



Patentdirektoratet
TAASTRUP

(21) Patentansøgning nr.: 0722/84

(22) Indleveringsdag: 16 feb 1984

(41) Alm. tilgængelig: 17 aug 1984

(44) Fremlagt: 19 okt 1992

(86) International ansøgning nr.: -

(30) Prioritet: 16 feb 1983 CH 858/83

(51) Int.Cl.5

A 61 K 31/205
//A 61 K 31/205,
A 61 K 31:12)

(71) Ansøger: *SIGMA TAU INDUSTRIE FARMACEUTICHE RIUNITE S.P.A.; Viale Shakespeare 47; Rom, IT

(72) Opfinder: Alberto *Bertelli; IT

(74) Fuldmægtig: Firmaet Chas. Hude

(54) Farmaceutisk middel med metabolisk og energetisk virkning indeholdende coenzym Q₁₀ og carnitin eller acetylcarnitin

(56) Fremdragne publikationer

(57) Sammendrag:

722-84

Farmaceutisk middel indeholdende carnitin eller acetylcarnitin og coenzym Q₁₀ i forhold fra 100:1 til 2:1 sammen med farmaceutisk acceptable hjælpestoffer.

Det farmaceutiske middel er velegnet til behandlingen af vævs-energetiske og metaboliske forstyrrelser og specielt hjerte- og blodkar, som optræder ved atherosclerosis, ved myocardial eller koronar insufficiens, ved hypertension, ved cerebral ischæmia og generelt vævsanoxia.

Den foreliggende opfindelse angår et hidtil ukendt farmaceutisk middel, der indeholder en kombination af produkter, der er blevet anvendt i vævsmetabolisk og energetisk biokemisk proces, såsom coenzym Q₁₀ og carnitin eller acetylcarnitin.

5 Midlet ifølge opfindelsen indeholder fortrinsvis carnitin (eller acetylcarnitin) i L-form.

Som det er velkendt, er carnitin β -hydroxy- γ -trimethylaminobutansyre, hvorimod coenzym Q₁₀ står for 2,3-dimethoxy-5-methyl-6-decaprenylbenzoquinon.

10

Opfindelsen angår således et farmaceutisk middel med metabolisk antianoxisk og vævsenergetisk virkning, hvilket middel er ejendommeligt ved, at det indeholder coenzym Q₁₀ og en kvaternær ammoniumforbindelse valgt blandt carnitin og acetylcarnitin i et forhold fra 1:100 til 1:2, eventuelt i forbindelse med farmaceutisk acceptable hjælpestoffer.

15

Midlet ifølge opfindelsen er i stand til at fremkalde en effektiv terapeutisk virkning ved forebyggelsen og behandlingen af atherosclerotiske fænomener, ved myokardial- og koronar insufficiens, såvel som ved hypertension og generelt ved patologiske tilstande på grund af vævsanoxi.

20

L-carnitin er afledt af lysin via trin, der omfatter omdannelsen af ϵ -N-trimethyllysin til γ -butyrobetain ved indvirkning af hydroxylase- og proteino-methyl-transferasesystemer.

25

Allerede i 1952 blev det observeret (Carter et al.-Arch. Biochem. Biophys. 38-405-1952) at i fraværelse af carnitin døde Tenebriomoliterlarver på grund af fedtakkumulering, og forklaringen af dette fænomen kan nu findes gennem de biokemiske undersøgelser vedrørende carnitinfunktionen. Carnitin kan i virkeligheden blive acetyleret på bekostning af acetyl-CoA, og det kan stimulere oxidationen af fedtsyrer (Friedman S., Fraenkel G. - Arch. Biochem. Biophys., 59-491-1955).

30

35

Da carnitin er i stand til at modtage acyl-CoA's acylgruppe, er det også i stand til at tilvejebringe dette coenzym til dets katalytiske virkninger og specielt til Krebs-cyklen og derved katalytisk udøve en energetisk funktion (Siliprandi N. - Biochem. J., 96-777-1965).

Coenzym Q₁₀ spiller også en vigtig rolle i den celleenergetiske metabolisme.

10 Coenzym Q₁₀ tjener i virkeligheden som bærer for elektroner med høj mobilitet mellem flavoproteiner og cytochromerne i åndedrætssystemet (Morton R.A., Nature 182-1764-1958; Gale P. et al., Arch. Biochem. Biophys., 93-211-1961).

