Ensuite, on sèche la solution sur du Na_2SO_4 anhydre, on la filtre et on l'évapore jusqu'à ce qu'on obtienne un résidu que l'on constate être l'ester éthylique de l'acide 3-hydroxybutyrique. On utilise ce composé tel quel lors de la réaction suivante.

Préparation de l'ester d'acétyl-carnitine avec du β -hydroxy-butyrat d'éthyle :

A une solution du chlorure d'acide d'acétyl-carnitine, préparé comme décrit à l'exemple 1, (0,01 mole dans 30 cm³ de CH_2Cl_2 anhydre), on ajoute l'ester éthylique d'acide β -hydroxy-butyrique préalablement préparé et dissous dans 20 cm³ de CH_2Cl_2 anhydre. On maintient le mélange réactionnel sous agitation à la température ambiante pendant 5 heures. Ensuite, on y ajoute 100 cm³ d'éther éthylique, après quoi une huile épaisse se dépose. On décante la solution et on lave le résidu tout d'abord avec 50 cm³ d'éther éthylique, puis on le reprend avec du CH_3CN anhydre. De la solution, se séparent des cristaux d'acétyl-carnitine que l'on filtre. On précipite à nouveau le filtrat avec de l'éther éthylique. On reprend la substance déposée avec du CH_3CN anhydre, on la filtre et on l'évapore. On obtient une huile épaisse que l'on sèche en présence de P_2O_5 .

Rendement : 60%.

Analyse élémentaire pour $\text{C}_{15}\text{H}_{28}\text{ClNO}_6$:

Calculé : C 50,77 ; H 7,95 ; N 10,02

Trouvé : C 50,31 ; H 7,63 ; N 10,17.

Spectre de résonance magnétique nucléaire : δ 5,6 (m, 1H, $\text{>N-CH}_2\text{-CH}$) ; 5,2 (m, 1H, -CH-O-CO-) ; 4,1 (q, 2H, $\text{O-CH}_2\text{-CH}_3$) ;

3,8 (d, 2H, $\text{>N-CH}_2\text{-}$) ; 3,2 (s, 9H, $\text{N(CH}_3)_3$) ; 2,7 (m, 4H, $\text{-CH}_2\text{COO-CH}$) ; 2,1 (s, 3H, CH_3CO) ; 1,3 (m, 6H, CH_3) ;

$\text{CH}_3\text{-CH}_2$) ; diméthylsulfoxyde.

Exemple 3

Préparation d'ester isopropylique de propionyl-carnitine (procédé B)

Préparation d'ester isopropylique de carnitine :

On met 1,98 g (0,01 mole) de carnitine en suspension dans 10 cm³ d'isopropanol. Dans cette suspension, on fait barboter de l'acide chlorhydrique gazeux anhydre à 5°C jusqu'à saturation. Ensuite, on maintient la solution à 60°C pendant 3 heures, puis on la concentre sous vide et on cristallise le résidu avec un mélange d'isopropanol et d'éther éthylique.

Point de fusion : 145-150°C.

Rendement : 65%.

Analyse élémentaire pour $\text{C}_{10}\text{H}_{22}\text{ClNO}_3$:

Calculé : C 50,10 ; H 9,25 ; N 5,84 ; Cl 14,79%

Trouvé : C 49,65 ; H 9,21 ; N 5,46 ; Cl 14,49%.

Spectre de résonance magnétique nucléaire : δ 5,1 (m, 1H,

$\text{O-CH(CH}_3)_2$) ; 4,5 (couvert, CH-OH) ; 3,5 (d, 2H, $\text{>N-CH}_2\text{-}$) ;

3,2 (s, 9H, $\text{N(CH}_3)_3$) ; 2,7 (d, $\text{2HCH}_2\text{CO}$) ; 1,3 (d, 6H, $\text{CH(CH}_3)_2$) ; D_2O .

