



CONFEDERAZIONE SVIZZERA
UFFICIO FEDERALE DELLA PROPRIETÀ INTELLETTUALE

⑤ Int. Cl.³: **C 07 C 101/30**
A 61 K 37/00
A 61 K 45/00

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

⑪

640 824

⑲ Numero della domanda: 5956/79

⑦ Titolare/Titolari:
Sigma-Tau Industrie Farmaceutiche Riunite
S.p.A., Roma (IT)

⑳ Data di deposito: 26.06.1979

⑳ Priorità: 27.06.1978 IT 50065/78

⑧ Inventore/Inventori:
Paolo de Witt, Roma (IT)

㉑ Brevetto rilasciato il: 31.01.1984

㉒ Fascicolo del
brevetto pubblicato il: 31.01.1984

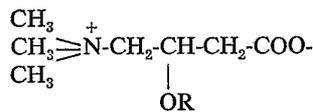
⑨ Mandatario:
A. Braun, Braun, Héritier, Eschmann AG,
Patentanwälte, Basel

⑤④ **Acil-derivati della carnitina e procedimento per la loro preparazione.**

⑤⑦ Vengono descritti nuovi acil-derivati della carnitina (tipicamente la piruvil carnitina) che sono utili agenti terapeutici nel trattamento di disturbi cardiaci, dislipidemie e iperlipoproteinemie.

RIVENDICAZIONI

1. Acil derivati della carnitina aventi formula generale:



in cui R è il radicale monovalente dei seguenti acidi organici: 3-bromo propionico, cicloesilcarbossilico, cicloesilpropionico, dietilacetico, dipropilacetico, dibutirilacetico, 4-clorobutirrico, 2-etilanoico, pivalico, cinnamico, p-metilcinnamico, p-clorocinnamico, p-metossicinnamico, fenilacetico, p-isobutilfenilacetico, p-metilfenilacetico, p-etilfenilacetico, p-cicloesilfenilacetico, p-ciclopropilfenilacetico, p-isobutil m-clorofenilacetico, α -fenilpropionico, p-isobutil α -fenilpropionico, p-metil α -fenilpropionico, p-etil α -fenilpropionico, p-cicloesil α -fenilpropionico, p-ciclopropil α -fenilpropionico, p-isobutil α -fenilpropionico, malonico (monoestere), glutarico (monoestere), adipico (monoestere) pimelico (monoestere), suberico (monoestere), azelaico (monoestere), sebacico (monoestere), piruvico, levulinico, α -chetoglutarico (monoestere) β -chetoglutarico (monoestere), fumarico (monoestere), citrico (monoestere), isocitrico (monoestere), ossalacetico, γ -acetilaminobutirrico, ϵ -acetilaminocaproico, N-acetilaspatico (monoestere), N-acetilglutamico (monoestere), N-acetil-5 amidoglutamico (monoestere), N-acetilcisteina, S, N-diacetilcisteina, N-acetil leucina, N-acetil isoleucina, N-acetil metionina, N-acetil-valina, α -metilglutarico (monoestere), α -metil- α -idrossiglutarico (monoestere), α -metilene butirrico, β -metilene butirrico, m-trifluorometilcinnamico, m-bromo-cinnamico e 2-naftalene acetico.

2. Acil derivati della carnitina secondo la rivendicazione 1 nelle loro forme otticamente attive.

3. Acil derivati della carnitina secondo la rivendicazione 1 nella loro forma racema.

4. Sale farmaceuticamente accettabile degli acil derivati secondo la rivendicazione 1.

5. Composizione farmaceutica per il trattamento di disfunzioni cardiache, iperlipoproteinemie e dislipidemie, comprendente una quantità efficace di un acil derivato della carnitina secondo la rivendicazione 1.

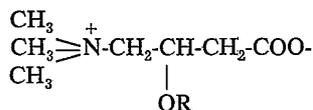
6. Procedimento per preparare gli acil derivati della carnitina secondo la rivendicazione 1, comprendente:

(1) preparare il cloruro del corrispondente acido;

(2) far reagire il cloruro dello stadio (1) con idrocloruro di carnitina in presenza di acido trifluoroacetico, ad una temperatura compresa fra circa la temperatura ambiente e circa 60°C.

La presente invenzione riguarda nuovi acil derivati della carnitina (β -idrossi γ -butirrobetaina) e un procedimento per la loro preparazione.

Più particolarmente, la presente invenzione riguarda acil derivati della carnitina aventi formula generale:



in cui R è il radicale monovalente dei seguenti acidi organici: 3-bromo propionico, cicloesilcarbossilico, cicloesilpropionico, dietilacetico, dipropilacetico, dibutirilacetico, 4-clorobutirrico, 2-etilanoico, pivalico, cinnamico, p-metilcinnamico, p-metilcinnamico, p-clorocinnamico, p-metossicinnamico, fenilacetico, p-isobutilfenilacetico, p-metilfenilacetico, p-etilfenilacetico, p-cicloesilfenilacetico, p-ciclopropilfenilacetico, p-isobutil m-clorofenilacetico, α -fenilpropionico, p-isobutil α -fenilpropionico, p-metil α -fenilpropionico, p-etil α -fenilpropionico, p-cicloesil α -fenilpropionico, p-ciclopropil α -fenilpropionico, p-isobutil α -fenilpropionico, malonico (monoestere), glutarico (monoestere), adipico (monoestere) pimelico (monoestere), suberico (monoestere), azelaico (monoestere), sebacico (monoestere), piruvico, levulinico, α -chetoglutarico (monoestere) β -chetoglutarico (monoestere), fumarico (monoestere), citrico (monoestere), isocitrico (monoestere), ossalacetico, γ -acetilaminobutirrico, ϵ -acetilaminocaproico, N-acetilaspatico (monoestere), N-acetilglutamico (monoestere), N-acetil-5 amidoglutamico (monoestere), N-acetilcisteina, S, N-diacetilcisteina, N-acetil leucina, N-acetil isoleucina, N-acetil metionina, N-acetil-valina, α -metilglutarico (monoestere), α -metil- α -idrossiglutarico (monoestere), α -metilene butirrico, β -metilene butirrico, m-trifluorometilcinnamico, m-bromo-cinnamico e 2-naftalene acetico.

mico, fenilacetico, p-isobutilfenilacetico, p-metilfenilacetico, p-etilfenilacetico, p-cicloesilfenilacetico, p-ciclopropilfenilacetico, p-isobutil m-clorofenilacetico, α -fenilpropionico, p-isobutil α -fenilpropionico, p-metil α -fenilpropionico, p-etil α -fenilpropionico, p-cicloesil α -fenilpropionico, p-ciclopropil α -fenilpropionico, p-isobutil α -fenilpropionico, malonico (monoestere), glutarico (monoestere), adipico (monoestere), pimelico (monoestere), suberico (monoestere), azelaico (monoestere), sebacico (monoestere), piruvico, levulinico, α -chetoglutarico (monoestere), β -chetoglutarico (monoestere), fumarico (monoestere), citrico (monoestere), isocitrico (monoestere), ossalacetico, γ -acetilaminobutirrico, ϵ -acetilaminocaproico, N-acetilaspatico (monoestere), N-acetilglutamico (monoestere), N-acetil-5 amidoglutamico (monoestere), N-acetilcisteina, S, N-diacetilcisteina, N-acetil leucina, N-acetil isoleucina, N-acetil metionina, N-acetil-valina, α -metilglutarico (monoestere), α -metil- α -idrossiglutarico (monoestere), α -metilene butirrico, β -metilene butirrico, m-trifluorometilcinnamico, m-bromo-cinnamico e 2-naftalene acetico.

