

Brevet N° **84244** GRAND-DUCHÉ DE LUXEMBOURG  
 du 30 juin 1982  
 Titre délivré : 20 JAN 1983



Monsieur le Ministre  
 de l'Économie et des Classes Moyennes  
 Service de la Propriété Intellectuelle  
 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(nt) ce trente juin 1982 quatre-vingt-deux (3)  
 à 15 heures, au Ministère de l'Économie et des Classes Moyennes, à Luxembourg :

1. la présente requête pour l'obtention d'un brevet d'invention concernant :  
"Procédé de préparation de chlorure de carnitine". (4)

2. la délégation de pouvoir, datée de ROME le 14 juin 1982  
 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 30 juin 1982  
déclare(nt) en assumant la responsabilité de cette déclaration, que l'(es) inventeur(s) est (sont) :  
voir au verso (5)

revendique(nt) pour la susdite demande de brevet la priorité d'une (des) demande(s) de  
 (6) brevet déposée(s) en (7) Italie  
 le 3 juillet 1981 (No. 48817 A/81) (8)

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

solicite(nt) la délivrance d'un brevet d'invention pour l'objet décrit et représenté dans les  
annexes susmentionnées, — avec ajournement de cette délivrance à // mois. (11)

Le mandataire

### II. Procès-verbal de Dépôt

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

30 juin 1982

à 15 heures



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

- 1.- Maria Ornella TINTI, 81, Via Wasile, à ool8o ROME, Italie
- 2.- Carlo BAGOLINI, 14, Via Col della Porretta, à ool41 ROME, Italie
- 3.- Emma Teresa QUARESIMA, 36/C, Via Cratete di Mallo-Casal ,  
Palocco-Rome, Italie

REVENDICATION DE LA PRIORITE

D. 51.822.

de la demande de brevet / du modèle d'utilité

En ITALIE

Du 3 juillet 1981



Mémoire Descriptif

déposé à l'appui d'une demande de

**BREVET D'INVENTION**

au

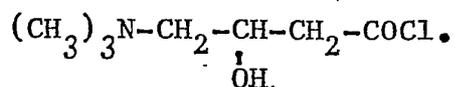
**Luxembourg**

au nom de: SIGMA-TAU Industrie Farmaceutiche Riunite S.p.A.

pour: Procédé de préparation de chlorure de carnitine.



La présente invention concerne un procédé de  
préparation de chlorure de D,L-carnitine



5 Le chlorure de D,L-carnitine est un produit  
intermédiaire total pour la préparation de plusieurs  
dérivés de carnitine, par exemple, des esters et des  
amides, dont les propriétés thérapeutiques sont con-  
nues.

10 En plus d'un groupe carboxy, la carnitine,  
 $(\text{CH}_3)_3\text{N}-\text{CH}_2-\underset{\text{OH}}{\text{CH}}-\text{CH}_2-\text{COOH}$ , contient un groupe hydroxy  
qui, comme on le sait, est sensible aux milieux réac-  
tionnels acides.

15 En effet, par exemple, comme décrit dans  
"Bull. Soc. Chim. Fr." (1960), 1196, on sait que ses  
 $\beta$ -hydroxy-acides et esters libèrent aisément une molé-  
cule d'eau dans un milieu acide, formant ainsi des  
composés insaturés. Dans "Biochim. Biophys. Acta"  
20 137, 98-106 (1967) et 152, 559 (1968), il est stipulé  
que la déshydratation de la carnitine a lieu dans un  
milieu ambiant acide avec chauffage. Dans "J. Biol.  
Chem." 237/12, 3268 (1962), il est stipulé que la for-  
mation de crotonoyl-bétaïne comme sous-produit a lieu.  
25 en chauffant la carnitine dans un milieu ambiant acide.

Etant donné qu'un acide carboxylique est  
transformé en un chlorure d'acide dans des conditions  
acides, on ne pourrait s'attendre à ce que la chlora-  
tion de la carnitine ait lieu sans protéger au préala-  
30 ble le groupe hydroxy en vue d'éviter la dégradation  
de la matière de départ et la formation de sous-produits  
inopportuns.

Les remarques ci-dessus sont entièrement con-  
firmées d'après ce que l'on peut déduire de la techni-  
35 que antérieure. La préparation de chlorures d'acides

substitués par un groupe hydroxy après protection préalable du groupe hydroxy est décrite dans "J. Org. Chem." 43/20, 3972 (1978). Plus spécifiquement, dans "J. Am. Chem. Soc." 95, 4106 (1973), on décrit la  
5 chloration de l'acide  $\beta$ -hydroxybutyrique (qui est un  $\beta$ -hydroxy-acide au même titre que la carnitine) après protection préalable du groupe hydroxy avec un groupe acétyle.

