



MINISTERO DELLO SVILUPPO ECONOMICO
DIREZIONE GENERALE PER LA LOTTA ALLA CONTRAFFAZIONE
UFFICIO ITALIANO BREVETTI E MARCHI

DOMANDA NUMERO	102000900854398
Data Deposito	14/06/2000
Data Pubblicazione	14/12/2001

Sezione	Classe	Sottoclasse	Gruppo	Sottogruppo
A	61	K		

Titolo

FUMARATI DOPPI DI UNA CARNITINA E CREATINA, E INTEGRATORI ALIMENTARI
DIETETICI E FARMACI CHE LI CONTENGONO.

RM2000 A 000322

Descrizione dell'invenzione avente per titolo:

"Fumarati doppi di una carnitina e creatina, e integratori alimentari, dietetici e farmaci che li contengono"

a nome: BIOSALTS s.r.l.

di nazionalità: italiana

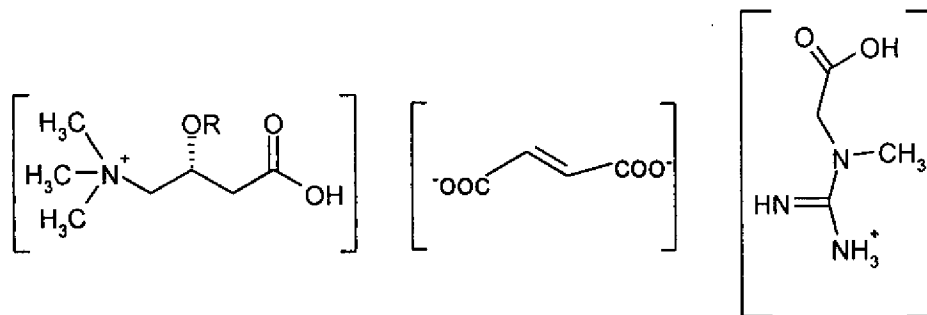
con sede in: Via Claudio Monteverdi, 16 - 00198 Roma

inventore: Antonietta BUONONATO

---000---

La presente invenzione riguarda fumarati doppi non igroscopici e stabili di creatina e di una "carnitina", ove per "carnitina" si intende la L-carnitina o la isovaleril L-carnitina.

Tali fumarati che hanno formula (I)



(I)

in cui R è idrogeno o isovalerile, sono utili quali principi attivi di integratori alimentari, prodotti dietetici o farmaci.

L'acido fumarico [acido (E)-2-butenedioico] presenta interessanti applicazioni sia in campo nutrizionale sia terapeutico.

Esso è utilizzato quale sostituto sia dell'acido tartarico che può provocare sgradevoli effetti gastrointestinali per le sue proprietà lassative nella preparazione di bevande e come lievito in

polvere, sia dell'acido citrico nei succhi di frutta.

L'effetto cardioprotettivo dell'acido fumarico è stato verificato su cuori di ratto perfuso (La Plante et al. "Effects and metabolism of fumarate in the perfused rat heart. A ^{13}C mass isotopomer study", Am. J. Physiol. 272: E74-E82, 1997) e sul miocardio immaturo (Pearl et al. "Fumarate enriched blood cardioplegia results in complete functional recovery of immature myocardium", Ann. Thorac. Surg. 57: 1636-41, 1993).

L'acido fumarico è inoltre un acido "farmacologicamente accettabile": i suoi sali sono infatti inclusi nella lista degli "FDA-approved commercially marketed salts" pubblicata ad esempio in Journal of Pharmaceutical Sciences, Vol. 66, n. 1, pagg 1-19, 1977. La conversione di farmaci nei rispettivi sali farmacologicamente accettabili è infatti un mezzo largamente utilizzato per ottimizzare le forme di somministrazione o certe proprietà dei farmaci stessi quali stabilità, resistenza all'umidità, scorrevolezza, ecc.

Sia la L-carnitina fumarato *acido* sia la isovaleril L-carnitina fumarato *acido* sono composti noti. (L'acido fumarico è un acido dicarbossilico: nei suddetti fumarati *acidi* solo uno dei due gruppi carbossilici è salificato).