La presente invenzione riguarda composti rispondenti alla formula (I) nella forma otticamente attiva (D oppure L) e nella forma racema (D,L) e i relativi sali farmaceuticamente accettabili otticamente attivi e no.

I composti rispondenti alla formula generale (I) infatti possono essere preparati come tali o sotto forma di sali con acidi minerali o acidi organici alifatici e aromatici mono o pluricarbossilici o con acidi solfonici o con acidi solfamici.

In genere i composti rispondenti alla formula (I) e i corrispondenti sali farmaceuticamente accettabili hanno dimostrato interessanti attività cardiotropiche, iperlipoproteine-miche e dislipidemiche.

I composti rispondenti alla formula generale (I) normalmente vengono preparati sotto forma di cloruri.

Si preferisce infatti far reagire la β -idrossi γ -butirrobetaina cloruro con i cloruri acidi dei composti riportati alla voce R.

La reazione per la preparazione di questi nuovi acilderivati avviene normalmente a temperatura compresa tra 0°C e 80°C in ambiente anidro e in presenza di un eccesso di acido trifluoroacetico. Quando il cloruro acido è solido e non facilmente solubile in acido trifluoro-acetico è possibile migliorarne la solubilità, in modo da avere un sistema omogeneo, aggiungendo una leggera quantità di solvente clorurato come cloroformio o cloruro di metilene anidro.

Bisognerà curare in modo particolare l'anidricità dell'ambiente proteggendo il sistema di reazione con tubi a CaCl_2 .

Al termine della reazione la miscela risultante viene raffreddata e in genere trattata con acetone; il solido che eventualmente si separa viene scartato, mentre viene raccolto il precipitato che si forma per aggiunta di Etere Etilico.

Il prodotto che precipita può essere purificato per cristallizzazione sempre con Etere Etilico. In genere bastano una o due cristallizzazioni per ottenere un prodotto ad elevato grado di purezza che può essere facilmente controllato per cromatografia su strato sottile usando lastre di silice ed eluenti vari come CHCl_3 -MeOH- NH_4OH conc. (50:30:8 v/v) o n BuOH-Ac. Acetico- H_2O (60:20:20 v/v).

In genere le rese di reazione variano tra il 60-85% senza tener conto dell'eventuale abbassamento che si può avere in fase di purificazione per cristallizzazione.

Per la preparazione degli acilderivati della Carnitina in cui il gruppo acile è quello derivato da un α o β -chetoacido, si preferisce prima procedere alla protezione del cheto-gruppo trasformandolo in chetale.

Il chetoacido pertanto viene prima trasformato in chetoestere e quindi in chetale facendo reagire il chetoestere con

glicole etilenico. Il chetale dell'estere è idrolizzato a chetale acido e quindi trasformato in chetale cloruro acido con cloruro di tionile. Tale chetale cloruro acido viene utilizzato nella reazione con la β -idrossi γ -butirrobetaina (Carnitina) secondo le modalità precedentemente descritte. Il gruppo protettivo del carbonile è idrolizzato nel corso della reazione, quindi il grezzo isolato è costituito dalla acil carnitina desiderata.

I seguenti esempi, oltre a riportare numerosi dati chimico-fisici dei principali prodotti riguardanti la presente invenzione, sono esplicativi del metodo di sintesi senza per questo limitare la validità dell'invenzione stessa.

Esempio 1

Dipropilacetilcarnitina cloruro

Ad una soluzione di Carnitina cloruro (3,94 g 0,02 moli) in acido trifluoro acetico (9 ml) si aggiunge il cloruro dell'acido dipropilacetico (3,25 g 0,02 moli). Si mantiene sotto agitazione a T ambiente 24 h.

Si aggiunge acetone 70 ml e si lascia sotto agitazione T = 5°C per 2 h. Si filtra la Carnitina precipitata. Alla soluzione si aggiunge ancora Etere Etileico 70 ml e si lascia sotto agitazione T = 5°C per 30'. Si filtra il solido formato. Il grezzo si cristallizza da Isopropanolo-Etere Etileico e si ottengono 4,5 g (resa 70%) P.F. 192°C.

Spettro NMR (D₂O) δ :

5,5 (m, 1H, CH); 3,8 (d, 2H, N-CH₂); 3,1 (s, 9H, N \equiv CH₃)

2,6 (d, 2H, -CH₂CO-); 2,4 (m, 1H, CH \leftarrow CH₂); 1,5 (m,

8H, -CH \leftarrow CH₂-CH₂); 0,9 (m, 6H, CH \leftarrow CH₂CH₂CH₃);

Spettro IR (nujol) ν_{CO} = 1760 cm⁻¹ (C = O estere)
 ν_{CO} = 1700 cm⁻¹ (C = O acido)

Analisi elementare

C₁₅H₃₀NO₄Cl (P.M. = 323,5)

Calc.: C 55,63% H 9,33% N 4,32% Cl 10,97%

Trov.: C 56,00% H 9,12% N 4,06% Cl 11,16%

Esempio 2

Pivaloil Carnitina cloruro

g 1,98 (0,01 moli) di Carnitina cloruro vengono solubilizzati in 3 ml di CF₃COOH, e alla soluzione si aggiunge un eccesso (7 ml) di cloruro acido e si tiene sotto agitazione a temperatura ambiente per circa 48 h. Al termine si diluisce con 20 ml di acetone e si aggiunge etere lentamente fino a completa precipitazione. Si filtra e il precipitato che tende ad essere igroscopico viene lavato rapidamente con etere ed essiccato sotto vuoto alla temperatura ~50°C. Si ottengono g 1,70 con una resa del 60% di prodotto avente le seguenti caratteristiche:

P.F. 130-35°C

Spettro IR (nujol) ν_{CO} = 1718 cm⁻¹ (C = O acido)
 ν_{CO} = 1740 cm⁻¹ (C = O estere)

Spettro NMR (D₂O) δ :

5,75 (m, 1H, -CH-); 3,85 (d, 2H, N-CH₂-); 3,30 (s, 9H,

\oplus CH₃
N \equiv CH₃; 2,90 (d, 2H, -CH₂COO); 1,20 (s, 9H, C \equiv CH₃)

5 Analisi elementare

C₁₂H₂₄O₄NCl (P.M. 281,83)

Cal.: C 51,13% H 8,60% N 4,97% Cl 12,58%

Trov.: C 50,83% H 8,90% N 3,77% Cl 12,88%

Esempio 3

Cinnamoil Carnitina Cloruro

g 4,55 (0,023 moli) di Carnitina cloruro vengono solubilizzati in 6,9 ml di CF₃COOH, e alla soluzione si aggiunge un eccesso (16 ml) di cloruro di cinnamoile e si tiene sotto agitazione alla temperatura di 40-45°C per 4-5 h. Al termine si diluisce con 60 ml di acetone e si aggiunge con etere lentamente fino a completa precipitazione. Si filtra e il precipitato che tende ad essere igroscopico viene lavato rapidamente con etere ed essiccato sotto vuoto alla temperatura \leq 50°C; si ottengono g 5,3 con una resa del 70% e avente le seguenti caratteristiche:

P.F. 207-09°C

Spettro IR (nujol) ν_{CO} = 1710 cm⁻¹ (acido)

25 ν_{CO} = 1740 cm⁻¹ (estere)

Spettro NMR (D₂O) δ :

7,65 (m, -CH = CH-); 5,95 (m, H, -CH-);

\oplus CH₃
N-CH₂-); 3,31 (s, 9H, -N \equiv CH₃); 3,05 (d, 2H, -CH₂-CO-)

