



CONFEDERAZIONE SVIZZERA

UFFICIO FEDERALE DELLA PROPRIETÀ INTELLETTUALE

⑪ CH 655 006 A5

⑤① Int. Cl.4: A 61 K 31/205

Brevetto d'invenzione rilasciato per la Svizzera ed il Liechtenstein

Trattato sui brevetti, del 22 dicembre 1978, fra la Svizzera ed il Liechtenstein

⑫ **FASCICOLO DEL BREVETTO** A5

⑳ Numero della domanda: 5844/83

㉔ Data di deposito: 28.10.1983

㉓ Priorità: 29.10.1982 IT 49398/82

㉒ Brevetto rilasciato il: 27.03.1986

㉑ Fascicolo del
brevetto pubblicato il: 27.03.1986㉒ Titolare/Titolari:
Sigma-Tau Industrie Farmaceutiche Riunite
S.p.A., Roma (IT)㉒ Inventore/Inventori:
Cavazza, Claudio, Roma (IT)㉒ Mandatario:
Dr. Mario Pozzi, Lugano⑤④ **Composizione farmaceutica atta alla somministrazione orale o parenterale per il trattamento degli stadi involutivi della senescenza.**

⑤⑦ Viene descritta una composizione farmaceutica comprendente L-carnitina, la cui somministrazione orale o parenterale a dei soggetti anziani provoca il miglioramento dei parametri biochimici e comportamentali tipici dell'età senile.

RIVENDICAZIONE

Composizione farmaceutica atta alla somministrazione orale o parenterale per il trattamento degli stadi involutivi della senescenza comprendente, in forma di dosaggio unitario, da 500 a 1000 mg di L-carnitina ed un eccipiente farmacologicamente accettabile.

La presente invenzione riguarda un nuovo uso terapeutico della L-carnitina. In termini generali, tale nuovo uso concerne il trattamento della senescenza. In termini più specifici, il nuovo uso terapeutico della L-carnitina è in relazione al miglioramento dei parametri biochimici e comportamentali che si considerano tipici dell'età senile.

Sono già noti precedenti usi terapeutici della L-carnitina. Ad esempio, la L-carnitina viene usata in campo cardiovascolare per il trattamento dell'ischemia miocardica acuta e cronica, dell'angina pectoris, dell'insufficienza e delle aritmie cardiache. In campo nefrologico, la L-carnitina viene somministrata a pazienti uremici cronici sottoposti a regolare trattamento emodialitico per combattere l'astenia muscolare e l'insorgenza di crampi muscolari. Altri usi terapeutici riguardano la normalizzazione del rapporto HDL/LDL + VLDL e l'alimentazione parenterale totale. Non vi è tuttavia alcuna correlazione fra i noti impieghi terapeutici della L-carnitina precedentemente menzionati e quello che costituisce l'oggetto della presente invenzione.

Risulta pertanto inatteso e sorprendente che la somministrazione orale o parenterale di L-carnitina a soggetti anziani provochi il miglioramento dei parametri biochimici e comportamentali tipici dell'età senile.

Sebbene la dose giornaliera da somministrare dipenda, a seconda del giudizio del medico curante, dal peso, età e condizioni generali del soggetto anziano, si è trovato che è generalmente opportuno somministrare da 10 a 30 mg / Kg di peso corporeo / giorno di L-carnitina.

La L-carnitina viene formulata con gli usuali eccipienti impiegati per la preparazione di composizioni atte alla somministrazione orale o parenterale.

Si è altresì trovato che una composizione farmaceutica particolarmente adatta agli usi terapeutici sopramenzionati, comprende, quando in forma di dosaggio unitario, da 500 a 1000 mg di L-carnitina.

Sono stati effettuati numerosi esperimenti, alcuni dei quali vengono di seguito descritti fornendo i relativi risultati.

Studio degli effetti della somministrazione di L-carnitina su alcuni parametri biochimici e comportamentali di ratti 6 vecchi.

Venne effettuato un trattamento prolungato di 105 giorni con L-carnitina su ratti 6 Albino Wistar dell'età di circa 25 mesi e del peso medio di 500 grammi. Gli animali venivano alimentati normalmente. La L-carnitina venne somministrata agli animali trattati alla dose di 50 mg/Kg/giorno nell'acqua da bere, mentre gli animali costituenti i gruppi di controllo ricevevano semplicemente acqua. Dopo 48 giorni di trattamento vennero sacrificati tre animali per gruppo per effettuare una prima valutazione del contenuto di carnitina nel siero ed in alcuni organi. Sui rimanenti animali, tra il settantesimo ed il centocinquantesimo giorno di trattamento, venne effettuato il test dell'attività motoria ponendo gli animali uno per volta sull'Animex durante le ore notturne e registrando il numero dei movimenti compiuti ogni 30 minuti per 15 ore a partire dalle ore 17. Durante il test gli animali trattati avevano libero accesso all'acqua contenente la L-carnitina. Al termine dei centocinque giorni di trattamento i ratti vennero sacrificati e furono analizzati alcuni parametri biochimici sul siero e su alcuni organi. Per tutta la

durata dell'esperimento vennero tenute sotto controllo le condizioni ambientali e comportamentali degli animali.

Risultati

Controllo a 105 giorni di trattamento.

