



Patentdirektoratet
TAASTRUP

(21) Patentansøgning nr.: 6099/84

(51) Int.Cl.5

C 07 C 229/22

(22) Indleveringsdag: 19 dec 1984

(41) Alm. tilgængelig: 29 jun 1985

(44) Fremlagt: 13 jul 1992

(86) International ansøgning nr.: -

(30) Prioritet: 28 dec 1983 IT 49594/83 06 nov 1984 IT 49123/84

(71) Ansøger: *SIGMA-TAU INDUSTRIE FARMACEUTICHE RIUNITE S.P.A.; 47, Viale Shakespeare; I-00144 Rom, IT

(72) Opfinder: Claudio *Cavazza; IT

(74) Fuldmægtig: Internationalt Patent-Bureau

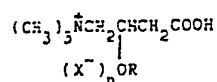
(54) Salte af L-carnitin og alkanoyl-L-carnitiner, fremgangsmåde til deres fremstilling og farmaceutiske kompositioner indeholdende forbindelserne

(56) Fremdragne publikationer

(57) Sammendrag:

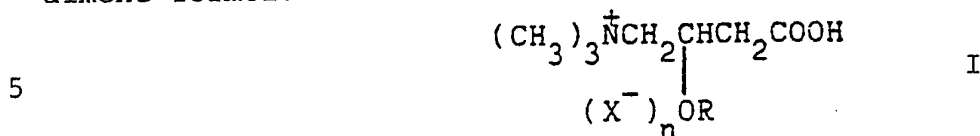
6099-84

L-carnitin- og alkanoyl-L-carnitinsalte og en fremgangsmåde til deres fremstilling er angivet. Saltene har den almene formel:



hvor X^- er en anion blandt surt asparaginat, surt citrat, surt fosfat, surt fumarat, lactat, surt maleat, surt oxalat, surt sulfat og orotat, R er H, hvis X^- er forskellig fra orotat, eller acetyl, propionyl eller butyryl, og n er 1/2, hvis X^- er orotat, og ellers 1. Saltene er ikke-hygroscopiske og kan derfor let indarbejdes i kompositioner og er særligt velegnede til fremstilling af faste anvendelsesformer. Vandige opløsninger af saltene er mindre sure end tilsvarende chloridopløsninger, og saltene er derfor også velegnede til fremstilling af injicerbare anvendelsesformer.

Den foreliggende opfindelse angår ikke-hygroskopi-
ske salte af L-carnitin og alkanoyl-L-carnitiner med den
almene formel:



hvor:

- X^- er en anion valgt blandt surt asparaginat, surt citrat,
surt fosfat, surt fumarat, lactat, surt maleat, surt
10 oxalat, surt sulfat og orotat,
 R er hydrogen, forudsat af X^- er forskellig fra orotat,
eller lavere alkanoyl valgt blandt acetyl, propionyl
og butyryl, og
 n er 1/2, hvis X^- er orotat, og 1, hvis X^- er en af de
15 andre anioner.

Opfindelsen angår også en fremgangsmåde til frem-
stilling af sådanne salte og angår farmaceutiske komposi-
tioner indeholdende saltene.

- Det er velkendt, at carnitin og dets alkanoylde-
20 rivater har forskellige terapeutiske anvendelser. Det
er også kendt, at saltene af carnitin og dets alkanoyl-
derivater har de samme terapeutiske aktiviteter som de
såkaldte "indre salte" og derfor kan anvendes i stedet
for disse, forudsat at de er "farmakologisk acceptable"
25 salte. Valget mellem det "indre salt" og et sandt carni-
tin- eller alkanoyl-carnitinsalt afhænger derfor i prak-
sis hovedsageligt af, hvilken forbindelse der er lettest
eller økonomisk bedst tilgængelig, og af farmaceutisk-
teknologiske overvejelser snarere end af overvejelser
30 vedrørende terapeutisk aktivitet.