Préparation d'ester isopropylique de propionyl-carnitine :

A 1 g (0,005 mole) de l'ester isopropylique de carnitine obtenu comme décrit ci-dessus, on ajoute 1 cm³ (0,01 mole) de chlorure de propionyle. On maintient le mélange obtenu sous agitation à la température ambiante jusqu'à ce qu'au bout de 24 heures, on obtienne une dissolution complète de l'ester isopropylique de carnitine. A la solution ainsi obtenue, on ajoute ensuite de l'éther éthylique, après quoi on observe la précipitation d'une huile épaisse qui, après avoir été reprise plusieurs fois avec un mélange d'isopropanol et d'éther éthylique, donne un composé possédant les caractéristiques suivantes (rendement : 75%) :

Analyse élémentaire pour C₁₃H₂₆ClNO₄ :

Calculé : C 52,78 ; H 8,86 ; N 4,74 ; Cl 11,98

Trouvé : C 52,65 ; H 8,78 ; N 4,65 ; Cl 12,02.

Spectre de résonance magnétique nucléaire : δ 5,7 (m,

1H, CH) ; 4,9 (m, 1H, CH $\begin{smallmatrix} \text{CH}_3 \\ \diagup \\ \text{CH} \\ \diagdown \\ \text{CH}_3 \end{smallmatrix}$) ; 3,8 (d, 2H, N^+-CH_2) ;

3,2 (s, 9H, N (CH₃)₃) ; 2,7 (d, 2H, CH-CH₂CO) ; 2,5 (q, 2H,

CH₂CH₃) ; 1,2 (m, 9H, CH₂-CH₃, CH $\begin{smallmatrix} \text{CH}_3 \\ \diagup \\ \text{CH} \\ \diagdown \\ \text{CH}_3 \end{smallmatrix}$) ; D₂O.

✓

Exemple 4Préparation d'ester isobutylique d'isobutyryl-carnitine
(procédé A).

Préparation d'isobutyryl-carnitine :

A une solution de 3 g (0,015 mole) de carnitine dans 5 cm³ d'acide trifluoracétique, on ajoute goutte à goutte 10 cm³ (0,096 mole) de chlorure d'isobutyryle. On maintient le mélange obtenu à 45°C pendant 4 heures, on y ajoute de l'acétone et on sépare la carnitine résiduelle par filtration. A la solution, on ajoute de l'éther éthylique anhydre et on obtient le produit désiré (2 g ; rendement : 66%) par précipitation.

Point de fusion : 114-116°C.

Chromatographie sur couche mince, éluant : CHCl₃, CH₃OH, NH₃ 50:30:8.

Spectre de résonance magnétique nucléaire : δ 5,7 (m, 1H, -CH-) ; 3,8 (d, 2H, $\overset{+}{\text{N}}\text{-CH}_2\text{-}$) ; 3,23 (s, 9H, $(\text{CH}_3)_3\text{N}^+$) ;
1OCO

2,8 (d, 2H, -CH₂COO-) ; 2,6 (m, 1H, -CH- $\begin{matrix} \text{CH}_3 \\ \text{CH}_3 \end{matrix}$) ; 1,1 (d,

6H, CH- $\begin{matrix} \text{CH}_3 \\ \text{CH}_3 \end{matrix}$) ; D₂O.

Préparation du chlorure d'acide d'isobutyryl-carnitine :

On met 2,7 g (0,01 mole) de l'isobutyryl-carnitine obtenue comme décrit ci-dessus en suspension dans 4,5 cm³ (0,05 mole) de chlorure d'oxalyle et on maintient la suspension ainsi obtenue sous agitation à la température ambiante pendant 4 heures. Ensuite, on dilue la suspension avec de l'éther diéthylique anhydre et on la concentre sous

vide. On traite deux fois le résidu avec de l'éther éthylique anhydre et on utilise le produit brut ainsi obtenu (2,5 g ; 0,009 mole) lors de la réaction suivante.

Préparation d'ester isobutylique d'isobutyryl-carnitine :

Tout en agitant à une température de 0°C, on ajoute 15 cm³ d'isobutanol à 2,5 g (0,009 mole) du chlorure d'acide d'isobutyryl-carnitine préparé comme décrit ci-dessus.

On poursuit l'agitation du mélange réactionnel pendant une heure tout en maintenant encore la température à environ 0°C. Ensuite, on concentre le mélange, on dissout le résidu dans de l'acétone anhydre et on neutralise la solution obtenue avec du Na₂CO₃ anhydre. On filtre le mélange jusqu'à siccité. On constate que le résidu (2,3 g ; 0,007 mole) est l'ester isobutylique d'isobutyryl-carnitine (rendement : 70%).