(1) MORTALITÀ

Gli animali erano stati suddivisi in due gruppi: gruppo di controllo (35 animali) e gruppo dei trattati (34 animali). Dopo 105 giorni di trattamento si rilevò il seguente risultato:

<i>Gruppo di controllo:</i>	20 animali morti
	15 animali sopravvissuti
	Tasso di mortalità: 57,1%
<i>Gruppo dei trattati:</i>	10 animali morti
	24 animali sopravvissuti
	Tasso di mortalità: 29,4%

Test esatto di Fisher: differenza significativa al 2%.

(2) TEST DELLA TAVOLA A BUCHI (vengono contati i buchi esplorati dall'animale in 30 minuti primi).

Nel test vennero impiegati:

10 ratti giovani (4 mesi)
10 ratti vecchi (24 mesi) non trattati
10 ratti vecchi (24 mesi) trattati.

Risultati:

ratti giovani	: 25 ± 2,8
ratti vecchi non trattati	: 12 ± 3,3
ratti vecchi trattati	: 21 ± 3,0
«t» di Student	: P ≤ 0,05.

(3) ATTIVITÀ MOTORIA

L'attività motoria dei ratti trattati con la L-carnitina risultò potenziata in maniera statisticamente significativa (P < 0,05) nei confronti dei controlli nonostante la elevata variabilità presente tra i singoli casi.

I grafici 1, 2 e 3 in cui è riportato l'andamento dei movimenti totali, cioè dei movimenti di traslazione e dei movimenti fini valutati nelle singole mezz'ore, mostrano che le maggiori differenze fra controlli e trattati apparivano fra la quarta e la sesta ora e tra la nona e la quindicesima ora del test.

Nei grafici 4, 5 e 6 sono riportati invece i valori cumulativi del numero di movimenti compiuti ogni mezz'ora che sono stati man mano sommati ai precedenti.

L'effetto della carnitina risulta più evidente sui movimenti di traslazione rispetto agli altri tipi di movimenti.

(4) CONTROLLI SU ALCUNI ORGANI

Ai ratti sacrificati vennero prelevati alcuni organi: cuore, fegato, rene e muscolo tibiale, su cui furono effettuate le analisi atte a delucidare il meccanismo d'azione della carnitina:

a) Trigliceridi nel cuore, fegato e muscolo tibiale.

I risultati ottenuti sono illustrati nella Tabella 1.

b) Carnitina nel cuore, fegato, rene e muscolo tibiale.

Il trattamento prolungato con L-carnitina provocò un aumento significativo del contenuto di carnitina nel cuore e nel rene dei ratti con raggiungimento addirittura di valori tipici di ratti giovani (si veda la Tabella 2).

Nel muscolo tibiale si poté osservare un aumento non significativo di carnitina nel gruppo dei trattati.

c) Carnitina Acetil Trasferasi (CAT) e Carnitina Palmitoil Trasferasi (CPT) nel cuore, fegato, rene e muscolo tibiale.

I risultati sono riassunti nella Tabella 3.

TABELLA 1 - Determinazione dei trigliceridi (mg/100 mg di tessuto) nel cuore, nel fegato e nel muscolo tibiale di ratti ♂ vecchi (25 mesi) trattati per 105 giorni con L-carnitina a 50 mg/Kg/die nell'acqua da bere

	Cuore	Fegato	Musc. tibiale
Controlli	1,22 ± 0,15 (6)	0,99 ± 0,13 (6)	0,64 ± 0,10 (6)
Trattati	0,70 ± 0,12 (8)	1,09 ± 0,16 (9)	0,78 ± 0,10 (9)

In parentesi il numero di animali.

«t» di Student: $P \leq 0,01$

TABELLA 2 - Dosaggio della carnitina nel siero ed in alcuni organi di ratti ♂ vecchi (25 mesi) trattati per 105 giorni con L-carnitina a 50 mg/Kg/die nell'acqua da bere.

	Siero μmoli/l	Cuore nmoli/g	Fegato nmoli/g	Rene nmoli/g	Musc. tibiale nmoli/g
Controlli	28,56 ± 2,12 (5)	455,04 ± 17,5 (4)	307,05 ± 31,98 (5)	360,90 ± 34,06 (4)	739,02 ± 57,47 (4)
Trattati	43,13 ± 4,56 ■ (8)	586,03 ± 31,65 ■ (6)	253,47 ± 30,41 (8)	572,43 ± 39,00 △ (6)	903,12 ± 59,1 (6)

Test «t» di Student nei confronti dei controlli: ■, ■ e △ indicano rispettivamente $P = 0,05$; $0,02$ e $0,01$.

In parentesi il numero di animali.

TABELLA 3 - Dosaggio della Carnitina Acetil Trasferasi (CAT) e della Carnitina Palmitoil Trasferasi (CPT) in alcuni organi di ratti ♂ vecchi (24 mesi) alimentati trattati per 110 giorni con L-Carnitina a 50 mg/Kg/die nell'acqua da bere. I valori sono espressi in M/min/mg proteine.

	Cuore	Fegato	Rene	Musc. tibiale
CAT				
Controlli	5,83 ± 0,68 (7)	0,51 ± 0,05 (7)	2,69 ± 0,24 (7)	3,40 ± 0,45 (7)
Trattati	8,46 ± 0,76 ■ (8)	1,27 ± 0,25 ■ (8)	3,26 ± 0,47 (8)	3,87 ± 0,89 (8)
CPT				
Controlli	5,41 ± 0,61 (7)	0,47 ± 0,09 (7)	1,22 ± 0,16 (6)	1,09 ± 0,19 (6)
Trattati	7,46 ± 0,68 ■ (8)	0,99 ± 0,14 ■ (8)	1,04 ± 0,21 (8)	1,14 ± 0,37 (8)

Test «t» di Student nei confronti dei controlli: ■ e ■ indicano risp. $P = 0,05$ e $0,02$.
In parentesi il numero di animali.