35 C₁₆H₂₂ClNO₄ (P.M. 327,85)

Analisi elementare

C₁₆H₂₂ClNO₄ (P.M. 327,85)

40 Calc.: C 58,61% H 6,78% N 4,27% Cl 10,81%

Trov.: C 58,01% H 6,38% N 4,07% Cl 10,51%

Esempio 4

p-Metossi Cinnamoil Carnitina Cloruro

g 7,12 (0,035 moli) di Carnitina cloruro vengono solubilizzati in 12 ml di CF₃COOH, e alla soluzione si aggiunge un eccesso (25 ml) di cloruro di p-metossi-cinnamoile e si tiene sotto agitazione alla temperatura di 40-50°C per 4-5 h. Al termine si diluisce con 90 ml di acetone e si aggiunge etere lentamente fino a completa precipitazione. Si filtra e il precipitato che tende ad essere igroscopico viene lavato rapidamente con etere ed essiccato sotto vuoto alla temperatura 50°C; si ottengono g 9 con una resa del 70% di prodotto avente le seguenti caratteristiche:

P.F. 217-20°C

Spettro IR (nujol) ν_{CO} = 1710 cm⁻¹ (acido)
 ν_{CO} = 1740 cm⁻¹ (estere)

Spettro NMR (D₂O) δ :

7,25 (m, -CH-CH-); 6,00 (m, H, -CH-);

3,95 (d, 2H, N-CH₂-); 3,85 (s, 3H, O-CH₃); 3,31 (s, 9H, -N \equiv CH₃); 3,05 (d, 2H, -CH₂CO-)

Analisi elementare

C₁₇H₂₄O₅NCl (P.M. 357,88)

Calc.: C 57,04% H 6,77% N 3,91% Cl 9,90%

Trov.: C 57,29% H 7,02% N 3,66% Cl 9,65%

Esempio 5

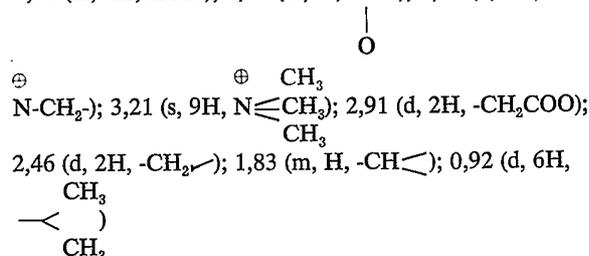
p-Isobutilfenil Acetil Carnitina Cloruro

g 5,5 (0,028 moli) di Carnitina cloruro vengono solubilizzati in 9 ml di CF₃COOH, e alla soluzione si aggiunge un eccesso (20 ml) di cloruro acido e si tiene sotto agitazione alla temperatura di 40-45°C per 4-5 h. Al termine si ripartisce con H₂O-CHCl₃, la fase organica viene scartata mentre la fase acquosa viene concentrata a pressione ridotta ad una temperatura del bagno intorno ai 50°C. Si ottiene un grezzo gelatinoso che viene cristallizzato con isopropanolo, il precipitato così ottenuto viene filtrato, lavato rapidamente con etere essendo igroscopico, ed essiccato sotto vuoto alla temperatura 50°C; si ottengono g 6,8 con una resa del 65% di prodotto avente le seguenti caratteristiche:

P.F. 130-32°C

Spettro IR (najok) vco = 1710 cm⁻¹ (acido)vco = 1730 cm⁻¹ (estere)Spettro NMR (D₂O) δ:

7,30 (m, 4H, arom.); 5,85 (m, H, -CH-); 3,82 (d, 2H,



Analisi elementare

C₁₅H₃₀ClNO₄ (P.M. 371,96)

Calc.: C 61,35% H 8,06% N 3,76% Cl 9,53%

Trov.: C 61,65% H 7,76% N 4,06% Cl 9,23%

Esempio 6

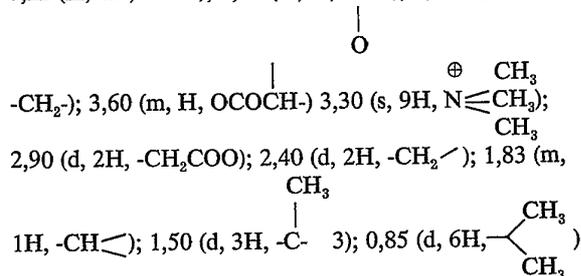
P-Isobutilfenil- α -Metil Acetil Carnitina Cloruro

g 4,95 (0,025 moli) di D,L-Carnitina cloruro vengono solubilizzati in 8 ml di CF₃COOH, e alla soluzione si aggiunge un eccesso (16 ml) di cloruro acido e si tiene sotto agitazione alla temperatura di 40-45°C per 4-5 h. Al termine si ripartisce con H₂O-CHCl₃, la fase organica viene scartata mentre la fase acquosa viene concentrata a pressione ridotta ad una temperatura da bagno di circa 50°C. Si ottiene un grezzo gelatinoso che viene cristallizzato con isopropanolo. Il precipitato così ottenuto viene filtrato, lavato rapidamente con etere in quanto igroscopico, ed essiccato sotto vuoto alla temperatura di 50°C; si ottengono g 6,3 con una resa del 65% di prodotto avente le seguenti caratteristiche:

P.F. 190-92°C

Spettro IR (najok) vco = 1710 cm⁻¹ (acido)vco = 1735 cm⁻¹ (estere)Spettro NMR (D₂O) δ:

7,22 (m, 4H, arom.); 5,77 (m, H, -CH-); 3,86 (d, 2H- N-



Analisi elementare

C₂₀H₃₂O₄NCl (P.M. 385,99)

Calc.: C 62,22% H 8,37% N 3,62% Cl 9,18%

Trov.: C 62,77% H 7,87% N 3,42% Cl 9,38%

5

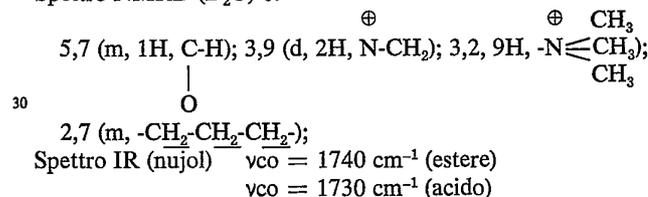
Esempio 7

Glutaril Carnitina Cloruro

3,9 g (0,02 moli) di Carnitina cloruro vengono disciolti in 6,5 ml (0,006 moli) di acido trifluoroacetico e quindi fatti reagire con 3,0 g (0,02 moli) di glutarilcloruro in un pallone munito di refrigerante a ricadere con tubo a CaCl₂ contro l'umidità munito di agitatore magnetico e in un bagno tenuto costantemente per tutto il tempo della reazione (12 h) a temperatura compresa tra 40 e 45°C.

La miscela di reazione viene trattata con 60 cc di acetone sotto buona agitazione, il poco solido che si forma viene eliminato per filtrazione. Si aggiungono quindi 130 cc di etere etilico lentamente e sotto agitazione sino ad incipiente precipitazione raffreddando in bagno a ghiaccio.