Spectre de résonance magnétique nucléaire : δ 5,7 (m, 1H,

-CH-) ; 3,9 (m, 4H, $\overset{+}{\text{N}}\text{-CH}_2\text{-}$, -CH₂O-) ; 2,9 (d, 2H, -CH₂COO) ;
 $\overset{\text{OCO}}{\underset{|}{\text{CH}}}$

2,6 (m, 1H, COCH) ; 1,9 (m, 1H, $\text{CH} \begin{matrix} \text{CH}_3 \\ \text{CH}_3 \end{matrix}$) ; 1,1 (d, 6H,

$\text{COCH} \begin{matrix} \text{CH}_3 \\ \text{CH}_3 \end{matrix}$) ; 0,9 (d, 6H, CH₂-CH $\begin{matrix} \text{CH}_3 \\ \text{CH}_3 \end{matrix}$) ; D₂O.

EFFETS PHARMACOLOGIQUES

On étudie les effets pharmacologiques des composés faisant l'objet de l'invention par les techniques suivantes :

a) Toxicité aiguë (dose létale à 50% = DL_{50})

Le procédé adopté est celui décrit par C.S. Weil dans "Tables for convenient calculation of median-effect dose (LD_{50} or ED_{50}) and instructions on their use", Biometrics, 249-263, 1952.

On étudie la tolérance des composés examinés après administration par voie intrapéritonéale ou par voie orale à des rats. Les résultats obtenus démontrent que les composés examinés sont très bien tolérés (voir tableau ci-après).

b) Effet inotrope

On soumet des coeurs de lapins isolés par le procédé de Langendorff à une perfusion dans une solution de Ringer oxygénée à 38,2°C. On enregistre les concentrations isométriques, l'électrocardiogramme et le débit coronaire en utilisant un polygraphe "Battaglia-Rangoni".

On provoque une détérioration métabolique du muscle cardiaque en éliminant l'oxygène du liquide de perfusion jusqu'à ce que la force contractile soit réduite de 80%.

Dans ces conditions d'anoxie prolongée, la glycolyse aérobie du myocarde est ralentie en s'accompagnant d'une accumulation d'acides cataboliques suite à la rétention d'acide pyruvique et à sa transformation en acide lactique que l'on ne peut utiliser par suite de la dépression des enzymes pyridiniques telles que la lacticodéhydrogénase, ce qui altère la glycolyse

anaérobie avec un nombre sans cesse croissant d'enzymes et épuisement progressif et de plus en plus critique du myocarde.

Dès lors, il existe toute une série de niveaux de fatigue du muscle cardiaque que l'on enregistre par l'éventail des paramètres pris en considération, à savoir la force contractile, le débit coronaire, la fréquence du coeur et le rythme cardiaque. Dès que la force contractile est réduite de 80%, on oxygène à nouveau le liquide de perfusion sans ajouter d'autres composés (témoins) ou en ajoutant les composés examinés en concentrations différentes.

On étudie la force contractile du coeur et l'on observe un effet inotrope positif 10 minutes après l'interruption de la période d'anoxie (rétablissement du myocarde).

Les résultats de l'essai "t" de l'"Etudiant" démontrent que les composés étudiés exercent un effet inotrope positif statistiquement significatif vis-à-vis des témoins. Le tableau ci-après illustre les pourcentages plus élevés vis-à-vis des témoins.

c) Effet sur le système nerveux central.

Le procédé adopté est celui décrit par Irwin S., Nodin J.H., Siegler P.E. dans "Animal and Clinical Pharmacologic techniques in Drug Evaluation", "Year Book Medical Publ.", Chicago, E.U.A., 1964, 36.

On effectue la détermination de la sérotonine cérébrale (5-HT) et de l'acide 5-hydroxyindolacétique (5-HIAA) par la technique d'Ansell et Beeson, "Anal. Biochem." 23, 196-206 (1968) "Maickel and Cox Int. J. Neuropharmacol." 7 - 275 - 281 (1968) en utilisant un cerveau de rat que l'on a prélevé une heure après injection intrapéritonéale de 50-100 mg des composés étudiés. (Voir tableau ci-après).

6

TABLEAU

Activité pharmacologique de certains esters de carnitine.

Dose létale à 50% (DL_{50}) par voie intrapéritonéale et par voie orale chez la souris, effet inotrope sur un coeur de lapin $_{50}^{isolé}$.

Concentrations cérébrales de 5-HT et de 5-HIAA chez le rat.