15 β -oxidationsprocesserne af fedtsyrer finder sted i mitochondrion, og de behøver som enzymer FAD og NAD, som oxideres igen ved hjælp af åndedrætssystemet, hvor coenzym Q₁₀ virker som en væsentlig bestanddel.

20 Fedtsyrer må igen for at kunne krydse mitochondrialmembranen overføres i acyl-carnitin.

Kort sagt lader derfor carnitin acylgrupperne krydse mitochondrialmembranen.

25 Carnitinsystemet er derfor et pendulsystem, hvormed acyl-CoA kan gå ind og ud af mitochondrion uden at være nødt til at anvende energi. Når de først er inde i mitochondrion, oxideres acyl-CoA ved hjælp af β -oxidationsprocessen.

30 De biokemiske processer binder på de forskellige metaboliske trin virkningen både af carnitin og coenzym Q₁₀, og dette viser, at den nære indbyrdes afhængighed af disse to forskellige systemer for den cellulære og vævsmæssige og metaboliske energetiske funktion, også stemmer overens med den biologiske observation blandt de forskellige aktiviteter som både carnitin
35 og Coenzym Q₁₀ er i stand til at udøve.

Ved hjælp af midlet ifølge den foreliggende opfindelse er det blevet muligt at bemærke den synergisme disse to stoffer udøver på niveauet af den myocardialfunktionelle kapacitet og koronare cirkulation og på niveauet af fedtmetabolismeændringer og på vaskulært niveau.

De følgende farmakologiske undersøgelser viser virkningen af det hidtil ukendte farmaceutiske middel, og de påviser den ved anvendelse af dette middel opnåede synergistiske virkning.

Et andet aspekt ved den synergisme, som er resultatet af blandingen af carnitin og coenzym Q₁₀, hænger sammen med de to forbindelsers forskellige aktivitet med hensyn til at hindre mange patologiske tilstande, såsom f.eks. vævsanoxia. På den ene side er carnitin i virkeligheden gennem β -oxidationen af fedtsyrer i stand til at genoprette energitilførslerne, som er nødvendige for celleliv, medens coenzym Q₁₀ er i stand til at genoprette de ATP-tilførsler, som er nødvendige for cellens energetisk metaboliske processer.

Toksikologiske undersøgelser

Hverken carnitin eller coenzym Q₁₀ er i sig selv giftige, hvis de administreres sammen per os til dyr, hvilket det har været muligt at fastslå ved at administrere meget høje doser af coenzym og L-carnitin til Swiss mus og Wistar rotter af begge køn. Administrationen per os af 1 g coenzym Q₁₀ sammen med 1 g, 2g, 5 g carnitin forårsagede i virkeligheden ingen dødsfald af det således behandlede dyr.

Selv den parenterale administration af høje doser af en blanding af carnitin og coenzym Q₁₀ udviste ingen giftvirkning eller nogen form for intolerance, og det var ikke muligt på samme måde at fastslå en signifikant dødelighed hos dyrene ved injektionen af et middel indeholdende 400 mg coenzym Q₁₀ og 2 g carnitin.

Ligeledes de kroniske toksikologiske undersøgelser (3 måneder) gennemført både på Sprague-Dawley rotter og på Beagle hunde (100 mg coenzym Q₁₀ og 500 mg carnitin/dag per os) bekræftede den gode tolerance og den manglende giftighed af kombinationen af coenzym Q₁₀ og carnitin.

Farmakologisk undersøgelse.

Undersøgelser af den pitrexinfremkaldte myocardial anoxia.

10

Disse undersøgelser viste, hvorledes myocardial anoxia fremkaldt ved koronarisk spasme, forårsaget af venøs administration af pitrexin til rotten, kunne inhiberes ved administrationen af kombinationen af coenzym Q₁₀ og carnitin i sammenligning med de to enkeltkomponenter af kombinationen hver for sig.

15

Den venøse injektion af 1 enhed/kg pitrexin til rotten forårsagede en koronar spasme med efterfølgende reduceret koronar vaskularisation og myocardialoxygenisering, som kan optegnes elektrokardiografisk ved den karakteristiske T-bølge (Lindler's T-bølge).

20

Ud fra forsøgene, som blev gennemført, var det muligt at fastslå, at administrationen af coenzym Q₁₀, i modsætning til administrationen af carnitin alene, reducerede amplituden af T-bølgen fremkaldt af pitrexininjektionen, men at det med blandingen af de to lægemidler (50 mg coenzym Q₁₀ + 250 mg i.p.) faktisk er muligt at opnå, at denne bølge forsvinder, dvs. inhiberingen af de myocardialanoxiske vævsprocesser.