Il prodotto grezzo alquanto deliquescente che si raccoglie per filtrazione (4,7 g) viene nuovamente cristallizzato e si ottengono 4,02 g (71%) di solido avente le seguenti caratteristiche:

Spettro NMRD (D₂O) δ:

Analisi elementare

C₁₂H₂₁NO₆HCl (P.M. 311,5)

Calc.: C 46,23% H 7,06% N 4,49% Cl 11,39%

Trov.: C 45,98% H 7,05% N 4,40% Cl 11,22%

40

Esempio 8

Levulinil Carnitina cloruro

7,2 g (0,062 moli) di acido levulinico vengono esterificati con 8 ml di H₂SO₄ conc. e 200 ml di EtOH abs. L'estere etilico così ottenuto (7,0 g 0,048 moli) è trattato con 8,2 ml di glicole etilenico e 0,112 g di acido p-toluensolfonico a 170°C per 96 h in toluolo anidro. Al termine della reazione si lava la fase organica con soluzione di NaHCO₃ saturata e con H₂O quindi si essicca su Na₂SO₄ anidro. Dalla soluzione portata a secco si ottengono g 5 (55%) di chetale dell'acido levulinico etilestere. Il prodotto ottenuto viene disciolto in 40 ml di metanolo e 40 ml di Na OH 1N e mantenuto a t. a. per 2 h si ottengono 4 g di chetale dell'acido levulinico che viene trattato con 5 ml di SOCl₂ a 80°C per 4 h per preparare il cloruro acido del chetale dell'acido levulinico. Si ottengono g 5 circa di tale cloruro acido leggermente scuro che vengono addizionati a 4,5 g (0,023 moli) di carnitina cloruro disciolta in 10 ml di acido trifluoroacetico. Si tiene la miscela di reazione sotto agitazione a 50°C per una notte. Per aggiunta di 40 ml di acetone si forma un leggero precipitato che viene separato per filtrazione. Alla miscela si aggiungono quindi 138 ml di etere etilico a freddo (0°C) e si lascia sotto agitazione per una notte. Dalla soluzione si separa un prodotto bianco grezzo di g 5,4 che viene ulteriormente cristallizzato con etere etilico. Il prodotto che si ottiene (g 4,7) ha le seguenti caratteristiche:

Spettro NMR (D₂O) δ:

5,6 (m, 1H, CH); 3,9 (d, 2H, N-CH₂); 3,2 (s, 9H,



⊕ CH₃
N≡CH₃); 2,9 (d, 2H, CH₂CO); 2,7 (m, 4H, CH₂-CH₂);
CH₃

2,2 (s, 3H, COCH₃)

Spettro IR (nujol) $\nu_{\text{CO}} = 1755 \text{ cm}^{-1}$ (C = O estere)
 $\nu_{\text{CO}} = 1710 \text{ cm}^{-1}$ (C = O acido)

Analisi elementare

C₁₂H₂₁O₅N · HCl (P.M. 295,5)

Calc.: C 48,73% H 7,44% N 4,73% Cl 12,01%

Trov.: C 49,01% H 7,41% N 4,90% Cl 12,35%

Esempio 9

3-Chetoglutaryl Carnitina Cloruro

6,4 g (0,943 moli) di acido 3-chetoglutarico vengono trattati a 80°C per 4 h con 6 ml di H₂SO₄ conc. e 200 ml di Alcool etilico assoluto. L'estere etilico che si forma (6,5 g, 0,037 Moli) è messo a reagire con 9 ml di glicole etilenico e 0,120 mg di acido para-toluensolfonico a ricadere per 72 h in toluolo anidro.

La miscela di reazione è lavata con NaHCO₃ soluzione satura, con acqua e dopo essiccamento su Na₂SO₄ anidro viene concentrato a secchezza sotto vuoto. Dalla soluzione portata a secco si ottengono 4,9 g (65%) di chetale dell'acido 3-chetoglutarico etilestere. Il solido che si ottiene è disciolto in 45 ml di alcool metilico e 40 ml di NaOH 1N e mantenuto a temperatura ambiente per 2 h sotto agitazione. Si ottengono g 3,8 (0,02 moli) (90%) di chetale dell'acido 3-chetoglutarico che vengono trattati con 6 ml di cloruro di tionile a 80°C per 6 h per preparare il corrispondente cloruro acido. Il cloruro ottenuto è aggiunto lentamente a 4,2 g (0,022 moli) di carnitina cloruro disciolta in acido trifluoroacetico, la miscela è tenuta sotto agitazione per 12 h a 60°C, quindi raffreddata a 0°C e addizionata di 40 cc di acetone. Si forma un leggero intorbidamento che viene eliminato per centrifugazione. Alla soluzione centrifugata si aggiungono 130 ml di etere etilico sempre alla temperatura di 0°C. Si forma un precipitato bianco che viene nuovamente cristallizzato con Etere etilico. Si ottengono g 6,3 di prodotto avente le seguenti caratteristiche:

Spettro NMR (D₂O) δ:

5,8 (m, 1H, CH); 3,8 (d, 2H, N-CH₂); 3,3 (s, 9H,



⊕ CH₃
N≡CH₃); 2,9 (d, 2H, CH₂-CO); 2,7 (s, 4H, CH₂-CO-CH₂-)
CH₃

Spettro IR (nujol) $\nu_{\text{CO}} = 1740 \text{ cm}^{-1}$ (estere)
 $\nu_{\text{CO}} = 1718 \text{ cm}^{-1}$ (acido)

Analisi elementare

C₁₂H₂₀O₇N · HCl (P.M. 326,5)

Calc.: C 44,10% H 6,43% N 4,28% Cl 10,87%

Trov.: C 44,06% H 6,20% N 4,20% Cl 10,60%

Esempio 10

Fumaril Carnitina Cloruro

A 4,5 g (0,023 moli) di carnitina cloruro disciolti in 10 ml di acido trifluoroacetico e riscaldati a 40°C vengono aggiunti lentamente e sotto buona agitazione g 3,09 (0,023 moli) di cloruro dell'acido fumarico. Si tiene in agitazione la miscela di reazione per 12 h curando che la temperatura non

superi i 40°C e proteggendo il pallone di reazione per 12 h curando che la temperatura non superi i 40°C e proteggendo il pallone di reazione con tubo a CaCl₂. Si raffredda quindi a 0°C con bagno a ghiaccio e lentamente vengono aggiunti 5 60 cc d'iacetone. La soluzione si intorbida, viene allora centrifugata e quindi la soluzione limpida è addizionata lentamente con 120 cc di una miscela di etere etilico esano (1:1). Si ottiene un prodotto grezzo sotto forma di olio che lentamente solidifica: g 5,4. Dopo una cristallizzazione 10 sempre con miscela eteroesano (1:1) si ottengono g 4,65 di prodotto rispondente alle seguenti caratteristiche:

Spettro NMR (D₂O) δ:

6,7 (s, 2H, -CH-CH-); 5,8 (m, 1H, CH); 3,8 (d, 2H,



⊕ CH₃
N-CH₂); 3,1 (s, 9H, N≡CH₃); 2,6 (d, CH₂-CO)
CH₃

Spettro IR (nujol) $\nu_{\text{CO}} = 1730 \text{ cm}^{-1}$ (estere)
 $\nu_{\text{CO}} = 1725 \text{ cm}^{-1}$ (acido)

Analisi elementare

C₁₁H₁₈O₆N · HCl (P.M. 295,7)