- Det skal forstås, at i forbindelse med den fore-
liggende opfindelse har anvendeligheden af de ovennævnte
salte ikke relation til en terapeutisk aktivitet, der
kvalitativt eller kvantitativt afviger fra de allerede
35 kendte aktiviteter, men derimod til deres mangel på hy-
groskopicitet sammenlignet med de tilsvarende indre sal-

te og chlorider, og det højere pH af deres opløsninger sammenlignet med pH af opløsningerne af de tilsvarende chlorider. På grund af nævnte saltes mangel på hygroskopicitet kan de lettere håndteres og indarbejdes i kompositioner, navnlig hvor der er tale om fremstilling af faste anvendelsesformer, mens den lavere surhed af deres opløsninger gør det muligt at anvende disse salte til fremstilling af parenteralt anvendelige former, navnlig intravenøst anvendelige.

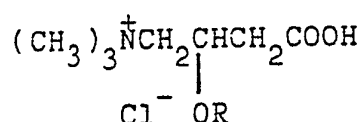
10 Det er overraskende og uventet, at saltene af L-carnitin og af alkanoyl-L-carnitiner ifølge opfindelsen ikke er hygroskopiske, da der kendes nogle tilsvarende salte af den racemiske D,L-form, der er meget hygroskopiske, og der er ingen teoretisk grund til at tro, at
15 hvis et vist salt af D,L-carnitin eller alkanoyl-D,L-carnitin er hygroskopisk, skulle samme salt af de adskilte optiske isomere, navnlig saltet af den L-isomere, ikke også være hygroskopisk. Mens således for eksempel de kendte salte surt D,L-carnitin-fumarat og surt D,L-carnitin-oxalat (se Chem. Abst. 60, 12097, 1964) er hygroskopiske, er de hidtil ukendte salte ifølge opfindelsen, nemlig surt L-carnitin-fumarat og surt L-carnitin-oxalat, praktisk taget ikke hygroskopiske.

Det er også overraskende og uventet (da der ikke
25 er nogen teoretiske grunde for at formode det modsatte), at når et vist salt af L-carnitin er hygroskopisk, det tilsvarende salt af alkanoyl-L-carnitin ikke også skulle være hygroskopisk. Endelig er det overraskende og uventet, at når L-carnitinsaltet med en vis polybasisk syre
30 er hygroskopisk, det sure salt af L-carnitin eller alkanoyl-L-carnitin med samme polybasiske syre slet ikke er hygroskopisk. Mens således for eksempel det kendte salt L-carnitin-phosphat er hygroskopisk (se Medical Journal of Osaka University, 21, nr. 1, December 1970, side 7-
35 12), er de hidtil ukendte salte ifølge opfindelsen, nemlig surt L-carnitin-phosphat og surt acetyl-L-carnitin-

phosphat ikke hygroskopiske.

Fremgangsmåden til fremstilling af saltene ifølge opfindelsen omfatter:

- (a) Omdannelse på i og for sig kendt måde af et chlorid
5 med den almene formel:



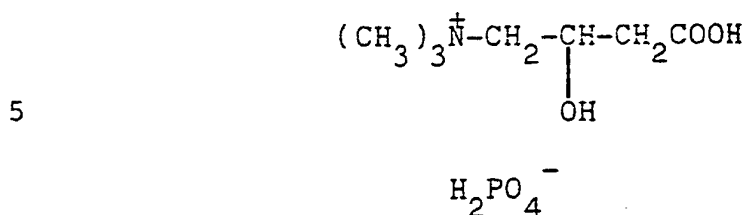
- 10 hvor R er som ovenfor defineret, til det tilsvarende indre salt,
- (b) omsætning af en vandig eller alkoholisk opløsning af nævnte indre salt ved en temperatur mellem stuetemperatur og ca. 50°C med en ækvimolær mængde af en syre
15 re valgt blandt asparaginsyre, citronsyre, phosphorsyre, fumarsyre, mælkesyre, maleinsyre, oxalsyre og svovlsyre eller med en semimolær mængde af orotsyre, hvorved vindes det ønskede salt, og
- (c) isolering af det ønskede salt ved koncentrerings af
20 den alkoholiske opløsning eller koncentrerings eller lyofilisering af den vandige opløsning og eventuelt efterfølgende krystallisation.

Som ovenfor anført, kan omdannelsen af chloridet i trin (a) til det tilsvarende indre salt foregå ved
25 kendte metoder. For eksempel er en typisk metode beskrevet af E. Strack i "Darstellung von O-acyl-carnitinen", Hoppe-Seyler's Z. Physiol. Chem., 351, 95-98, Januar 1970. Alternativt kan omdannelsen gennemføres som beskrevet i italiensk patentansøgning 24432A/82 indleveret 25.
30 november 1982 af SIGMA-TAU Industrie Farmaceutiche Riunite S.p.A. og DE NORA S.A.