La L-carnitina fumarato *acido*, la cui preparazione e proprietà chimico-fisiche sono descritte ad esempio nel brevetto US 4.602.039, è stata sviluppata per superare i notevoli problemi di stoccaggio e lavorazione presentati dalla L-carnitina sale interno a causa della sua igroscopicità. La L-carnitina fumarato *acido* è in-

fatti molto stabile e presenta un profilo di resistenza all'umidità, in assenza di effetti gastro-intestinali, anche migliore del tartrato di L-carnitina, un altro sale non igroscopico sviluppato anch'esso per superare l'igroscopicità della L-carnitina. Il tartrato presenta tuttavia il vantaggio di avere entrambi i gruppi carbossilici salificati dalla L-carnitina e di contenere, pertanto, una più elevata percentuale di L-carnitina (il 68% contro il 58%).

La isovaleril L-carnitina fumarato acido, la cui preparazione è descritta nel brevetto US 5.227.518, è anch'essa un composto stabile e di buona resistenza all'umidità.

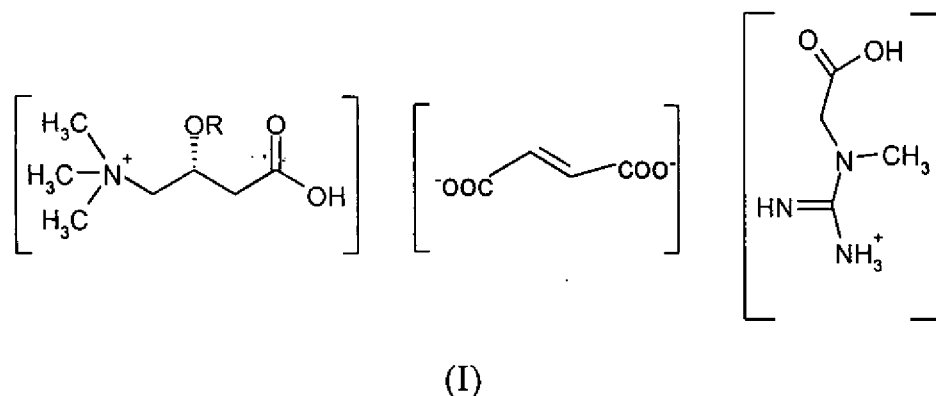
I tentativi di salificare anche il carbossile libero di fumarati acidi in cui l'altro carbossile è salificato con la L-carnitina o la isovaleril L-carnitina sono finora falliti. Ad esempio, il tentativo di preparare il fumarato di L-carnitina (che avrebbe il vantaggio di presentare un'altissima percentuale di L-carnitina, il 73,5% circa contro il 68% del tartrato e il 58% del fumarato acido) conduce ad una sostanza altamente igroscopica probabilmente costituita da una miscela di fumarato acido di L-carnitina e di L-carnitina sale interno. È quest'ultimo che impartisce alla sostanza finale nel suo complesso le caratteristiche di elevata igroscopicità.

Analoghi insuccessi si verificano cercando di salificare il gruppo carbossilico libero di fumarati acidi con delle alcanoil L-carnitine, quali l'acetil o la propionil L-carnitina.

È stato trovato che è possibile salificare entrambi i gruppi carbossili dell'acido fumarico con la L-carnitina o, rispettivamente,

con la isovaleril L-carnitina e con la creatina.

I risultanti sali "doppi" così ottenuti, di formula I



in cui R è idrogeno o isovalerile, sono stabili e non igroscopici.

La creatina è un composto organico azotato presente in notevole quantità nel tessuto muscolare dei vertebrati, sotto forma (per i 2/3 circa) di creatinfosfato.