(5) CUORE ISOLATO

60 (5.1) Flusso coronarico

La riduzione della L-carnitina, particolarmente significativa nelle strutture contrattili striate, e il recupero del tasso normale in ratti cui era stata somministrata della carnitina esogena in confronto a ratti giovani, ha condotto ad investigare le funzioni cardiache in ratti giovani e vecchi, di controllo e trattati, allo scopo di avere due gruppi di controllo, vale a dire ratti non trattati vecchi e giovani.

Il trattamento con L-carnitina indusse in ogni caso un aumento significativo del flusso coronarico in ratti giovani.

I ratti vecchi di controllo mostrarono dei valori statisticamente inferiori a quelli dei giovani ratti di controllo, mentre il trattamento con L-carnitina provocò dei valori statisticamente non diversi rispetto a quelli di giovani ratti non trattati. (Si veda la Tabella 4).

TABELLA 4 - Flusso coronarico (ml/min.) in cuori isolati di ratti giovani e vecchi, non trattati oppure trattati con L-carnitina (6 animali per gruppo).

Tempi	10'	20'	30'	40'	50'	60'
Giovani ratti di controllo $\bar{x} \pm s.e.$	22,0 $\pm$ 1,9	22,5 $\pm$ 1,5	22,5 $\pm$ 1,5	22,2 $\pm$ 1,6	21,8 $\pm$ 1,4	21,5 $\pm$ 1,6
Giovani ratti trattati $\bar{x} \pm s.e.$	30,3 $\pm$ 2,3 ■	32,2 $\pm$ 1,2 ▲	31,8 $\pm$ 1,3 ▲	31,3 $\pm$ 1,1 ▲	29,8 $\pm$ 1,3 ●	28,3 $\pm$ 0,6 ●
Δ % vs. giovani controllo	+37,7	+43,1	+41,3	+41,0	+36,7	+31,6
Ratti vecchi di controllo $\bar{x} \pm s.e.$	17,8 $\pm$ 1,2	17,8 $\pm$ 1,2 ■	17,0 $\pm$ 1,0 ■	16,7 $\pm$ 1,2 ■	16,5 $\pm$ 1,2 ■	16,2 $\pm$ 1,3 ■
Δ % vs. giovani controllo	-19,1	-20,9	-24,4	-24,8	-24,3	-24,7
Ratti vecchi trattati $\bar{x} \pm s.e.$	22,5 $\pm$ 2,7	22,8 $\pm$ 2,8	22,8 $\pm$ 3,2	22,5 $\pm$ 3,1	22,7 $\pm$ 3,0	22,0 $\pm$ 3,2
Δ % vs. giovani controllo	+ 2,3	+ 1,3	+ 1,3	+ 1,4	+ 4,1	+ 2,3
Δ % vs. vecchi controllo	+26,4	+28,1	+34,1	+34,7	+37,6	+35,8

Test «t» di Student per le differenze nei riguardi di ratti giovani di controllo:

■ = $p \leq 0,05$; ■ = $p \leq 0,02$; ■ = $p \leq 0,02$; ● = $p \leq 0,01$; ▲ = $p \leq 0,001$.

(5.2) Flusso aortico

In conseguenza del trattamento con L-carnitina, il flusso aortico (in ml/min.) varia significativamente sia in ratti giovani che in ratti vecchi. È importante notare che i ratti vecchi di controllo mostrarono dei valori inferiori a quelli registrati per i

30 ratti giovani (circa il 40% del valore medio); anche nei ratti trattati, la differenza fra ratti giovani e vecchi era significativa, tuttavia inferiore (circa il 30%).

Questo dato è interessante per dimostrare che il trattamento con L-carnitina consente una migliore performance emodinamica del ventricolo sinistro (si veda la Tabella 5).

TABELLA 5 - Flusso aortico (ml/min.) nel cuore isolato di ratti giovani e vecchi, non trattati oppure trattati con L-carnitina (6 animali per gruppo).

Tempi	10'	20'	30'	40'	50'	60'
Giovani ratti di controllo $\bar{x} \pm s.e.$	61,0 $\pm$ 2,8	63,0 $\pm$ 2,9	63,0 $\pm$ 2,1	60,8 $\pm$ 3,7	59,0 $\pm$ 5,3	56,3 $\pm$ 6,6
Giovani ratti trattati $\bar{x} \pm s.e.$	80,7 $\pm$ 3,6 ●	82,0 $\pm$ 2,9 ▲	80,3 $\pm$ 2,9 ▲	75,0 $\pm$ 3,9 ■	71,3 $\pm$ 4,6	65,7 $\pm$ 5,7
Δ % vs. giovani controllo	+32,3	+30,2	+27,5	+23,4	+20,8	+16,7
Ratti vecchi di controllo $\bar{x} \pm s.e.$	29,3 $\pm$ 1,3 ▲	30,2 $\pm$ 1,3 ▲	30,5 $\pm$ 2,0 ▲	32,7 $\pm$ 1,5 ▲	31,2 $\pm$ 1,5 ▲	31,0 $\pm$ 1,8 ●
Δ % vs. giovani controllo	-52,0	-52,1	-51,6	-46,2	-47,1	-44,9
Ratti vecchi trattati $\bar{x} \pm s.e.$	49,7 $\pm$ 3,9 ■	50,0 $\pm$ 4,4 ■○	47,2 $\pm$ 6,1 ■□	45,0 $\pm$ 6,4	43,7 $\pm$ 6,7	42,0 $\pm$ 6,7
Δ % vs. giovani controllo	-18,5	-20,6	-25,1	-26,0	-26,0	-25,4
Δ % vs. vecchi controllo	+69,6	+65,7	+54,8	+37,6	+40,1	+35,5