Calc.: C 44,64% H 6,42% N 4,73% Cl 12,00%

Trov.: C 44,38% H 6,59% N 4,91% Cl 11,83%

Esempio 11

N-Acetil glutamil Carnitina cloruro

Si solubilizzano 4,2 g (0,021 moli) di carnitina cloruro 30 in 12 ml di acido trifluoro acetico quindi a 35°C e sotto buona agitazione si aggiungono goccia a goccia 20 cc di soluzione di cloroformio anidro in cui sono stati disciolti circa 4,36 g (0,021 moli) cloruro dell'acido N-acetil glutamico. Si lascia andare avanti la reazione per circa 14 h a 35°C 35 quindi per altre 2 h a 50°C. Si raffredda la miscela di reazione, per aggiunta di acetone (40 ml) non si ha precipitato anche raffreddando sotto 0°C. Si aggiungono allora 140 ml di etere etilico e dopo una notte a 8°C si ottengono 6,2 g prodotto solido bianco che viene cristallizzato ancora con 40 etere etilico. Dopo 2 cristallizzazioni si ottengono 5,4 g (68%) di prodotto desiderato rispondente alle seguenti caratteristiche:

Spettro NMR (D₂O) δ:

45 5,6 (m, 1H, CH); 3,8 (d, 2H, N-CH₂); 3,2 (t, 1H, CH);



⊕ CH₃
3,0 (s, 9H, N≡CH₃); 2,6 (d, 2H, CH₂CO); 2,0 (m, 7H,
50 CH₂-CH₂, CO-CH₃)

Spettro IR (nujol) $\nu_{\text{CO}} = 1745 \text{ cm}^{-1}$ (estere)
 $\nu_{\text{CO}} = 1725 \text{ cm}^{-1}$ (acido)

Analisi elementare

55 C₁₄H₂₄N₂O₇ · HCl (P.M. 367,3)

Calc.: C 45,74% H 6,53% N 7,62% Cl 9,66%

Trov.: C 45,60% H 6,41% N 7,90% Cl 9,99%

Esempio 12

N,S-diacetilcisteinilcarnitina cloruro

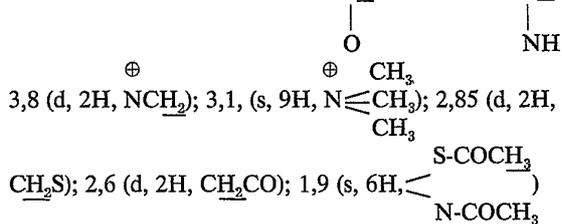
Ad una soluzione di carnitina cloruro (1,58 g 0,008 moli) in acido trifluoro acetico (5 ml) si aggiunge il cloruro acido della N,S diacetil cisteina (1,78 g 0,008 moli) in acido trifluoro acetico (8 ml). Si mantiene sotto agitazione a t. a. per 1 notte. Si aggiunge acetone (50 ml) e si lascia sotto agitazione a freddo per 4 h, si filtra la carnitina precipitata e alla soluzione si aggiunge etere etilico (50 ml).

Si lascia ancora sotto agitazione a t. a. per 1 h; precipita un solido pecioso, si separa per decantazione e si cristallizza da isopropanolo-acetone. Si ottengono 1,54 g (resa 50%).

P.F. 154-158

Spettro NMR (D_2O) δ :

8,2 (d, 2H, CONH); 5,5 (m, 1H, CH); 4,4 (m, 1H, CH);



3,8 (d, 2H, NCH₂); 3,1 (s, 9H, N≡CH₃); 2,85 (d, 2H,

CH₂S); 2,6 (d, 2H, CH₂CO); 1,9 (s, 6H, <

Spettro IR (nujol) $\nu_{CO} = 1750 \text{ cm}^{-1}$ (estere)
 $\nu_{CO} = 1710 \text{ cm}^{-1}$ (acido)

Analisi elementare

$C_{14}H_{25}N_2O_6 \cdot SCl$

Calc.: C 43,68% H 6,55% N 7,28%

Trov.: C 43,13% H 6,80% N 7,15%

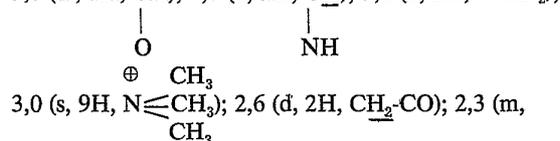
Esempio 13

N-acetilvalil Carnitina cloruro

A 2,8 g (0,014 moli) di carnitina cloruro disciolti in 8 ml di acido trifluoroacetico si aggiungono lentamente e sotto costante agitazione 2,48 g (0,014 moli) di acetilvalina cloruro, preparata facendo reagire sull'acetilvalina un eccesso di cloruro di tionile. Si lascia la miscela a reagire per una notte sotto buona agitazione e in bagno termostatico a 40°C proteggendo bene dall'umidità con tubo a $CaCl_2$. Il leggero precipitato che si ottiene per aggiunta di 40 ml di acetone viene separato per filtrazione. La miscela residua viene quindi addizionata di 120 ml di etere etilico. Dopo 4 h a 0°C si ottengono 3,46 g di prodotto solido grezzo, igroscopico che per successiva cristallizzazione si riduce a g 3,12 (63%) avente le seguenti caratteristiche:

Spettro NMR (D_2O) δ :

5,6 (m, 1H, CH); 4,0 (d, 1H, CH); 3,8 (d, 2H, N-CH₂);



3,0 (s, 9H, N≡CH₃); 2,6 (d, 2H, CH₂-CO); 2,3 (m,

CH<); 2,0 (s, 3H, COCH₃); 1,1 (s, 3H, CH₃); 1,0 (s, 3H, CH₃)

Spettro IR (nujol) $\nu_{CO} = 1740 \text{ cm}^{-1}$ (estere)
 $\nu_{CO} = 1718 \text{ cm}^{-1}$ (acido)

Analisi elementare

$C_{14}H_{27}N_2O_6 \cdot HCl$ (P.M. 354,85)

Calc.: C 47,21% H 7,87% N 6,74% Cl 9,97%

Trov.: C 46,92% H 7,63% N 6,71% Cl 9,83%

Esempio 14

Piruvil Carnitina cloruro

Il composto del titolo viene preparato secondo i due seguenti procedimenti:

procedimento (a): secondo questo procedimento si ottiene dapprima il cloruro dell'acido piruvico che viene quindi fatto reagire con il cloruro di carnitina.

Ad una miscela di carbonato sodico anidro (10,6 g; 0,1 moli), dimetilformammide anidra (0,1 ml) e acido piruvico (13,9 ml; 0,2 moli) in etere etilico anidro (125 ml) mantenuto a 0°C, si aggiunge goccia a goccia cloruro di ossallile

diluito in 25 ml di etere anidro in una quantità equimolare rispetto all'acido piruvico (17,1 ml; 0,2 moli). La miscela risultante viene lasciata stare sotto agitazione per 24 h. La miscela di reazione viene quindi filtrata, il filtrato è distillato, raccogliendo la frazione che distilla a 53°C/126 torr. Resa: 20%.

Alternativamente, il cloruro dell'acido piruvico viene anche preparato aggiungendo goccia a goccia sotto agitazione a temperatura ambiente a dell'acido piruvico (7 ml; circa 0,1 moli) del metil-dicloro metil etere (9 ml; circa 0,1 moli). Alla fine dell'aggiunta, la miscela di reazione viene riscaldata fino a 50°C e mantenuta a questa temperatura per 30'. La miscela viene quindi distillata, raccogliendo la frazione che distilla a 53°C/126 torr.

Il cloruro di piruvile ottenuto con uno qualsiasi dei metodi precedenti viene aggiunto ad una soluzione di cloruro di carnitina (10 g) disciolto in acido trifluoroacetico (25 ml). La miscela risultante viene lasciata stare a 40°C per tutta la notte. La miscela viene quindi raffreddata con ghiaccio e 40 ml di acetone vengono aggiunti ad essa. Dopo 2 h il precipitato viene allontanato per filtrazione.