La creatina viene biosintetizzata, soprattutto nel fegato e nel rene, da tre amminoacidi: la glicina che fornisce lo scheletro carbonioso, l'arginina che cede il gruppo ammidico e la metionina che cede il metile. La creatina viene eliminata con le urine sotto forma di creatinina. La creatina può essere assunta con la dieta, essendo contenuta principalmente nella carne. Tuttavia, per assumerne 10 grammi al giorno bisognerebbe consumare quasi 2,5 kg di carne. L'apporto esogeno e la biosintesi endogena devono bilanciare il turn-over giornaliero di creatina a creatinina che in un soggetto di sesso maschile di 70 kg può essere valutato intorno ai 2 g.

La funzione fisiologica della creatina è estremamente importante: nel muscolo, ma anche nel cervello, nel fegato e nel rene, la

creatina, accettando reversibilmente il gruppo fosforico dell'ATP, svolge il ruolo di riserva di radicali fosforici ricchi di energia. L'importanza di questa reazione deriva dal fatto che l'ATP non può accumularsi nei tessuti al disopra di un limite assai modesto. È la fosfocreatina, presente nei tessuti in quantità 5 volte circa più elevata dell'ATP che ne assicura il rifornimento. Dopo un moderato esercizio fisico, la fosfocreatina del muscolo scheletrico diminuisce in misura molto più rilevante che non l'ATP, a dimostrazione che la fosfocreatina rifosforila l'ADP, man mano che l'ATP viene defosforilato. Quando il ritmo di produzione metabolica di ATP supera quello della sua utilizzazione, si forma fosfocreatina. La fosfocreatina costituisce quindi un deposito di energia immediatamente utilizzabile e atto a "tamponare" esigenze energetiche superiori alla velocità di sintesi dell'ATP nei processi metabolici fosforilativi.

La creatina viene assunta particolarmente da atleti e da sportivi in genere in quanto essa aumenta la massa muscolare se la sua assunzione viene accompagnata da una attività fisica costante. La sua assunzione provoca una diminuzione del livello di grasso, mentre aumenta la massa muscolare. Recenti ricerche hanno dimostrato che l'assunzione di creatina insieme a carboidrati aumenta i suoi effetti a causa della produzione di insulina che è stimolata dagli zuccheri semplici i quali con molta probabilità svolgono in ruolo nel trasporto di creatina nelle cellule muscolari.

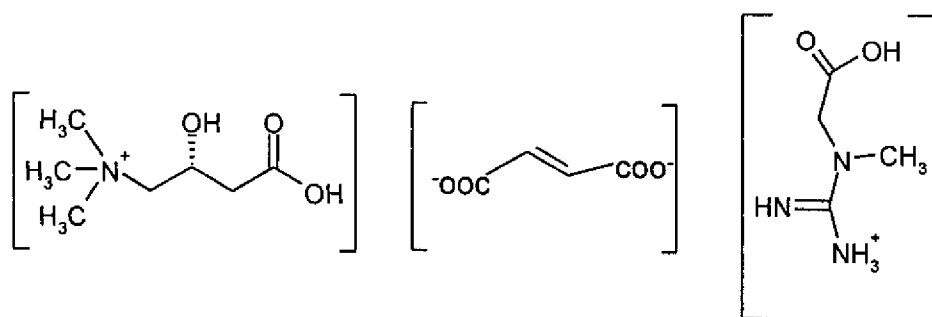
I fumarati secondo l'invenzione, che combinano sinergicamente creatina e "carnitina" in un unico composto, attivano da una

parte la produzione di energia nelle miocellule, soprattutto delle fibre di tipo I, consentendo l'ingresso nel mitocondrio di una parte energetica importante (gli acidi grassi), e dall'altra stimolano l'uscita dallo stesso organulo dell'ATP formatosi nella respirazione cellulare (fosforilazione ossidativa) atto a consentire la disponibilità di energia meccanica necessaria per la contrazione del muscolo stesso.

Gli esempi che seguono illustrano la preparazione e le proprietà chimico fisiche dei composti dell'invenzione.

Esempio 1

Fumarato di L-carnitina e creatina (BS/231)



$C_{15}H_{27}N_4O_9$

p.m. 407,35

14,9 g (0,1 moli) di creatina monoidrato e 16,1 g (0,1 moli) di L-carnitina sale interno furono sciolti in 500 mL di acqua.