$(CH_3)_3N-CH_2-\underset{\substack{ \\ OR'}}{CH}-CH_2-COR''$	DL_{50} mg kg^{-1} par voie intrapé- ritonéale	par voie orale	Effet inotrope (dose 10^{-5} gl^{-1})		Teneur cérébrale de	
			% des témoins		5-HT (a)	5-HIAA (a)
R' = acétyle					% des témoins	% des témoins
R'' = trichloréthylxy	1.500	4.000	+70		+15	-25
= isopropylxy	700	2.500	+80		+18	-29
= 3-carbéthoxy-2-propylxy	600	2.400	+90		+25	-30
R' = propionyle						
R'' = isopropylxy	800	2.700	+75		+31	-29
= 3-carbéthoxy-2-propylxy	170	1.200	+59		+16	-27
R' = isobutyryle						
R'' = isobutylxy	270	1.300	+69		+18	-29
R' = butyryle						
R'' = méthoxy	80	1.000	+69		+25	-28
R' = acétoacétyle						
R'' = isopropylxy	295	1.800	+67		+20	-25

(a) Valeurs chez les animaux témoins : 5-HT $\mu g \cdot g^{-1} = 732 \pm 18$, 5-HIAA $\mu g \cdot g^{-1} = 430 \pm 7,5$. N=10

Les composés de la présente invention sont administrés par voie orale ou par voie parentérale sous n'importe quelle forme pharmaceutique habituelle que l'on prépare par des procédés classiques bien connus de l'homme de métier spécialisé dans la technologie pharmaceutique. Ces formes englobent les formes de dosage unitaire solides et liquides pour administration par voie orale, par exemple, les comprimés, les capsules, les solutions, les sirops et analogues, de même que les formes injectables telles que les solutions stériles pour ampoules et fioles.

Pour ces formes pharmaceutiques, on emploie les solvants, les diluants et les excipients habituels. De même, des agents édulcorants, aromatisants et de conservation peuvent éventuellement être présents. Comme exemples non limitatifs de ces agents, on mentionnera la carboxyméthylcellulose de sodium, le polysorbate, le mannitol, le sorbitol l'amidon, l'avicel, le talc et d'autres agents bien connus de l'homme de métier spécialisé dans la technologie pharmaceutique.

La dose à administrer sera déterminée par le médecin pratiquant qui tiendra compte de l'âge, du poids et de l'état général du patient en faisant appel à un jugement professionnel sain. Bien que l'on puisse observer des résultats efficaces à des doses quotidiennes aussi faibles que 5 à 8 mg/kg du poids du corps, une dose se situant entre environ 10 et environ 50 mg/kg du poids du corps est cependant préférée. Compte tenu de la faible toxicité des composés de la présente invention, on peut, au besoin, administrer des doses plus importantes en toute sécurité.

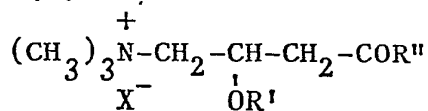
Comme exemples non limitatifs et suivant la forme pharmaceutique spécifique administrée, on peut mentionner les dosages suivants :

pour les fioles :	5 à 500 mg
pour les capsules :	15 à 50 mg
pour les comprimés :	15 à 500 mg
pour les solutions orales :	15 à 50 mg.

6

REVENDECATIONS

1. Esters d'acyl-carnitines répondant à la formule générale (I) :



dans laquelle

X⁻ représente un anion halogène, de préférence, un anion Cl⁻ ;

R' représente un groupe acétyle, un groupe acétyle substitué par un atome d'halogène (par exemple, un groupe chloracétyle, un groupe dichloracétyle, un groupe bromacétyle et analogues), un groupe propionyle, un groupe propionyle substitué par un atome d'halogène (par exemple, un groupe bromopropionyle), un groupe butyryle, un groupe butyryle substitué par un atome d'halogène (par exemple, un groupe chlorobutyryle), un groupe isobutyryle, un groupe β-hydroxy butyryle, un groupe acétoacétyle, un groupe linoléyle et un groupe pantothényle, et