Al filtrato si aggiungono goccia a goccia 100 ml di etil etere, così ottenendo un olio. Questo olio viene purificato disciogliendolo con una miscela 5:1 di EtOH/acetone e aggiungendo etere etilico che provoca a formazione di un precipitato, che all'analisi risulta essere il composto del titolo.

$C_{10}H_{18}ClNO_5$ P.M. 267,71
Analisi elementare C = 44,87%; H = 6,78%;
N = 5,23%; Cl = 13,24%
Spettro NMR: (D_2O) 5,6 (m, 1H, CH₂-CH-CH₂)
3,8 (d, 2H, N-CH₂)
3,3 (s, 9H, N [CH₃]₃)
2,8 (d, 2H, -CH₂-CO-)
2,1 (s, 3H, CH₃)

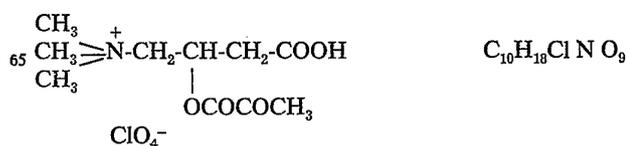
Procedimento (b): secondo questo procedimento si ottiene dapprima l'anidride mista dell'acido piruvico che viene quindi fatta reagire con perclorato di carnitina, così ottenendo il composto del titolo (isolato sotto forma di piruvil carnitina perclorato).

Acido piruvico (8,8 g; 0,1 moli) viene disciolto in 100 ml di acetonitrile, e delle quantità equimolari (relativamente all'acido piruvico) di trietilamina (10,1 g; 0,1 moli) e di etil-oppure isobutilcloroformiato (0,1 moli) vengono aggiunte ad una temperatura compresa fra -10°C e 0°C.

La risultante miscela di reazione viene mantenuta a 0°C per 1 h; il cloruro di trietilamina viene allontanato per filtrazione e il filtrato contenente l'anidride mista viene aggiunto ad una soluzione di perclorato di carnitina preparata come segue: cloruro di carnitina (10 g) viene sospeso in CH₃CN (150 ml) e del perclorato d'argento (12 g) viene aggiunto alla sospensione. La miscela viene lasciata stare al buio sotto agitazione per circa 30' e quindi il cloruro di argento precipitato viene allontanato per filtrazione.

La miscela di reazione viene mantenuta a 40°C per tutta la notte.

La miscela viene quindi raffreddata e filtrata. Al filtrato si aggiunge etere etilico, così ottenendosi un olio che viene purificato disciogliendolo in EtOH/acetone (5:1) e per ulteriore precipitazione con etere. Si ottiene il seguente composto:



Analisi elementare:

C 36,21% H 5,47% Cl 10,69% N 4,22%

Peso molecolare: 331,7

NMR: identico a quello del composto ottenuto col procedimento (a).

Applicazioni terapeutiche degli acil-derivati di formula (I)

La tolleranza delle acil-carnitine di formula (I) somministrate intraperitonealmente è stata investigata nel topo usando il metodo di Weil (1). Come indicato dai valori LD₅₀ in tabella 1, tutti i derivati della carnitina mostrano buona tollerabilità.

È stato inoltre studiato nel modo seguente l'effetto cardiocinetico sul cuore isolato. Dei cuori isolati con il metodo di Langendorff vennero perfusi con soluzione di Ringer ossigenata a 38,2°C. Le contrazioni isometriche, l'elettrocardiogramma e il flusso coronarico vennero registrati usando un poligrafo «Battaglia-Rangoni». Escludendo l'ossigeno dal fluido di perfusione venne indotto un danno metabolico nel muscolo cardiaco, fino a raggiungere la riduzione dell'80% della forza contrattile cardiaca.

In queste condizioni di anossia prolungata la glicolisi aerobica del miocardio viene rallentata, con la conseguente formazione di cataboliti acidi dovuta all'accumulo di acido piruvico e alla sua conversione in acido lattico che non può venir utilizzato a causa dell'abbassamento degli enzimi piridinici, quali ad esempio la LDH (lattodeidrogenasi). Ciò ha una ripercussione sulla glicolisi anaerobica influenzante un numero sempre crescente di enzimi, cui si accompagna un progressivo e crescentemente critico esaurimento del miocardio. Si verifica pertanto una serie di affaticamenti del miocardio che può venir rilevata dal comportamento dei parametri esaminati, cioè la forza contrattile, il flusso coronarico, il battito cardiaco e il ritmo cardiaco. Non appena la forza contrattile risultava ridotta dell'80%, il fluido di perfusione veniva nuovamente ossigenato senza aggiungere altri composti (controlli) oppure con l'aggiunta dei composti in esame.

La tabella 2 che segue fornisce i valori percentuali della forza contrattile del cuore, illustrando un effetto inotropo positivo, calcolato dopo 10 minuti dall'interruzione del periodo anossico (ripristino miocardico).

I risultati, valutati per mezzo del test «t» di Student, mostrano che in corrispondenza di uguali concentrazioni nel fluido di perfusione, il trifluorometilcinnamoil, cinnamoil, pivaloil, bromopropionil, dipropilacetil e piruvil derivato inducono un effetto inotropo positivo maggiore di quello degli altri composti in esame, con differenze statisticamente significative quando confrontate ai controlli.

È stato inoltre investigato l'effetto vasodilatatore coronarico con i risultati descritti in seguito. Tutti i composti di formula (I) in esame provocano, in confronto ai controlli, un piccolo aumento statisticamente non significativo nel flusso coronarico.

È stato esaminato l'effetto cronotropo, e tutti i composti di formula (I) in esame non modificarono in maniera significativa il battito cardiaco relativamente ai controlli.

È stato inoltre investigato l'effetto antiaritmico e si è trovato che usando il metodo del ventricolo di ratto isolato descritto da M. Libonati e G. Segre (2), fra i composti di formula (I) in esame, il piruvil, trifluorometil cinnamoil, pivaloil, clorobutil e dipropilacetil-derivato risultano particolarmente utili in quanto possiedono le proprietà antiaritmiche più nette. Questi risultati sono illustrati nella tabella 3 che segue.

L'effetto antiaritmico dei composti è stato inoltre investigato nel topo secondo la procedura di P.W. Nwangwu, e T. Holcslow (4). Impiegando aconitina (5 γ/ml) come

agente che induce le aritmie, vennero registrate le modificazioni nel ritmo cardiaco degli animali e l'istante di insorgenza dell'aritmia iniziale e/o della tachicardia ventricolare venne impiegata quale punto finale.

5 Gli agenti antiaritmici esibiscono un aumento nel tempo di latenza della variazione elettrocardiografica iniziale.

I risultati riportati in tabella IV mostrano che i composti sono dotati di attività antiaritmica che è marcatamente esibita dal dipropil-acetil, cicloesilpropionil, trifluorometil cinnamoil, metossicinnamoil e piruvil derivato.

È stato inoltre investigato l'effetto antagonizzante alla tossicità indotta da adrenalina, conseguendo i seguenti risultati. Gruppi di dieci topi maschi albi Swiss vennero iniettati con adrenalina (tartrato) per via intraperitoneale con dosaggi progressivi a scala logaritmica. Altri gruppi analoghi di animali furono iniettati con 150 mg/Kg dei composti in esame per la stessa via, 30 minuti prima della somministrazione di adrenalina. La mortalità venne valutata per mezzo del metodo di Litchfield e Wilcoxon (3) 36 ore dopo la somministrazione di adrenalina.

Questi risultati sono illustrati nella tabella V che segue.