Alla risultante soluzione si aggiunsero sotto agitazione 11,6 g (0,1 moli) di acido fumarico. Dopo completa dissoluzione si aggiunse alcool isobutilico e la miscela venne distillata sotto vuoto a 40°C. Il residuo ottenuto venne ripreso con acetone e la miscela lasciata sotto agitazione per qualche ora.

La miscela venne quindi filtrata sotto vuoto e il solido ottenuto venne messo ad essiccare per una notte in cella termostatica a 30°C. Si ottennero g 40,5 di fumarato di L-carnitina e creatina sotto forma di un solido bianco e cristallino che risultò non igroscopico e di sapore gradevole.

Resa del 96%.

p.f. = 134°C per decomposizione

K.F. = 0,7%

$[\alpha]_D^{20} = -10,7$ (c = 1% H₂O)

pH = 5,5 (c = 1% H₂O)

Rapporto:

L-Carnitina 40%

Creatina 32%

Acido fumarico 28%

A. Elementare	C%	H%	N%
Calcolato	44,22	6,67	13,75
Trovato	44,01	6,59	13,68

NMR: D₂O δ = 6,6 (2H, s, ); 4,6-4,4 (1H, m, );

3,9 (2H, s, N-CH₂-COOH); 3,4-3,3 (2H, d, N-CH₂-CH);

3,2 (9H, s, (CH₃)₃-N); 2,9 (3H, s, N-CH₃); 2,5-2,4 (2H, d, CH₂-COOH)

HPLC:

Colonna: Hypersil APS-2 (5 μ m) 200 x 4,6

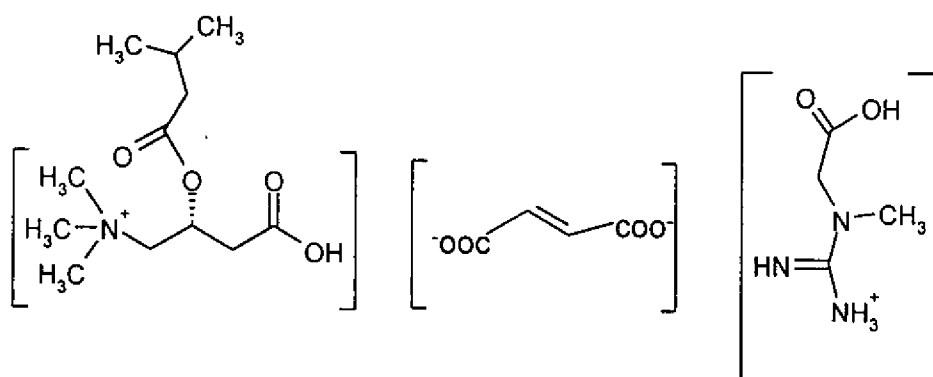
Temperatura: = 30°C

Fase mobile: CH₃CN/H₂O + 0,05 M KH₂PO₄/CH₃CN (65-35 v/v)

pH: 4,7 con H_3PO_4
Flusso: 0,7 mL/min
 R_t = acido fumarico 12,5; creatina 7,4; L-carnitina 10,8.

Esempio 2

Fumarato di isovaleril L-carnitina e creatina (BS/232)



$C_{20}H_{35}N_4O_{10}$

p.m. 491

14,9 g (0,1 moli) di creatina monoidrato e 24,5 g (0,1 moli) di isovaleril L-carnitina sale interno furono sciolti in 500 mL di acqua.

Alla risultante soluzione si aggiunsero sotto agitazione 11,6 g (0,1 moli) di acido fumarico. Dopo completa dissoluzione si aggiunse alcool isobutilico e la miscela venne distillata sotto vuoto a 40°C. Il residuo ottenuto venne ripreso con acetone e la risultante miscela lasciata sotto agitazione per qualche ora.