Test «t» di Student per differenze riguardo a ratti giovani controllo: ■ = $p \leq 0,05$; ● = $p \leq 0,01$; ▲ = $p \leq 0,001$

Test «t» di Student per differenze riguardo a ratti vecchi controllo: □ = $p \leq 0,05$; ○ = $p \leq 0,01$; △ = $p \leq 0,001$

(5.3) Portata cardiaca

I ratti trattati mostrano delle condizioni funzionali migliori in confronto ai controlli: le differenze registrate apparivano

statisticamente significative a tutti i tempi considerati fino a 50 minuti per i ratti giovani e fino a 30 minuti per i ratti vecchi (si veda la Tabella 6).

TABELLA 6 - Portata cardiaca (ml/min.) in cuori isolati di ratti giovani e vecchi, non trattati oppure trattati con L-carnitina (6 animali per gruppo).

Tempi	10'	20'	30'	40'	50'	60'
Giovani ratti di controllo $\bar{x} \pm s.e.$	83,0 $\pm$ 3,5	85,5 $\pm$ 3,5	85,5 $\pm$ 3,1	83,0 $\pm$ 4,9	80,8 $\pm$ 6,3	77,8 $\pm$ 7,7
Giovani ratti trattati $\bar{x} \pm s.e.$	111,0 $\pm$ 2,8 ▲	114,2 $\pm$ 2,7 ▲	112,2 $\pm$ 2,9 ▲	106,3 $\pm$ 3,4 ●	101,2 $\pm$ 4,2 ■	94,0 $\pm$ 5,8
Δ % vs. giovani controllo	+ 33,7	+ 33,6	+ 31,2	+ 28,1	+ 25,2	+20,8
Ratti vecchi di controllo $\bar{x} \pm s.e.$	47,2 $\pm$ 2,1 ▲	48,0 $\pm$ 2,0 ▲	47,5 $\pm$ 2,4 ▲	49,3 $\pm$ 2,2 ▲	47,7 $\pm$ 2,1 ▲	47,2 $\pm$ 2,3 ●
Δ % vs. giovani controllo	- 43,1	- 43,9	- 44,4	- 40,6	- 41,0	-39,3
Ratti vecchi trattati $\bar{x} \pm s.e.$	72,2 $\pm$ 6,0 ○	72,8 $\pm$ 6,8 ○	70,0 $\pm$ 8,8 □	67,5 $\pm$ 8,8	66,3 $\pm$ 9,0	64,0 $\pm$ 9,3
Δ % vs. giovani controllo	- 13,0	- 14,9	- 18,1	- 18,7	- 17,9	-17,7
Δ % vs. vecchi controllo	+ 53,0	+ 51,7	+ 47,4	+ 36,9	+ 39,0	+35,6

Test «t» di Student per differenze riguardo a ratti giovani controllo: ■ = $p \leq 0,05$; ● = $p \leq 0,01$; ▲ = $p \leq 0,001$

Test «t» di Student per differenze riguardo a ratti vecchi controllo: □ = $p \leq 0,05$; ○ = $p \leq 0,01$.

(5.4) Lavoro cardiaco

strò una significatività statistica fra i ratti di controllo e trattati, 30 giovani e vecchi.

Anche questo parametro (calcolato usando la formula: flessione sistolica $\times$ portata cardiaca : peso fresco del cuore) mo-

Il trattamento con L-carnitina mette in luce una miglior performance delle contrazioni miocardiche (si veda la Tabella 7).

TABELLA 7 - Lavoro cardiaco (pressione sistolica $\times$ portata cardiaca / peso fresco del cuore) nel cuore isolato di ratti giovani e vecchi, non trattati oppure trattati con L-carnitina (6 animali per gruppo).

Tempi	10'	20'	30'	40'	50'	60'
Giovani ratti di controllo $\bar{x} \pm s.e.$	6,18 $\pm$ 0,31	6,54 $\pm$ 0,32	6,40 $\pm$ 0,31	6,10 $\pm$ 0,46	5,83 $\pm$ 0,58	5,52 $\pm$ 0,67
Giovani ratti trattati $\bar{x} \pm s.e.$	7,75 $\pm$ 0,17 ●	7,88 $\pm$ 0,12 ●	7,68 $\pm$ 0,14 ●	7,25 $\pm$ 0,17 ■	6,59 $\pm$ 0,31	5,84 $\pm$ 0,48
Δ % vs. giovani controllo	+25,4	+22,2	+20,0	+18,9	+13,0	+ 5,8
Ratti vecchi di controllo $\bar{x} \pm s.e.$	2,65 $\pm$ 0,08 ▲	2,76 $\pm$ 0,08 ▲	2,69 $\pm$ 0,10 ▲	2,77 $\pm$ 0,10 ▲	2,61 $\pm$ 0,08 ▲	2,61 $\pm$ 0,09 ●
Δ % vs. giovani controllo	-57,1	-57,2	-58,0	-54,6	-55,2	-52,7
Ratti vecchi trattati $\bar{x} \pm s.e.$	4,66 $\pm$ 0,41 ■○	4,71 $\pm$ 0,47 ■○	4,48 $\pm$ 0,62 ■□	4,27 $\pm$ 0,60 ■□	4,13 $\pm$ 0,62 □	3,91 $\pm$ 0,65
Δ % vs. giovani controllo	-24,6	-27,0	-30,0	-30,0	-29,2	-29,2
Δ % vs. vecchi controllo	+75,8	+70,7	+66,5	+54,2	+58,2	+49,8