25

30

Det er derfor helt klart, at der eksisterer synergisme mellem aktiviteten af carnitin og aktiviteten af coenzym Q₁₀.

35

Faktisk udviste ingen af de med coenzym Q₁₀ og carnitin behandlede rotter ændringer over for T-bølgen efter administration af pitrexin, hvorimod mere end 90% af rotterne, som kun

var behandlet med carnitin, og mere end 60% af rotterne, som var behandlet med coenzym Q₁₀, kun viste dette elektrokardiografiske tegn på grund af myocardialanoxiaen.

5 Vurdering af den antianoxiske cerebralaktivitet.

For at vurdere den antianoxiske aktivitet, også ved et cerebralniveau, blev der anvendt rotter, som blev anbragt i et tæt, lufttæt bur, hvori luften derefter blev erstattet ved tilførsel af nitrogen.

Fornytt tilførsel af luft til buret kan bevirke, at dyret kommer sig og vender tilbage til normal tilstand.

15 Det er muligt at vurdere et stofs antianoxiske virkning ved sammenligningen af de tider, som er nødvendige mellem kontrol-dyr og behandlede dyr, for at de anoxiske elektro-encephalografiske tegn optræder, såvel som ved hjælp af den tid, som er nødvendig for at tilvejebringe et normalt elektroencephalogram efter, at luften igen har fået lov til at trænge ind i buret. 20 Den anoxia, der blev forårsaget af den progressive erstatning af luften med nitrogen, frembragte elektroencephalografiske ændringer, indtil elektrisk stilhed nås. Disse ændringer kan let påvises ved hjælp af elektro-encephalogrammet.

25

I disse undersøgelser kunne det fastslås, at coenzym Q₁₀ alene (50 mg/kg i.p. eller 200 mg per os) er i stand til at fremkalde en signifikant forskel mellem kontrolgrupper og behandlede grupper, i den tid, som er nødvendig for, at cerebral anoxiafænomener optræder, såvel som den tid til at komme sig, 30 som er nødvendig for at vende tilbage til et normalt elektroencephalogram. Disse tider bliver således langt mere signifikante, i det tilfælde, hvor carnitin kombineres med coenzym Q₁₀ (250 mg/kg i.p. eller 500 mg per os). Carnitin anvendt alene i disse undersøgelser resulterer ikke i, at der sker nogen 35 signifikant afkortning af anoxia-tiderne.

Af disse undersøgelser fremgår derfor synergismen mellem coenzym Q₁₀ og carnitin helt klart. Tilstanden af vævsanoxia forårsaget af serotoninet injiceret ved roden af rottens hale, hvilket forårsager koldbrand og necrose af halen selv, kan
5 også være en effektiv test til at måle forskellige stoffers antianoxiske virkning.

Ved disse forsøg blev en gruppe Wistar-rotter dagligt injiceret med 10 mg/kg serotonininsulfat ved halens rod. Medens en
10 gruppe dyr blev anvendt som kontrolgruppe, fik andre grupper af dyr samtidigt enten udelukkende coenzym Q₁₀ (100 mg/kg) per os eller ad parenteral vej (25 mg/kg), eller udelukkende carnitin per os (100 mg/kg) eller ad parenteral vej (250 mg/kg). En anden gruppe dyr fik de to produkter sammen, både per os
15 og ad parenteral vej.

14 dage efter behandlingens begyndelse blev både tidspunktet for fremkomsten af cutan dyschromasia i halen og forekomsten af koldbrand og necrose bestemt.
20

Der viste sig ikke nogle af de med kombinationen af coenzym Q₁₀ og carnitin behandlede dyr tegn på koldbrand eller necrose i halen efter fjorten dages forløb, hvorimod der både hos de med coenzym Q₁₀ behandlede rotter og de med carnitin behandlede rotter blev konstateret disse tegn meget tydeligt, allerede syv dage efter begyndelsen af serotonininsulfatadministrationen.
25

Også i dette tilfælde ses helt klart den synergisme, som opnås ved hjælp af coenzym Q₁₀ og carnitin sammen.
30

Antihypertensiv virkning.