A présent, de façon étonnante, on a trouvé  
10 que l'on pouvait transformer la D,L-carnitine en chlorure d'acide de D,L-carnitine en obtenant d'excellents rendements sans qu'il se forme des quantités inacceptables de sous-produits du point de vue industriel (en particulier, la crotonoyl-bétaïne). A cet effet,  
15 on soumet la D,L-carnitine à une chloration sans protéger au préalable le groupe hydroxy (par exemple, en transformant le groupe hydroxy en un groupe acétyle comme décrit dans la technique antérieure) pour autant que certaines conditions opératoires critiques soient  
20 remplies.

En fait, on a trouvé que le rapport molaire carnitine/agent de chloration, la température réactionnelle et le temps de réaction étaient des paramètres critiques influençant la transformation de la  
25 D,L-carnitine en chlorure d'acide correspondant et que les valeurs de ces paramètres devaient se situer dans des intervalles bien définis.

Suivant l'invention, le procédé de transformation de carnitine en chlorure d'acide de carnitine  
30 comprend l'étape consistant à soumettre la carnitine à une chloration avec un agent de chloration (choisi, de préférence, parmi le chlorure de thionyle, l'éther dichlorométhylrique et le chlorure d'oxalyle) à la température ambiante et pendant des temps de réaction se situant entre environ 1,5 et 12 heures.  
35

L

Comme agent de chloration, on pourrait également utiliser le pentachlorure de phosphore. Toutefois, cet agent de chloration n'est pas préféré en raison des temps de réaction nettement plus longs (1-3 jours) qu'il nécessite comparativement à ceux indiqués ci-dessus.

De préférence, le rapport molaire carnitine/agent de chloration se situe entre 1:1 et 1:3. En vue d'obtenir de hauts rendements lors de la transformation de la carnitine en chlorure d'acide, il est essentiel que la température et les temps de réaction ci-dessus soient strictement respectés car, même de légères variations donnent lieu à la formation de sous-produits. Par exemple, lorsqu'on utilise le chlorure d'oxalyle comme agent de chloration, un temps de réaction de 15 heures donne lieu à une dégradation presque complète de la carnitine en crotonoyl-bétaïne.

Les exemples non limitatifs 1 et 2 ci-après illustrent le procédé de la présente invention.

Exemple 1. (agent de chloration : chlorure de thionyle)

On ajoute 2,25 cm<sup>3</sup> (0,03 mole) de SOCl<sub>2</sub> à 1,98 g (0,01 mole) de chlorhydrate de D,L-carnitine. Après une heure, leur solubilisation est complète et on considère qu'elle est achevée après 1,5 heure. On sépare l'excès de SOCl<sub>2</sub> par distillation et on lave le résidu constitué de chlorure d'acide de carnitine avec de l'éther éthylique anhydre. A des fins d'identification, on transforme le chlorure d'acide en ester méthylique ; on refroidit le mélange réactionnel à 0°C et on ajoute goutte à goutte 10 cm<sup>3</sup> de méthanol anhydre ; ensuite, on concentre le mélange obtenu sous vide à 35-40°C pour obtenir ainsi un produit brut gélatineux qui, après séchage sous vide, se solidifie en restant toutefois très hygroscopique.

Chromatographie sur couche mince : chloroforme 55/

h

méthanol 35/H<sub>2</sub>O 5/NH<sub>4</sub>OH 5.

Spectre de résonance magnétique nucléaire

Solvant : D<sub>2</sub>O.

4,82 (1H, m, -CH-); 3,83 (3H, s, -OCH<sub>3</sub>);

5

3,55 (2H, d,  $\begin{array}{c} \text{OH} \\ | \\ \text{N}^+-\text{CH}_2- \end{array}$ ); 3,30 (9H, s,  $\begin{array}{c} \text{CH}_3 \\ + \\ \text{N}-\text{CH}_3 \\ | \\ \text{CH}_3 \end{array}$ );

2,73 (2H, d, -CH<sub>2</sub>CO-).

Analyse élémentaire

10

Calculé	Trouvé	
C 45,39	43,99	K.F. ~ 4%
H 8,57	8,54	
N 6,62	6,09	
Cl 16,75	16,92	

15

Exemple 2 (agent de chloration : éther dichlorométhylique).

On suit les procédés de l'exemple précédent, avec cette exception qu'au lieu de chlorure de thio-  
nyle, on utilise 1,78 cm<sup>3</sup> (0,02 mole) d'éther dichlo-  
rométhylique. On laisse reposer le mélange réaction-  
nel pendant une nuit à la température ambiante. On  
sépare l'excès d'éther dichlorométhylique par distil-  
lation et on lave le résidu avec de l'éther éthylique  
anhydre. On constate que le résidu est constitué de  
chlorure d'acide de carnitine.