Pertanto, tutti i composti precedentemente menzionati e i loro sali farmaceuticamente accettabili sono quelli maggiormente preferiti nella terapia dei disturbi cardiaci di tipo anossico, ischemico, aritmico e cardiattossico, così come in quei casi in cui aumentano i requisiti energetici del cuore.

L'effetto dislipidemico di alcuni acil derivati di formula (I) è stato studiato in due differenti condizioni sperimentali.

In ratti a digiuno da 17 ore, i livelli plasmatici degli acidi grassi liberi vennero ridotti mediante un'unica somministrazione I.P. con 500 mg Kg⁻¹ di d,l dipropil ACAR; 30 I dipropil ACAR (ACAR = acetilcarnitina); d,l esanoil CAR (CAR = carnitina) e d,l piruvil CAR.

La diminuzione, in confronto agli animali non trattati, fu del -35%, -29%, -41% e -65% rispettivamente.

Nei ratti, l'assetto lipoproteico alterato mediante somministrazione d'olio effettuata con sondino, venne ripristinato dopo un unico trattamento con d,l dipropil ACAR; d,l etilesanoil CAR; d,l 3 bromopropionil CAR e d,l piruvil CAR. L'effetto maggiormente marcato, esibito dall'aumento delle HDL (frazione lipoproteica ad alta densità) e dalla diminuzione delle LDL e VLDL (frazioni ipoproteiche a bassa densità e a densità molto bassa) venne mostrato dal d,l piruvil derivato che risultò attivo nei confronti dei livelli plasmatici di trigliceridi e di colesterolo che erano aumentati dopo la somministrazione di olio.

I risultati sono illustrati in tabella VI.

Preparazioni farmaceutiche

1. Soluzioni e soluzioni acquose sterili contenenti acil-carnitine in concentrazioni da 25 mg a 500 mg per ml.

a) L'eccipiente per ampole/fiale iniettabili viene preparato in accordo alla seguente composizione non limitativa:

55	sodio carbossimetil cellulosa (a bassa viscosità)	10 mg/ml
	polisorbato 80	4 mg/ml
	propilparaben	0,4 mg/ml
60	acqua per iniezioni sufficiente per ampole/fiale da 1 ml, 2 ml, 5 ml e 10 ml	

b) L'eccipiente per bottiglie da fleboclisi contenenti 50 ml, 100 ml, 250 ml, 500 ml e 1000 ml viene preparato in accordo alla seguente composizione non limitativa:

65	NaCl	8,6 g/l
	KCl	0,3 g/l
	CaCl ₂	0,33 g/l
	acqua per iniezioni quanto basta a 1 litro	

c) L'eccepiante per bottiglie per uso orale contenenti da 5 ml a 100 ml viene preparato in accordo alla seguente composizione non limitativa:

Mannitolo	11 mg/ml
Sorbitolo	600 mg/ml
Sodio benzoato	3 mg/ml
Estratto d'arancia	200 mg/ml
Vitamina B ₁₂	3 mcg/ml
sufficiente acqua pura	

2. Pastiglie contenenti da 20 mg a 500 mg di acilcarnitina. L'eccepiante venne preparato in accordo alla seguente composizione non limitativa:

Amido	45%
Avicel	45%
Talco	10%

3. Capsule contenenti da 20 mg a 500 mg di acilcarnitina senza eccepianti.

4. Aerosol e spray da 500 mg a 10 g di acilcarnitina. L'eccepiante viene preparato in accordo alla seguente composizione non limitativa:

Etanolo	30%
Acqua pura	30%
Sufficiente freon 12/114 (50 parti/50 parti)	

Metodi di prova

- (1) Weil C.S., *Biometr. J.* 8, 249, 1952
- (2) M. Libonati e G. Segre, *Archivio Italiano di Scienze Farmacologiche. Serie XIII, Vol. X, pag. 3, (1960)*
- (3) Litchfield S.I., Wilcoxon F., *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 96, 99, (1949)
- (4) P.W. Nwangwu, T.L. Holcslow, *Arch. Int. Pharmacodyn.* 229, 219 (1977).

TABELLA I

LD₅₀, mg kg⁻¹ i.p. nel topo, di alcuni derivati dell'acile di formula (I).

⁵ Metodo di Weil (N = 5n K = 4)

Derivati		LD ₅₀ e limiti fiduciali mg kg ⁻¹ i.p.
10 d,l dietile	ACAR	1200 (900-1500)
d,l dipropile	ACAR	1700 (1450-1950)
l dipropile	ACAR	294 (242-357)
15 d dipropile	ACAR	1600 (1840-1360)
d,l 3-Br-propionile	CAR	950 (780-1120)
l 3-Br-propionile	»	960 (775-1125)
20 d,l 4-Cl-butirile	»	850 (690-1010)
d,l pivaloile	»	855 (745-965)
l pivaloile	»	618 (232-720)
25 d,l cicloesile	»	850 (690-1010)
d,l cicloesilpropile	»	955 (775-1125)
d,l 2-etile esanoile	»	950 (770-1120)
30 d,l cinnamoile	»	1120 (980-1260)
d,l p-metilcinnamoile	»	620 (550-690)
d,l trifluorometilcinnamoile	»	845 (785-910)
35 l trifluorometilcinnamoile	»	540 (500-580)
d,l p-clorocinnamoile	»	935 (870-995)
40 d,l p-metossicinnamoile	»	440 (400-480)
d,l m-bromocinnamoile	»	650 (590-710)
45 d,l naftalene	ACAR	880 (750-1010)
d,l p-isobutil fenile	ACAR	378 (293-489)
d,l piruvile	CAR	3900 (3250-4450)

50

55

60

65

TABELLA II

Effetto di alcuni derivati dell'acido di formula (I) sulla forza contrattile del cuore di coniglio.

(Dettagli sono dati nella prossima)

Derivati	Concentrazione g l ⁻¹		Forza contrattile media ± SEM	P
Soluzione di Krebs (controllo)			27,45 ± 5,28	
d,l dietile	ACAR	1 10 ⁻⁵	49,25	≤ 0,05
d,l dipropile	ACAR	»	70,12	≤ 0,01
l, dipropile	ACAR	»	55,46	≤ 0,05
d dipropile	ACAR	»	45,34	≤ 0,05
d,l 3-Br-propionile	CAR	»	65,64	≤ 0,01
l 3-Br-propionile	»	»	70,26	≤ 0,01
d,l 4-Cl-butirile	»	»	40,12	n.s.
d,l pivaloile	»	»	65,15	< 0,05
l pivaloile	»	»	68,26	< 0,01
d,l cicloesile	»	»	40,42	n.s.
d,l cicloesilpropionile	»	»	54,23	n.s.
d,l 2-etile esanoile	»	»	23,12	n.s.
d,l cinnamoile	»	»	60,65	≤ 0,01
d,l p-metilcinnamoile	»	»	44,16	n.s.
d,l trifluorometilcinnaboile	»	»	84,26	≤ 0,001
l trifluorometilcinnamoile	»	»	51,12	≤ 0,01
d,l p-clorocinnamoile	»	»	46,14	≤ 0,05
d,l p-metossicinnamoile	»	»	40,26	n.s.
d,l m-bromocinnamoile	»	»	50,14	n.s.
d,l naftalene	ACAR	»	63,48	≤ 0,01
d,l p-isobutil fenile	ACAR	»	57,57	≤ 0,05
d,l, piruvile	CAR	»	88,61	≤ 0,001

TABELLA III

Effetto antiaritmico di alcuni acil derivati (concentrazione 1 · 10⁻⁶M) di formula (I) nel test su striscia di ventricolo di ratto. Variazione % relativ. al valore basale.