Rotter, som var blevet gjort eksperimentelt hypertensive med den daglige administration af 10 mg DOCA (deoxycorticosteronacetat) fem dage om ugen i tre på hinanden følgende uger, blev anvendt.
35

Samtidigt blev en 1% saltvandsopløsning administreret til dyrene.

5 En gruppe af disse dyr blev samtidigt med tilførslen af DOCA-opløsningen behandlet kun med coenzym Q₁₀, kun med carnitin, og med de to produkter i forening i de samme doser som angivet ved de tidligere undersøgelser.

10 Efter tre ugers behandling udviste den med DOCA behandlede gruppe dyr arterielle trykværdier, som var højere end 120, og grupperne af dyr behandlet med de to lægemidler coenzym Q₁₀ og carnitin sammen udviste ingen signifikante ændringer af det arterielle tryk i sammenligning med normale rotter, hvorimod der helt klart var ændringer, både i gruppen af dyr behandlet
15 med coenzym Q₁₀ og i gruppen af dyr behandlet med carnitin. Frem for alt kunne der ikke påvises nogen forskel mellem den med carnitin behandlede gruppe og kontrolgruppen af hypertensive rotter.

20 Undersøgelser vedrørende inhiberingen af den eksperimentelle atherosclerotiske læsion.

Ved disse undersøgelser blev blandingen af carnitin og coenzym Q₁₀'s evne, i sammenligning med de to produkter administreret
25 hver for sig, med hensyn til at hindre forekomsten af vævssvælselæsioner, fremkaldt eksperimentelt i rotten, ved at administrere en atherogenisk hypercholesteræmisk diæt med følgende sammensætning: casein 24%, bomuldsolie 10%, salt 5%, sukker 61%, kolesterol 0,5%, vitamin D₂ 200 mU/g diæt påvist.

30

Efter seks uger på denne diæt til forhøjelse af deres plasma-cholesterol blev alle dyrene aflivet, hvorimod aorta og hjertet blev fikseret og underkastet hystolisk undersøgelse.

35 Medens rotterne, der kun var behandlet med den hypercholesteræmiske og vitamin D₂-diæt, såvel som rotterne, der var behandlet med den samme diæt og carnitin, viste klare forøgelser

af hypercholesteræmia og alvorlige læsioner, både ved aortisk og ved myocardialniveau, udviste den med carnitin-coenzym Q₁₀-kombinationen (coenzym Q₁₀ 50 mg/kg per os, carnitin 500 mg/kg per os) behandlede gruppe af dyr en bestemt lavere udstrækning af sådanne diæt-fremkaldte atherosclerotiske læsioner.

Den foreliggende opfindelse angår også farmaceutiske midler, der indeholder et ubiquinoncoenzym, nemlig coenzym Q₁₀ og carnitin eller acetylcarnitin, fortrinsvis i L-former, i forhold, der varierer fra 1:100 til 1:2, foruden andre egnede hjælpestoffer i form af f.eks. kapsler, tabletter, piller, granulat, siruper og injicerbare opløsninger.

Nogle eksempler på farmaceutiske midler, som kan opnås med konventionelle farmaceutiske fremgangsmåder, er angivet i det følgende.

- Tabletter indeholdende 500 mg acetyl-L-carnitin og 10 mg coenzym Q₁₀.

- Lågbærende kapsler indeholdende 500 mg L-carnitin og 5 mg coenzym Q₁₀.

- Lågbærende kapsler indeholdende 250 mg L-carnitin og 50 mg coenzym Q₁₀.

- Piller indeholdende 50 mg L-carnitin og 25 mg coenzym Q₁₀.

P a t e n t k r a v.

30 -----

1. Farmaceutisk middel med metabolisk antianoxisk og vævsenergetisk virkning, k e n d e t e g n e t ved, at det indeholder coenzym Q₁₀ og en kvaternær ammoniumforbindelse valgt blandt carnitin og acetylcarnitin i et forhold fra 1:100 til 1:2, eventuelt i forbindelse med farmaceutisk acceptable hjælpestoffer.

2. Farmaceutisk middel ifølge krav 1, k e n d e t e g n e t ved, at den kvaternære ammoniumforbindelse er carnitin i L-form.

3. Farmaceutisk middel ifølge krav 1, k e n d e t e g n e t ved, at den kvaternære ammoniumforbindelse er acetyl-L-carnitin.

4. Farmaceutisk middel ifølge krav 1-3, k e n d e t e g n e t ved, at det har form af kapsler, tabletter, piller, granulat, siruper eller injicerbare opløsninger.