Opfindelsen beskrives nærmere gennem følgende eksempler på fremstilling af nogle ikke-hygroskopiske salte ifølge opfindelsen.

Eksempel 1

Fremstilling af surt L-carnitin-phosphat (ST 521).



Indre L-carnitinsalt (200 g, 1,2 mol) blev opløst i den mindst mulige mængde vand. Til opløsningen blev
 10 der sat 86% H_3PO_4 (61 ml, 1,2 mol). Opløsningen blev derefter koncentreret i vakuum, og inddampningsresten blev krystalliseret af isopropanol. Titelforbindelsen vandtes som et ikke-hygroskopisk fast stof.

15 $[\alpha]_{\text{D}}^{25} = -20$ ($c = 1$, H_2O)
 pH = 3

Smp. 145-150°C (blødgøring ved 80°C)

NMR, D_2O , δ 4,5 (dækket, $\underset{\text{OH}}{\underset{|}{\text{CH}}}$); 3,4 (2H, d, N^+-CH_2);

20 3,2 (9H, s, $(\text{CH}_3)_3\text{N}^+$); 2,5 (2H, d, $-\text{CH}_2\text{COOH}-$).

Eksempel 2

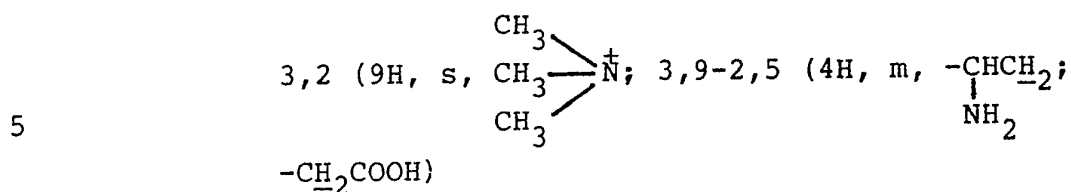
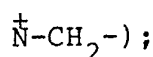
Fremstilling af surt acetyl-L-carnitin-L-asparaginat (ST 450).

25 Indre acetyl-L-carnitinsalt (7,2 g, 0,035 mol) blev opløst i vand (50 cm^3). Til opløsningen blev der sat L-asparaginsyre (4,7 g, 0,035 mol), og opløsningen blev fortyndet med vand til 800 cm^3 . Der blev opnået fuldstændig opløsning af blandingen. Opløsningen blev lyofiliseret.
 30 ret. En ikke-hygroskopisk rest vandtes (11 g) bestående af acetyl-L-carnitinsaltet med asparaginsyre.

$[\alpha]_{\text{D}}^{25} = -17,2$ ($c = 1$, H_2O)

pH = 3,5, 5% H_2O -opløsning

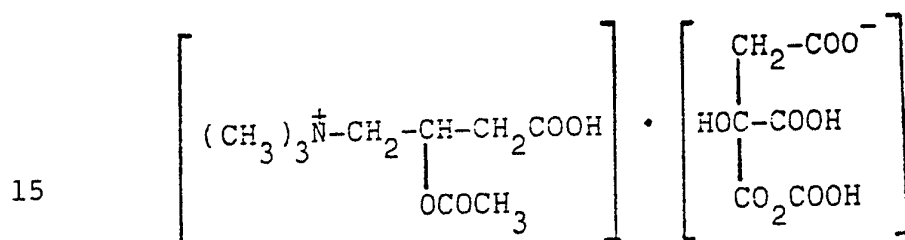
35 NMR, D_2O , δ 5,5 (1H, m, $-\underset{\text{O}}{\underset{|}{\text{CH}}}-$); 4,0-3,5 (3H, $-\underset{\text{NH}_2}{\underset{|}{\text{CH}}}-$);



krystalliseret af isoprOH/Et₂O: smp. 190-195°C.