Test «t» di Student per differenze riguardo a ratti giovani controllo: ■ = $p \leq 0,05$; ■ = $p \leq 0,02$; ● = $p \leq 0,01$; ▲ = $p \leq 0,001$

Test «t» di Student per differenze riguardo a ratti vecchi controllo: □ = $p \leq 0,05$; ○ = $p \leq 0,01$.

GRAFICO 1
Attività motoria registrata durante le ore notturne su ratti ♂ vecchi (25 mesi) trattati per 85 giorni con L-Carnitina 50 mg/kg/die nell'acqua da bere.

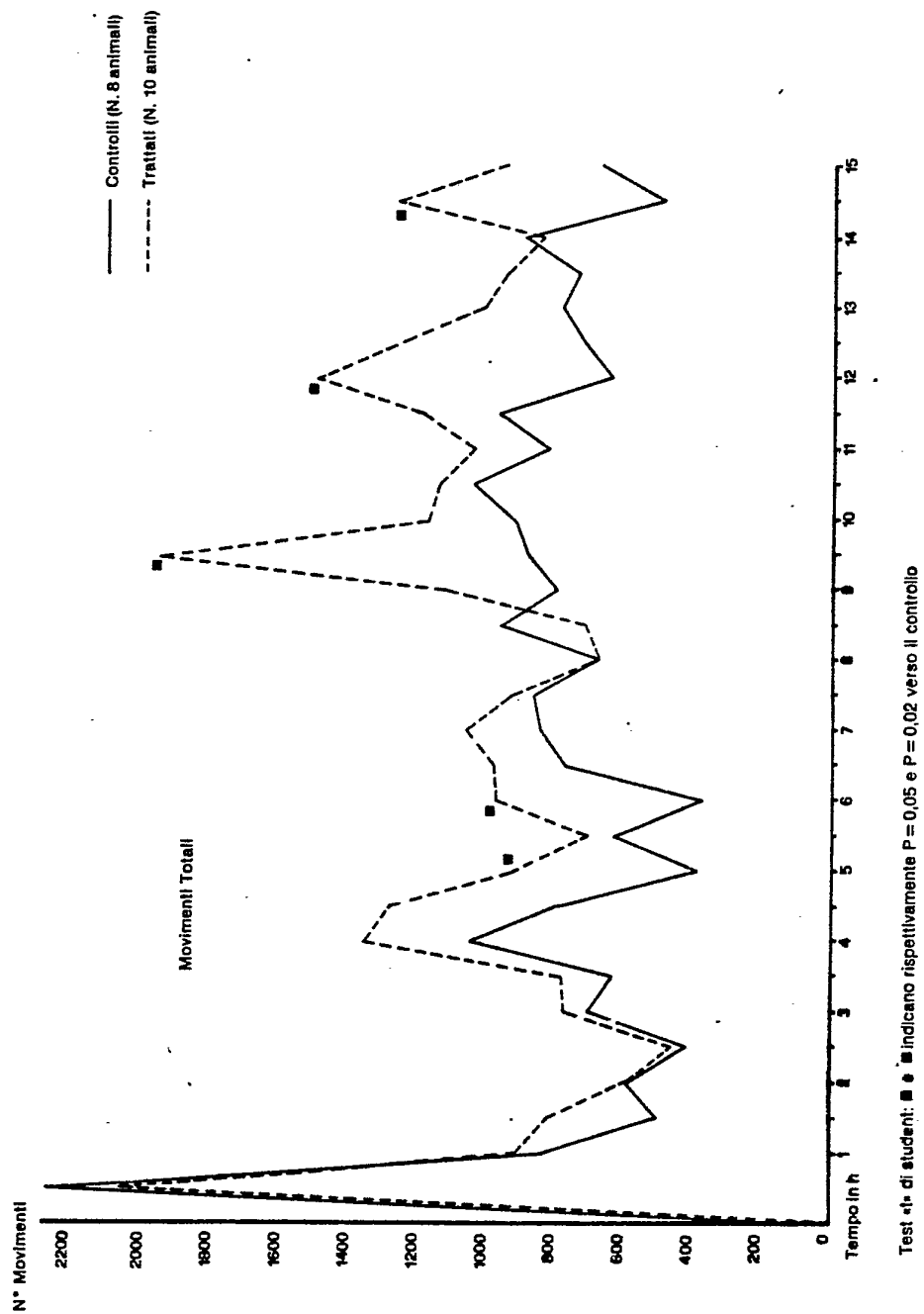
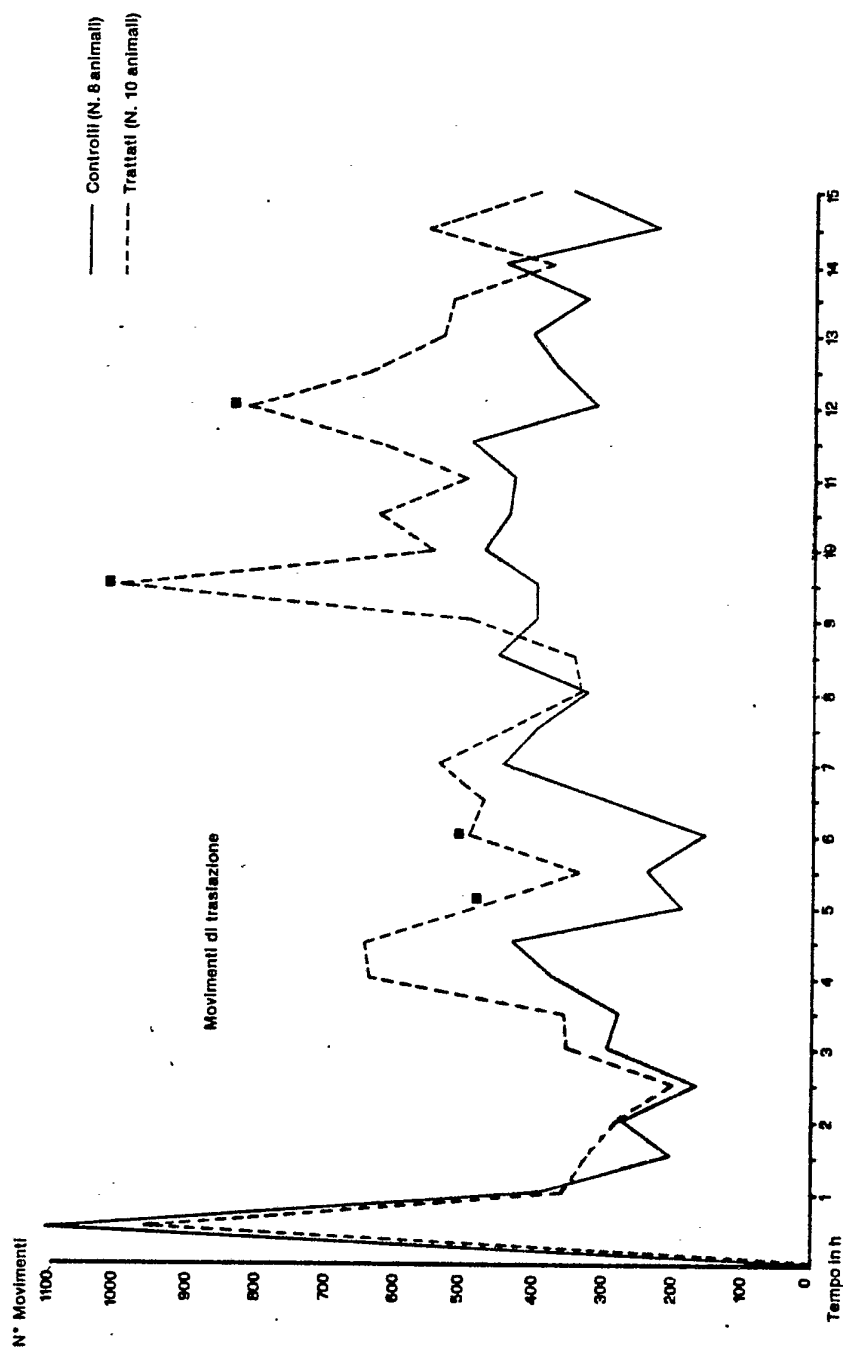