R'' représente un groupe méthoxy, un groupe éthoxy, un groupe propyloxy, un groupe butyloxy (à condition que R' ne soit pas un groupe acétyle), un groupe isopropyloxy, un groupe isobutyloxy, un groupe trichloréthoxy, un groupe trifluoréthoxy, un groupe 3-carbéthoxy-2-propyloxy, un groupe 3-pyridylméthoxy, un groupe 2-diéthylaminoéthoxy, un groupe 2-acétamido-3-méthyl-butyloxy, un groupe 2-acétamido-4-méthyl-pentyloxy, un groupe 2-acétamido-3-méthyl-pentyloxy et un groupe 4-hydroxyméthyl-5-hydroxy-6-méthyl-pyrid-3-yl-méthoxy.

h

2. Esters suivant la revendication 1, caractérisés en ce que le groupe acétyle substitué par un atome d'halogène est choisi parmi le groupe chloracétyle, le groupe dichloracétyle et le groupe bromacétyle, le groupe propionyle substitué par un atome d'halogène est le groupe bromopropionyle, tandis que le groupe butyryle substitué par un atome d'halogène est le groupe chlorobutyryle.

3. Procédé de préparation des esters de formule (I), caractérisé en ce qu'il comprend les étapes qui consistent à :

a) ajouter, à une solution de carnitine dans un solvant choisi parmi le groupe comprenant les acides organiques et les anhydrides correspondants, un halogénure d'acyle de formule $R'X$ dans laquelle R' a la signification indiquée ci-dessus, tandis que X représente un atome d'halogène, et maintenir la température du mélange ainsi obtenu à environ 15-60°C pendant environ 4-48 heures pour obtenir ainsi le dérivé acylé correspondant de carnitine ;

b) isoler le dérivé acylé de carnitine en ajoutant au mélange de l'étape (a), un agent de précipitation et en purifiant par des cristallisations répétées ;

c) faire réagir le dérivé acylé de carnitine de l'étape (b) avec un excès d'un agent d'halogénéation à une température d'environ 25-60°C pendant environ 0,3-24 heures et éliminer l'excès d'agent d'halogénéation pour obtenir ainsi l'halogénure d'acide correspondant du dérivé acylé de carnitine ;

d) condenser l'halogénure d'acide du dérivé acylé de carnitine de l'étape (c) avec un alcool de formule $R''H$ dans laquelle R'' a la signification indiquée ci-dessus,

5

tout en maintenant le mélange ainsi obtenu sous agitation à la température ambiante pendant environ 2-24 heures afin d'obtenir l'ester de formule (I), puis

é) isoler l'ester de formule (I) en séchant le mélange de l'étape (d) et en procédant à des cristallisations répétées dans des solvants organiques.

4. Procédé de préparation des esters de formule (I), caractérisé en ce qu'il comprend les étapes qui consistent à :

(a') mettre la carnitine en suspension dans l'alcool désiré de formule $R''H$;

(b') faire réagir la suspension de l'étape (a') avec un acide inorganique anhydre jusqu'à dissolution complète de la carnitine en suspension, pour obtenir ainsi l'ester correspondant ;

(c') faire réagir l'ester de l'étape (b') avec un excès d'un halogénure d'acyle de formule $R'X$ dans laquelle R' a la signification indiquée ci-dessus, tandis que X représente un atome d'halogène, tout en maintenant le mélange ainsi obtenu à une température d'environ 25-40°C pendant environ 2-24 heures afin d'obtenir l'ester correspondant du dérivé acylé de carnitine de formule (I) ;

(d') traiter le mélange comprenant l'ester de formule (I) avec un solvant organique dans lequel l'excès d'halogénure d'acyle est soluble afin de séparer cet excès d'halogénure d'acyle de l'ester, et

(e') purifier l'ester de formule (I) par des cristallisations répétées.

5

5. Composition pharmaceutique pouvant être administrée par voie orale ou par voie parentérale pour le traitement de l'hypocontractilité du myocarde, caractérisée en ce qu'elle comprend une quantité thérapeutiquement efficace d'un ester de formule (I) et un excipient pharmacologiquement acceptable.

6. Composition pharmaceutique pouvant être administrée par voie orale ou par voie parentérale pour le traitement des dépressions et du sommeil perturbé, caractérisée en ce qu'elle comprend une quantité thérapeutiquement efficace d'un ester de formule (I), ainsi qu'un excipient pharmacologiquement acceptable.

7. Composition suivant l'une quelconque des revendications 5 et 6 sous une forme de dosage unitaire, caractérisée en ce qu'elle comprend environ 5 à environ 500 mg d'un ester de formule (I).