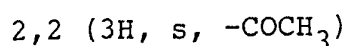
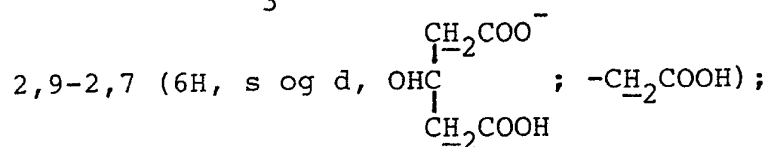
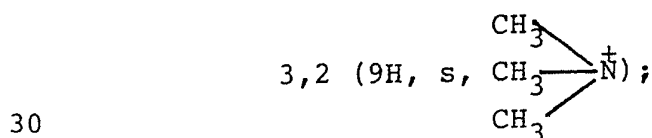
Eksempel 3

10 Fremstilling af surt acetyl-L-carnitin-citrat (ST 455).



En opløsning af acetyl-L-carnitin-chlorid (2,4 g, 0,01 mol) i methanol holdtes under omrøring med Amberlite 20 26 aktiveret i OH⁻-form (14 g) i 48 timer. Chloridionernes forsvinden fra methanolopløsningen fulgtes. Derefter blev der tilsat monohydratiseret citronsyre (2,1 g, 0,01 mol). Opløsningen blev koncentreret til tørhed i vakuum. Der vandtes 4,5 g af et ikke-hygroskopisk produkt 25 bestående af titelforbindelsen.

NMR, D₂O, δ 5,6 (1H, m, $\begin{array}{c} -CH- \\ | \\ OCO \end{array}$); 3,8 (2H, m, $\begin{array}{c} \diagup \\ \overset{+}{N}-CH_2- \\ \diagdown \end{array}$);



$$35 \quad [\alpha]_D^{25} = -16 \quad (c = 1, H_2O)$$

$$pH = 2,9, 5\% H_2O.$$

Eksempel 4

Fremstilling af surt acetyl-L-carnitin-maleat (ST 456).

Indre acetyl-L-carnitinsalt (10,1 g, 0,05 mol) blev opløst i vand. Til opløsningen blev der sat maleinsyre (5,8 g, 0,05 mol). Opløsningen blev lyofiliseret. Der vandtes et hygroskopisk fast stof, der blev vasket flere gange med vandfri acetone. Resten blev ovntørret i vakuum. Der vandtes 8 g af titelforbindelsen som et ikke-hygroskopisk fast stof.

10

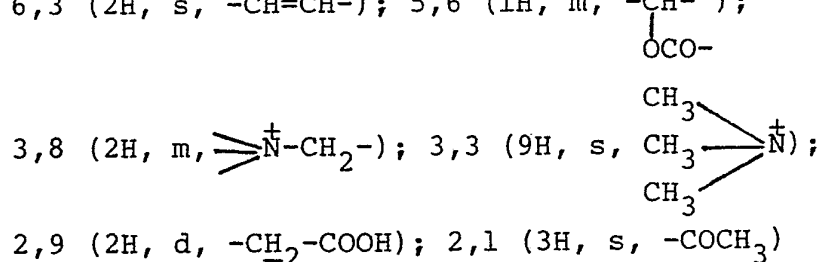
$$[\alpha]_D^{25} = -22 \quad (c = 1, H_2O)$$

$$Smp. = 120-123^\circ C$$

$$pH = 2,7, \quad 5\% H_2O\text{-opløsning}$$

$$NMR, D_2O, \delta \quad 6,3 \text{ (2H, s, } -CH=CH-); \quad 5,6 \text{ (1H, m, } -CH-);$$

15

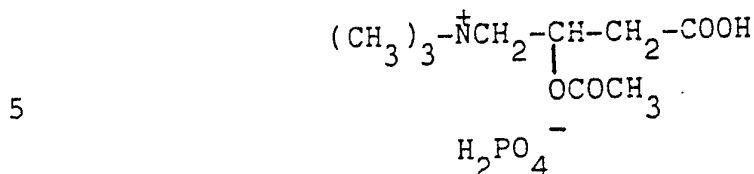


20 H.P.L.C.:

søjle	licrosorb NH_2
detektor	U.V. 205 nm
mobil fase	$(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ 0,01M - CH_3CN (40-60) pH 7,8 med H_3PO_4 konc.
25 tryk	45 atm.
strømningshastighed	2 ml/min.
diagramhastighed	0,5 cm/min.
R_F	acetyl-carnitin 1,0 cm maleinsyre 1,5 cm.

Eksempel 5

Fremstilling af surt acetyl-L-carnitin-phosphat (ST 451).