Derivati		Frequenza massima (- %)	Periodo refrattario (+ %)	Eccitabili- tà completa (- %)	Reobase (+ %)
Chinidina		72,45	57,43	191,15	51,23
d,l dietile	ACAR	25,15	31,17	27,48	20,61
d,l dipropile	ACAR	23,18	34,26	50,65	24,19
l dipropile	ACAR	25,29	39,12	58,25	55,12
d dipropile	ACAR	22,45	38,26	25,48	21,71
d,l 3-Br-propionile	CAR	17,29	40,25	39,68	26,15
l 3-Br-propionile	»	50,45	45,12	60,25	42,38

TABELLA III (continuazione)

Derivati		Frequenza massima (- %)	Periodo refrattario (+ %)	Eccitabilità completa (- %)	Reobase (+ %)
d,l 4-Cl-butirile	»	60,25	38,26	55,12	35,24
d,l pivaloile	»	58,36	40,65	65,48	40,25
l pivaloile	»	60,41	38,27	48,12	35,14
d,l cicloesile	»	22,12	15,78	26,45	18,23
d,l cicloesilepropionile	»	45,26	12,42	25,46	22,45
d,l 2-etile esanoile	»	25,50	22,84	40,26	21,78
d,l cinnamoile	»	29,75	40,12	75,28	49,56
d,l p-metilcinnamoile	»	38,64	45,26	71,12	32,44
d,l trifluorometilcinnamoile	»	41,26	25,74	24,32	19,47
l trifluorometilcinnamoile	»	32,71	40,12	60,48	39,19
d,l p-clorocinnamoile	»	25,12	22,34	22,17	20,45
d,l p-metossicinnamoile	»	22,17	36,14	31,46	22,24
d,l m-bromocinnamoile	»	28,51	45,16	50,43	38,12
d,l naftalene	ACAR	41,17	39,28	40,15	41,18
d,l p-isobutil fenile	ACAR	38,25	22,47	35,16	22,18
d,l piruvile	CAR	80,15	50,17	95,46	48,18

TABELLA IV

Effetto di alcuni derivati di formula (I) sull'aritmia indotta da Aconitina (5 γ /ml). % di aumento del tempo di insorgenza dell'aritmia cardiaca iniziale conferita al gruppo di controllo.

Derivati	Concentrazione mg Kg ⁻¹ i.v.	Tempo di latenza: aumento % dei controlli Aritmie Tachicardia	
Chinidina	89	50	41,7
d,l dietile	ACAR 300	25	32
d,l dipropile	ACAR 150	65	55
l dipropile	ACAR 40	60	40
d dipropile	ACAR 40	50	30
d,l 3-Br-propionile	CAR 150	20	10
l 3-Br-propionile	» 150	25	12
d,l 4-Cl-butirile	» 300	20	10
d,l pivaloile	» 300	20	10
l pivaloile	» 300	25	15
d,l cicloesile	» 300	50	38
d,l cicloesilepropionile	» 150	70	55

TABELLA IV (continuazione)

Derivati	Concentrazione mg Kg ⁻¹ i.v.	Tempo di latenza: aumento % dei controlli Aritmie Tachicardia	
d,l 2-etile esanoile	» 300	20	10
d,l cinnamoile	» 150	20	8
d,l p-metilcinnamoile	» 150	20	9
d,l trifluorometilcinnamoile	» 40	50	30
l trifluorometilcinnamoile	» 40	60	45
d,l p-cloricinnamoile	» 300	25	10
d,l p-metossicinnamoile	» 150	70	56
d,l m-bromocinnamoile	» 150	40	28
d,l naftalene	ACAR 75	25	10
d,l p-isobutil fenile	ACAR 300	20	10
d,l piruvile	CAR 40	80	60

TABELLA V

Effetto di alcuni sali derivati di formula (I) sull'effetto cardiottossico indotto dall'Adrenalina nel topo.

Derivati			LD ₅₀ e limiti fiduciali mg/Kg ⁻¹ e.v.
Salino		+ Adrenalina	5,50 (4,35-6,15)
d,l dietile	ACAR	»	10,26 (8,12-12,40)
d,l dipropile	ACAR	»	12,58 (9,47-15,69)
l dipropile	ACAR	»	11,25 (8,45-14,00)
d dipropile	ACAR		9,48 (6,12-12,84)
d,l 3-Br-propionile	CAR		10,12 (8,45-11,89)
l 3-Br-propionile	»		15,27 (11,12-19,42)
d,l 4-Cl-butirile	»		14,83 (12,58-17,08)
d,l pivaloile	»		5,48 (4,35-6,61)
l pivaloile	»		5,25 (4,14-6,36)
d,l cicloesile	»		10,24 (8,12-12,36)
d,l cicloesilepropionile	»		11,23 (9,05-13,41)
d,l 2-etile esanoile	»		7,14 (4,89-9,39)
d,l cinnamoile	»		6,34 (5,02-7,66)
d,l p-metilcinnamoile	»		6,88 (5,24-8,52)
d,l trifluorometilcinnamoile	»		7,12 (5,98-8,26)
l trifluorometilcinnamoile	»		7,28 (5,44-9,12)
d,l p-cloricinnamoile	»		10,15 (8,32-12,08)
d,l p-metossicinnamoile	»		6,84 (5,12-8,56)
d,l m-bromocinnamoile	»		7,18 (5,28-9,08)
d,l naftalene	ACAR		7,43 (5,14-9,72)
d,l p-isobutil fenile	ACAR		8,75 (6,45-11,05)
d,l piruvile	CAR		14,07 (11,12-17,02)

TABELLA VI

Effetto di alcuni derivati di formula (I) su colesterolo, trigliceridi e lipoproteine plasmatiche nel ratto trattato con olio di oliva, 15 ml Kg⁻¹ orale. Valori medi \pm SEM

	Derivati mg Kg ⁻¹ ip	trigliceridi mg/100 ml	colesterolo mg/100 ml	HDL	Lipoproteine %		LDL
					VLDL	LDL	
animali normali	nessuno	78,16 \pm 6,40 \blacktriangle	68,22 \pm 3,20 \blacktriangle	35,79 \pm 2,63	10,23 \pm 1,19 Δ		49,12 \pm 2,71 Δ
gruppo controllo	nessuno	213,66 \pm 28,68	88,33 \pm 2,96	24,18 \pm 2,15	15,84 \pm 1,53		57,38 \pm 2,25
	d,l dipropyl ACAR	121,50 \pm 11,13 \square	75,15 \pm 3,11 \square	28,13 \pm 3,27 ns	13,26 \pm 2,03 ns		50,12 \pm 2,08 Δ
animali trattati	d,l diethyl exanoyl CAR	178,15 \pm 12,45 ns	79,10 \pm 3,84 ns	28,37 \pm 2,98 ns	13,88 \pm 1,63 ns		52,14 \pm 2,95
	d,l β -Br-propionyl CAR	123,48 \pm 12,16 \square	76,18 \pm 3,02 \square	30,45 \pm 2,87 \square	11,22 \pm 1,22 ns		51,26 \pm 2,49 Δ
	d,l pyruvyl CAR	85,14 \pm 7,22 \blacktriangle	70,26 \pm 2,74 \blacktriangle	33,26 \pm 2,17 \blacktriangle	10,15 \pm 1,03 \blacktriangle		50,15 \pm 2,33 \blacktriangle

test «t» di \square , Δ e \blacktriangle indicano rispettivamente una differenza non significativa $P \leq 1\%$ and 1% N = 8 student