25

Spectre de résonance magnétique nucléaire CD<sub>3</sub>NC

$\delta$  3,33 (9H, s,  $\begin{array}{c} \text{CH}_3 \\ | \\ \text{N}^+-\text{CH}_3 \\ | \\ \text{CH}_3 \end{array}$ );

30

3,36-3,60 (4H, m,  $\begin{array}{c} \text{CH}_3 \\ | \\ \text{N}^+-\text{CH}_2- \end{array}$ , -CH<sub>2</sub>COCl);  
4,40-4,90 (1H, m,  $\begin{array}{c} \text{OH} \\ | \\ \text{CH}- \end{array}$ ).

Après échange avec D<sub>2</sub>O, les décalages chi-  
miques reprennent les mêmes valeurs que celles du  
spectre de résonance magnétique nucléaire de la car-

35

*h*

nitine. On transforme ensuite le chlorure d'acide brut en ester méthylique comme décrit précédemment. On constate que l'ester méthylique de carnitine présente des caractéristiques chimico-physiques correspondant à celles du produit préalablement isolé.

Les exemples A et B ci-après ont pour but de démontrer que les conditions opératoires ci-dessus doivent être absolument respectées pour obtenir le chlorure d'acide de carnitine.

10 Exemple A (la température réactionnelle voulue n'est pas respectée).

On maintient un mélange de carnitine et de chlorure de thionyle (rapport molaire = 1:1) sous agitation à 50°C. On prélève des échantillons du mélange réactionnel 0,5 heure, 1 heure et 1,5 heure après le début de la réaction. On contrôle les échantillons par chromatographie sur couche mince (chloroforme 55/CH<sub>3</sub>OH 35/H<sub>2</sub>O 5/NH<sub>4</sub>OH 5) après dilution avec du méthanol pour transformer le chlorure d'acide éventuel en ester méthylique.

Après 0,5 heure, on observe la présence de carnitine et de l'ester méthylique de carnitine ( $R_f$  0,4 et 0,8 respectivement).

Après 1 heure, la crotonoyl-bétaïne, la carnitine et l'ester méthylique de carnitine ( $R_f$  0,2-0,4-0,8 respectivement) commencent à se former.

Après 1,5 heure, on observe la présence de crotonoyl-bétaïne avec d'autres produits de dégradation qui n'ont pu être identifiés.

30 Exemple B (le temps de réaction correct n'est pas respecté).

On ajoute 2,3 cm<sup>3</sup> (0,03 mole) de chlorure de thionyle à 1,98 g (0,01 mole) de chlorhydrate de carnitine et on maintient le mélange réactionnel obtenu sous agitation à la température ambiante pendant

h

24 heures. On sépare l'excès de chlorure de thionyle par distillation et on lave le résidu brut avec de l'éther éthylique anhydre pour obtenir ainsi un produit solide ayant un point de fusion de 217-218°C.

5 Chromatographie sur couche mince : chloroforme 55/ méthanol 35/H<sub>2</sub>O 5/NH<sub>4</sub>OH 5/R<sub>F</sub> 0,2.

Spectre de résonance magnétique nucléaire D<sub>2</sub>O  
 $\delta$  7,2-6,2 (2H, m, -CH=CH-) ; 4,2 (2H, d,  $\text{>N}^+\text{-CH}_2\text{-}$ ) ;

10 3,2 (9H, s,  $\begin{array}{c} \text{CH}_3 \diagdown + \\ \text{CH}_3 \text{---} \text{N---} \\ \text{CH}_3 \diagup \end{array}$ )

15 Comme le démontrent la chromatographie sur couche mince et le spectre de résonance magnétique nucléaire, dans ces conditions réactionnelles, on n'obtient pas le chlorure d'acide de carnitine. En revanche, il se produit une déshydratation avec formation de crotonoyl-bétaïne

20  $\begin{array}{c} \text{CH}_3 \diagdown + \\ \text{CH}_3 \text{---} \text{N-CH}_2\text{-CH=CH-COOH.} \\ \text{CH}_3 \diagup \end{array}$

REVENDICATIONS

1. Procédé de préparation du chlorure  
d'acide de carnitine, caractérisé en ce qu'il comprend  
l'étape qui consiste à soumettre la carnitine à une  
5 chloration avec un agent de chloration choisi parmi  
le chlorure de thionyle, l'éther dichlorométhylque  
et le chlorure d'oxalyle, à la température ambiante  
et pendant des temps de réaction se situant entre en-  
viron 1,5 heure et 12 heures.

10 2. Procédé suivant la revendication 1, ca-  
ractérisé en ce que le rapport molaire carnitine/agent  
de chloration se situe entre 1:1 et 1:3.