Indre acetyl-L-carnitinsalt (7,2 g, 0,035 mol) blev opløst i 50 cm³ H₂O. Til den resulterende vandige opløsning blev der sat 85% H₃PO₄ (2,1 ml, 0,035 mol). Den vandige opløsning blev lyofiliseret, og resten blev vasket med vandfri acetone. Produktet blev tørret i vakuum, hvorved vandtes 7,8 g af den ikke-hygroskopiske titelforbindelse.

15

$$[\alpha]_D^{25} = -17,7 \quad (c = 1, \text{H}_2\text{O})$$

$$\text{Smp.} = 155\text{-}157^\circ\text{C}$$

$$\text{pH} = 2,75, \quad 5\% \text{H}_2\text{O-opløsning}$$

20 NMR, D₂O, δ 5,6 (1H, m, -CH-); 3,8 (2H, m, $\text{>}\overset{+}{\text{N}}\text{-CH}_2\text{-}$);

3,2 (9H, s, $\text{CH}_3\text{-}\overset{+}{\text{N}}\text{-}$); 2,8 (2H, d, CH₂COOH);
2,2 (3H, s, -COCH₃)

25 C₉H₂₀NO₈P:

Beregnet

Fundet

C 35,87

34,95

H 6,69

6,58

Cl < 0,2%

N 4,64

4,50

30 P 10,28

10,5

Eksempel 6

Fremstilling af surt acetyl-L-carnitin-fumarat (ST 468).

Indre acetyl-L-carnitinsalt (4,95 g, 0,025 m $\ddot{o}$ l) blev opl $\ddot{o}$ st i 100 cm³ H₂O. Til den resulterende opl $\ddot{o}$ s-
5 ning blev der sat fumarsyre (2,82 g, 0,025 mol), og opl $\ddot{o}$ sningen blev lyofiliseret. Der vandtes 3,5 g af et fast stof best $\ddot{a}$ ende af ikke-hygroskopisk surt acetyl-L-carnitin-fumarat.

[illegible]

Eksempel 7

Fremstilling af surt propionyl-L-carnitin-fumarat

20 (ST 522).

Propionyl-L-carnitin-chlorid (2,67 g, 0,01 mol) blev opløst i 10 cm³ H₂O, og opløsningen blev elueret gennem en søjle af IRA 402 Amberlite-harpiks aktiveret i HCO₃⁻-form (20 cm³). Der blev opsamlet 80 cm³ af en van-
25 dig opløsning indeholdende indre propionyl-L-carnitin-salt. Til denne opløsning blev der sat fumarsyre (1,16 g, 0,01 mol) opløst i 20 cm³ H₂O. Opløsningen blev opvarmet til 50°C og holdt ved denne temperatur i 1 time. Opløsningen blev derefter lyofiliseret. Det lyofiliserede
30 produkt blev krystalliseret af isopropanol. Der vandtes titelforbindelsen som ikke-hygroskopisk fast stof.

$$[\alpha]_D^{25} = -20,9 \quad (c = 1, H_2O), \quad \text{smp. } 122-125^\circ\text{C.}$$

NMR, D₂O, δ 6,6 (2H, s, -CH=CH-); 5,6 (1H, m, -CH-);

35

3,8 (2H, m, $-\overset{+}{N}-CH_2-$); 3,3 (9H, s, $(CH_3)_3\overset{+}{N}$);
 2,8-2,3 (4H, m, $-CH_2COOH$; $-CH_2CH_3$);
 1,2 (3H, t, CH_2CH_3)

$C_{14}H_{23}O_8N$:

5	Beregnet	Fundet
C%	50,44	49,80
H%	6,95	7,32
N%	4,20	4,05.

10

Eksempler 8-10

Ved at følge fremgangsmåderne fra de foregående eksempler blev der fremstillet følgende salte, hvis smeltepunkt og optiske rotationsevne er angivet.

15 Eksempel 8: Surt L-carnitin-fumarat

Smp. 137-139°C (i ethanol)
 $[\alpha]_D^{20} = -16$ (c = 2,5, H₂O).