GRAFICO 2
Attività motoria registrata durante le ore notturne su ratti ♂ vecchi (25 mesi) trattati per 85 giorni con L-Carnitina 50 mg/kg/die nell'acqua da bere.



Test «t» di student: ■ e ■ indicano rispettivamente $P = 0,05$ e $P = 0,02$ verso il controllo

GRAFICO 3
Attività motoria registrata durante le ore notturne su ratti ♂ vecchi (25 mesi) trattati per 85 giorni con L-Carnitina 50 mg/kg/die nell'acqua da bere.

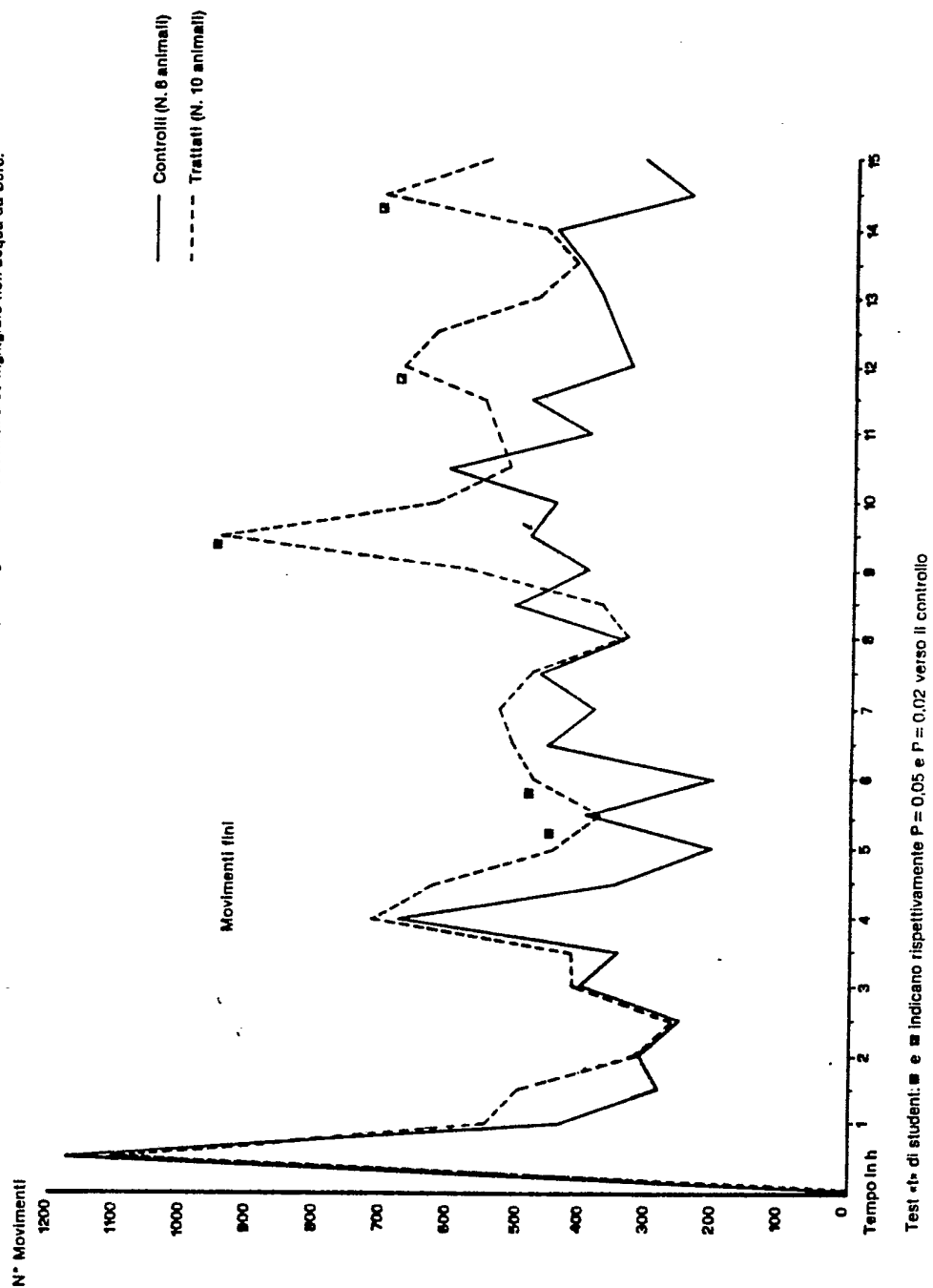


GRAFICO 4
Attività motoria registrata durante le ore notturne su ratti ♂ vecchi (25 mesi) trattati per 85 giorni con L-Carnitina 50 mg/kg/die nell'acqua da bere.