La miscela venne quindi filtrata sotto vuoto e il solido ottenuto venne messo ad essicare per una notte in cella termostatica a 30°C. Si ottennero g 47,2 di fumarato di isovaleril L-carnitina e creatina sotto forma di un solido bianco e cristallino che risultò

non igroscopico e cristallizzabile con alcool etilico al 95%.

Resa del 97%.

p.f. = 125-127°C per decomposizione

K.F. = 0,5%

$[\alpha]_D^{20} = -8$ (c = 1% H₂O)

pH = 5,3 (c = 1% H₂O)

A. Elementare	C%	H%	N%
Calcolato	48,9	7,13	11,4
Trovato	48,7	7,11	10,98

NMR: D₂O δ = 6,6 (2H, s, ); 4,6-4,4 (1H, m, );

3,9 (2H, s, N-CH₂-COOH); 3,4-3,3 (2H, d, N-CH₂-CH);

3,2 (9H, s, (CH₃)₃-N); 2,9 (3H, s, N-CH₃);

2,5-2,4 (2H, d, CH₂-COOH); 2,4-2,2 (2H, d, CH₂-);

2,2-1,9 (1H, m, ); 1-0,8 (6H, d, )

HPLC:

Colonna: Hypersil APS-2 (5 μ m) 200 x 4,6

Temperatura: = 30°C

Fase mobile: CH₃CN/H₂O + 0,05 M KH₂PO₄/CH₃CN (65-35 v/v)

pH: 4,7 con H₃PO₄

Flusso: 0,7 mL/min

λ : 205 nm

R_t = acido fumarico 12,5; creatina 7,4; isovaleril L-carnitina 6,3.

Rapporto:

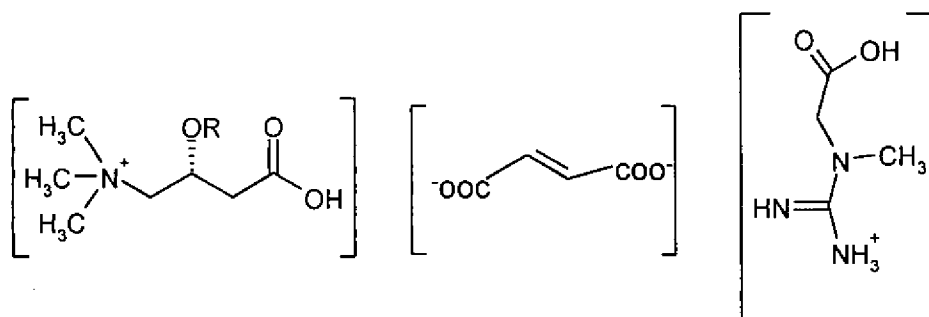
Isovaleril L-Carnitina 50%

Creatina 27%

Acido fumarico 23%.

RIVENDICAZIONI**RM2000 A 000322**

1. Fumarato di formula (I)



(I)

in cui R è idrogeno o isovalerile.

2. Fumarato di L-carnitina e creatina.
3. Fumarato di isovaleril L-carnitina e creatina.
4. Composizione comprendente quale principio attivo un composto di formula generale (I) come definito nelle rivendicazioni 1-3.
5. Composizione secondo la rivendicazione 4 comprendente ulteriormente una o più altre sostanze scelte fra eccipienti e/o diluenti farmacologicamente accettabili e principi attivi.
6. Composizione secondo le rivendicazioni 4 o 5 sotto forma di compresse, compresse masticabili, capsule, granulati o polveri.
7. Composizione secondo le rivendicazioni 4-6 sotto forma di dosaggio unitario comprendente come principio attivo un fumarato di formula (I), contenente 50-2.000, preferibilmente 100-1.000 mg di L-carnitina o isovaleril L-carnitina espressi come sale interno.
8. Composizione secondo le rivendicazioni 4-7 per uso umano come integratore alimentare, prodotto dietetico o farmaco.

9. Composizione secondo le rivendicazioni 4-6 per uso veterinario come integratore di mangimi.

p.i. di BIOSALTS s.r.l.

dott. Fabio Cavattoni