Eksempel 9: Surt L-carnitin-oxalat

20 Smp. 115-118°C (i ethanol)
 $[\alpha]_D^{20} = -20$ (c = 2,5, H₂O)

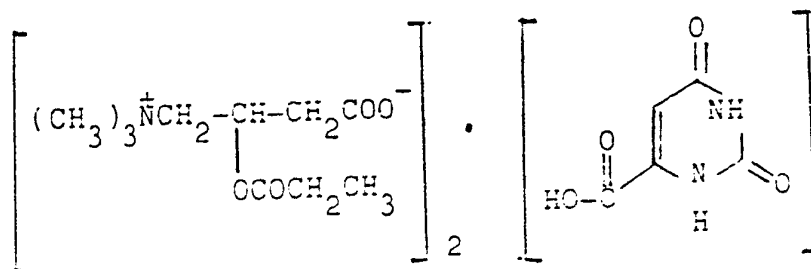
Eksempel 10: Surt L-carnitin-sulfat

25 Smp. 109-113°C (i ethanol)
 $[\alpha]_D^{20} = -18,5$ (c = 2,5, H₂O).

Det fandtes, at alle forbindelserne ifølge eksemplerne 8-10 var ikke-hygroskopiske.

Eksempel 11

30 Fremstilling af propionyl-L-carnitin-orotat (ST 552).



Indre propionyl-L-carnitinsalt (42,2 g, 0,2 mol) og orotsyre (17,4 g, 0,1 mol) blev opløst i methanol (200 cm³). Opløsningen holdtes under omrøring ved stuetemperatur i ca. 1 time og blev derefter koncentreret til 5 tørhed i vakuum. Der vandtes et hvidt fast stof bestående af saltet af propionyl-L-carnitin med orotsyre (forhold 2:1).

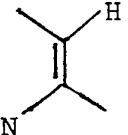
H.P.L.C. VARIAN:

10 søjle	μBondapak NH ₂
eluent	KH ₂ PO ₄ 0,05M 35
	CH ₃ CN 65
tryk	60 atm.
strømningshastighed	1,5 ml/min.
15 U.V. detektor	205λ
integrator	4270 Varian
diagramhastighed	0,5 cm/min.
orotsyre	Rf 2,70 cm
propionyl-L-carnitin	Rf 4,95 cm.

20

Forholdet mellem orotsyre og propionyl-L-carnitin (beregnet ud fra forholdet mellem overfladearealerne med en standard som reference) viste sig at være 32%:78%, mens den teoretiske værdi beregnet for saltet bestående af 2 mol propionylcarnitin og 1 mol orotsyre er 29%:71%. Saltet viste sig vandopløseligt under dannelse af en 5% opløsning. Denne opløsning var stabil i ca. 24 timer.

[α]²⁵ = -23 (H₂O)

30 NMR, D₂O, δ 6,3 (1H, s, ); 5,8 (2H, m, (-CH(-)-)₂);

3,9 (4H, m, (N⁺-CH₂)₂); 3,3 (18H, s, ((CH₃)₃N⁺)₂);

35 2,9 (4H, d, (CH₂CO)₂); 2,6 (4H, q, (OCOCH₂-)₂);

1,3 (6H, t, (-CH₃)₂).

Eksempler 12-13

Ved at følge fremgangsmåderne fra Eksempel 11 blev der fremstillet følgende salte. Deres optiske rotationsevne er angivet nedenfor:

5 Eksempel 12: Acetyl-L-carnitin-orotat

$$[\alpha]_D^{20} = -25$$

Eksempel 13: Butyryl-L-carnitin-orotat

$$[\alpha]_D^{20} = -15.$$

10

Den foreliggende opfindelse angår yderligere farmaceutiske kompositioner indeholdende mindst ét af de ovennævnte ikke-hygroskopiske salte som aktivt princip og et farmakologisk acceptabelt fast eller flydende excipients. Der foretrækkes navnlig de faste kompositioner, der er egnede til fremstilling af oralt anvendelige dosisformer. For eksempel er følgende komposition egnet til fremstilling af tabletter:

	Ikke-hygroskopisk L-carnitinsalt	500 mg
20	ifølge opfindelsen	
	Stivelse	20 mg
	Talkum	10 mg
	Ca-stearat	<u>1 mg</u>
		531 mg.

25 Det følgende er en komposition egnet til fremstilling af kapsler:

	Ikke-hygroskopisk L-carnitinsalt	380 mg
	ifølge opfindelsen	
	Lactose	50 mg
30	Stivelse	20 mg
	Talkum	5 mg
	Ca-stearat	<u>2 mg</u>
		457 mg

Eksempel 14

Dette eksempel viser L-carnitin-citrats og L-carnitin-fumarats manglende hygroskopicitet i sammenligning med det indre L-carnitinsalt.