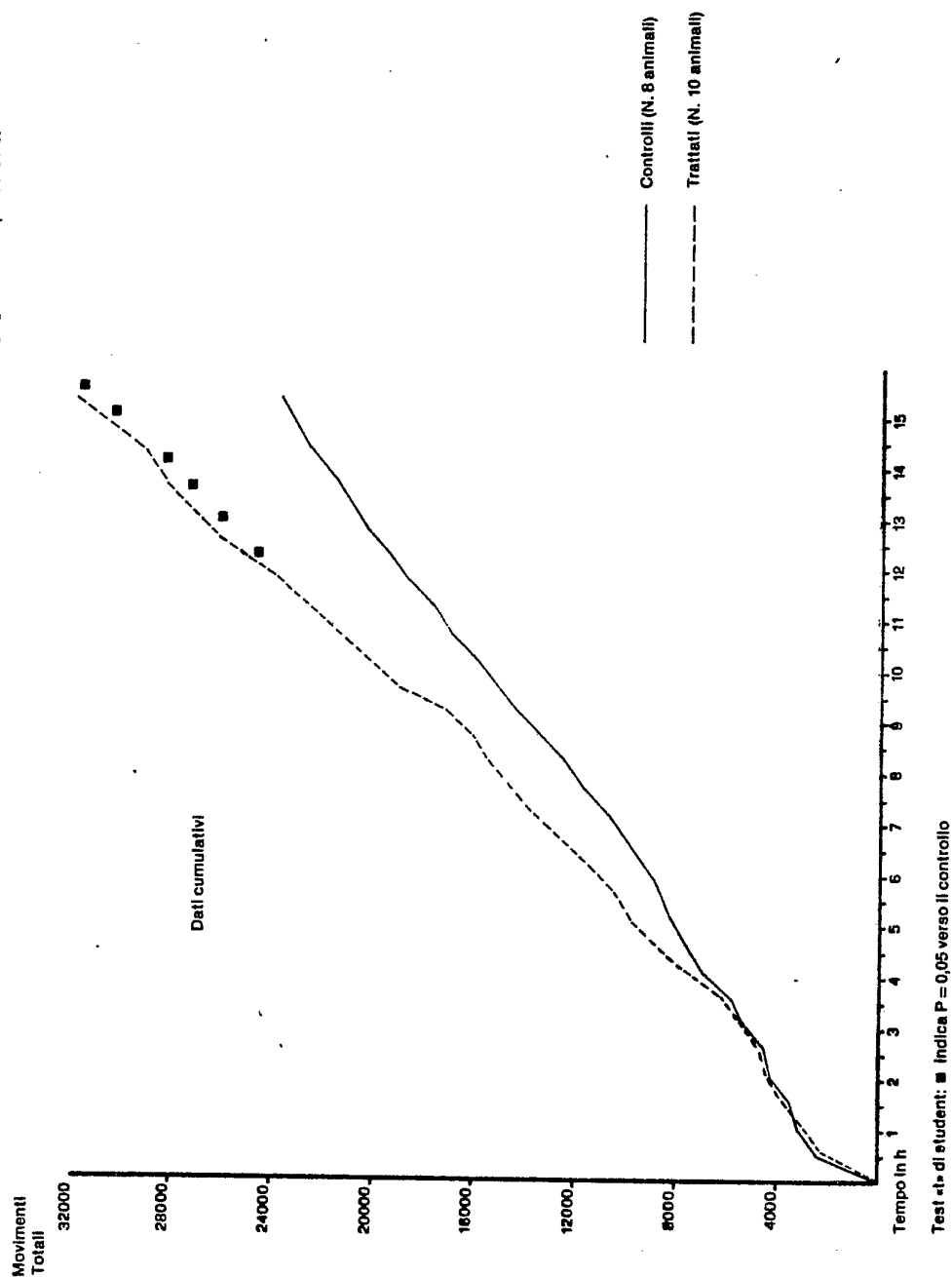


GRAFICO 5
Attività motoria registrata durante le ore notturne su ratti ♂ vecchi (25 mesi) trattati per 85 giorni con L-Carnitina 50 mg/kg/die nell'acqua da bere.

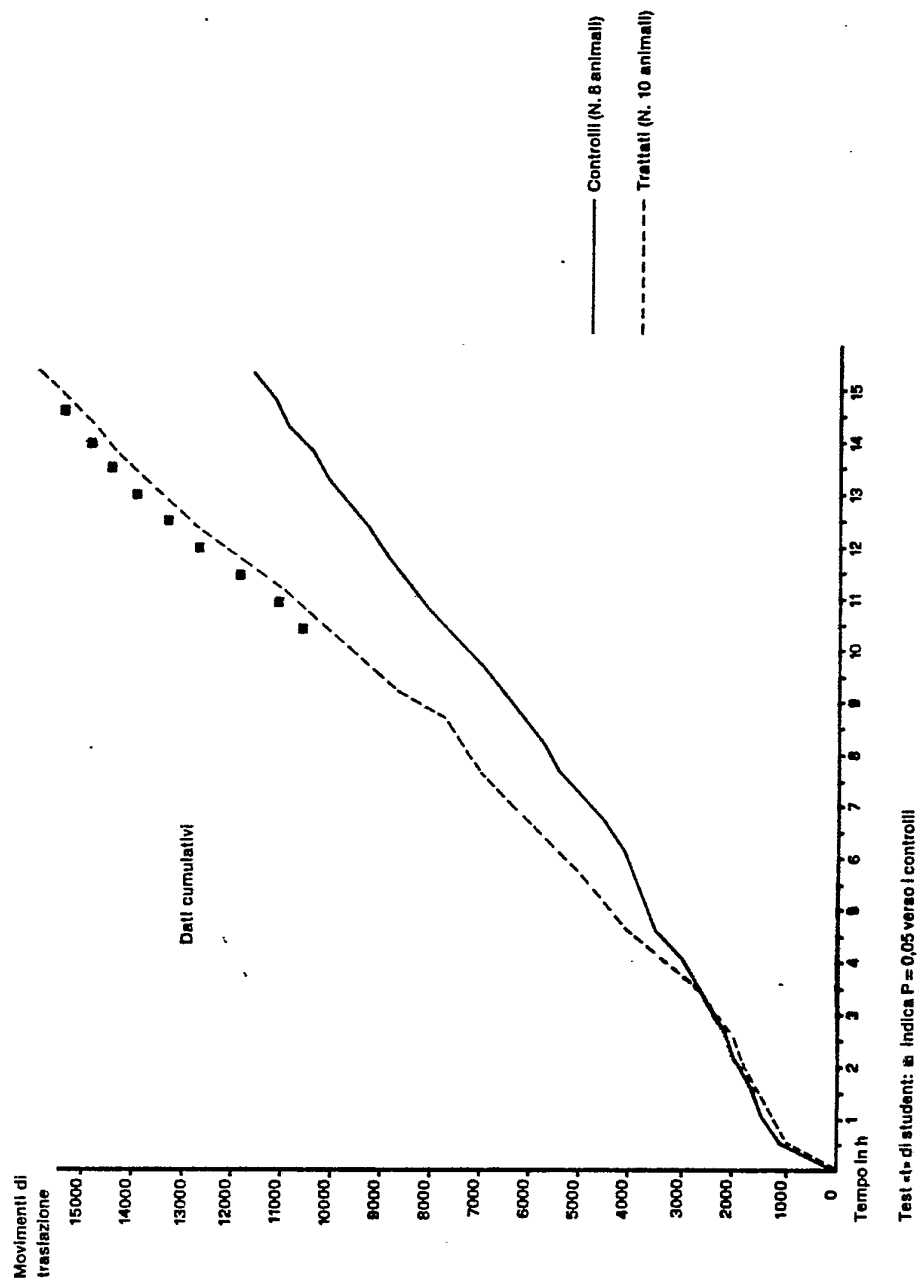


GRAFICO 8
Attività motoria registrata durante le ore notturne su ratti ♂ vecchi (25 mesi) trattati per 85 giorni con L-Carnitina 50 mg/kg/die nell'acqua da bere.