- 5 10 gram af hver af de tre forbindelser blev af-
 vejet og tørret i en vakuum-ekssikator (VUOTOMATIC 50
 Model B.E. 73, fremstillet af BICASA, Italien) under
 vakuum (1 mm Hg) ved 40°C i 12 timer. Startfugtigheden
 i de tre prøver blev bestemt ved Karl Fisher (K.F.)
 10 metoden på en automatisk titrator (Mettler DL 18).

- Prøverne blev herefter sat i en termostatisk ovn,
 udstyret med muligheden for at variere den relative
 luftfugtighed (Model UY 110, fremstillet af ANGELLANTONI,
 Italien), ved en temperatur på 25°C ± 1°C relativ luft-
 15 fugtighed. Efter at der var opnået ligevægt blev K.F.-
 værdien bestemt. Samme fremgangsmåde blev anvendt for
 relative luftfugtigheder på 40%, 50%, 65% og 80%. Resultaterne er vist i nedenstående tabel:

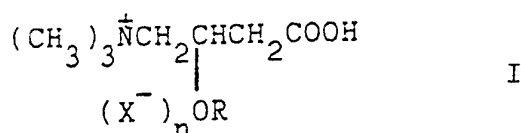
20	Relativ luftfugtighed %	Indre L-carnitin- salt % KF	L-carnitin- citrats % KF	L-carnitin- fumarat % KF
	0	0,8	0,6	0,9
	30	0,9	0,5	0,7
25	40	6,8	0,4	0,6
	50	9,8	0,5	0,7
	65	24,0 (henflydende)	0,4	0,4
	80	31,0 (henflydende)	0,6	0,8
30				

Det fremgår af tabellen, at så snart en tærskel på
 30% relativ luftfugtighed overskrides, øges hygroskopi-
 citeten kraftigt af det indre L-carbintinsalt. Denne
 forbindelse bliver henflydende ved 65% luftfugtighed.

- 35 L-carnitincitrat og L-carnitinfumarat beholder på
 den anden side praktisk taget deres startfugtighed i
 hele det testede relative luftfugtighedsområde.

P A T E N T K R A V

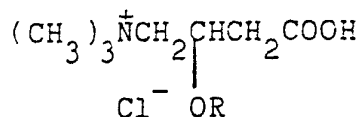
1. Ikke-hygroskopiske L-carnitin- og alkanoyl-L-carnitinsalte, k e n d e t e g n e t ved, at de har den
5 almene formel:



10 hvor:

- X^- er en anion valgt blandt surt asparaginat, surt citrat, surt phosphat, surt fumarat, lactat, surt maleat, surt oxalat, surt sulfat og orotat,
R er hydrogen, forudsat af X^- er forskellig fra orotat,
15 eller lavere alkanoyl valgt blandt acetyl, propionyl butyryl, og
n er 1/2, hvis X^- er orotat, og 1, hvis X^- er en af de andre anioner.

2. Fremgangsmåde til fremstilling af et salt
20 ifølge krav 1, k e n d e t e g n e t ved, at
(a) er et chlorid med den almene formel:



25

- hvor R er som ovenfor defineret, på i og for sig kendt måde omdannes til det tilsvarende indre salt,
(b) en vandig eller alkoholisk opløsning af nævnte indre salt omsættes ved en temperatur mellem stuetempera-
tur og ca. 50°C med en ækvimolær mængde af en syre
30 valgt blandt asparagin-, citron-, phosphor-, fumar-, mælke-, malein-, oxal- og svovlsyre eller med en semi-molær mængde af orotsyre, til dannelse af det ønskede salt, og
35 (c) det ønskede salt isoleres ved koncentrerings af den alkoholiske opløsning eller ved koncentrerings eller

lyofilisering af den vandige opløsning og eventuelt efterfølgende krystallisation.

3. Farmaceutisk komposition, k e n d e t e g -
n e t ved, at den indeholder et salt ifølge krav 1 som
5 aktivt princip og et farmakologisk acceptabelt fast eller
flydende excipiens for dette.

4. Komposition ifølge krav 3, k e n d e t e g -
n e t ved, at den foreligger i fast form.