



CONFEDERAZIONE SVIZZERA
UFFICIO FEDERALE DELLA PROPRIETÀ INTELLETTUALE

① CH 661 438 A5

⑤ Int. Cl.: A 61 K 31/685
A 61 K 31/125

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: 1774/84

⑦ Titolare/Titolari:
Seuref AG, Vaduz (LI)

㉑ Data di deposito: 09.04.1984

⑦ Inventore/Inventori:
Bertelli, Alberto, Milano (IT)

㉒ Brevetto rilasciato il: 31.07.1987

④ Fascicolo del
brevetto pubblicato il: 31.07.1987

⑦ Mandatario:
Dipl.-Ing. W. Steudtner, Hegnau, Volketswil

⑤ **Composizioni farmaceutiche ad azione antianossica e metabolica cerebrale.**

⑤ La presente invenzione riguarda nuove composizioni farmaceutiche contenenti Ubiquinone ed in particolare il Coenzima Q₁₀ e miscele di fosfolipidi di origine organica o vegetale in rapporti ponderali compresi fra 1/1 e 1/100.000 assieme ad eccipienti farmaceuticamente accettabili.

Le composizioni farmaceutiche indicate sono adatte per il trattamento degli stati morbosi correlati a scarsa irrorazione vasale cerebrale, ad aterosclerosi o disordini enzimatici che comportano stati di deficit metabolici mentali, affaticamento ed in genere a reazioni di tipo postanossico. La composizione farmaceutica in oggetto permette un miglior assorbimento del Coenzima Q e la sua somministrazione parenterale.

RIVENDICAZIONI

1. Composizione farmaceutica ad attività enzimatica e metabolica caratterizzata dal fatto che contiene un coenzima ubiquinonico e uno o più composti di tipo fosfolipidico di origine animale, vegetale, sintetica e semisintetica.

2. Composizione farmaceutica secondo la rivendicazione 1 caratterizzata dal fatto che il coenzima ubiquinonico è della serie a corta o lunga catena isoprenica.

3. Composizione farmaceutica secondo le rivendicazioni 1-2, caratterizzata dal fatto che il coenzima ubiquinonico è il Coenzima Q₁₀.

4. Composizione farmaceutica secondo le rivendicazioni 1, 2 o 3 caratterizzata dal fatto che i composti di tipo fosfolipidico sono scelti fra lecitina e suoi derivanti, fosfatidilcolina, fosfatidilserina, fosfatidiletanolamina, fosfatidilinositolo, acido fosfatidico, difosfoinositide, lisolecitina, dipalmitilfosfatidilcolina, colinaglicerofosfolipide, lisocefalina, fosfonolipidi, fosfatidilglicerolo e glicerofosfolipidi.

5. Composizione farmaceutica secondo le rivendicazioni 1-4 caratterizzata dal fatto che il rapporto ponderale fra i lipidi e fosfolipidi singoli o associati e il derivato coenzimatico ubiquinonico è compreso fra 10 e 10 000.

6. Composizione farmaceutica secondo le rivendicazioni 1-5 sotto forma di capsule, confetti, compresse, granulato, sciroppo o flaconcini e fiale per soluzione iniettabile

Le nuove composizioni farmaceutiche di cui è oggetto la presente invenzione, contengono un'associazione di un coenzima ubiquinonico e uno o più fosfolipidi noti per la importanza che assumono nel biochimismo e metabolismo tissutale, soprattutto cerebrale.

In particolare, le composizioni secondo l'invenzione contengono come principio attivo un enzima ubiquinonico e fosfolipidi di origine animale (specialmente tessuti cerebrali e nervosi), vegetale, sintetica o semisintetica.

Il coenzima ubiquinonico preferito secondo l'invenzione è l'ubiquinone Q₁₀ (2,3-dimetossi-5-metil-6-decaprenil-benzochinone) mentre i fosfolipidi che possono essere impiegati comprendono lecitine e suoi derivati, fosfatidilcolina, fosfatidilserina, fosfatidiletanolamina, fosfatidilinositolo, acido fosfatidico, difosfoinositide, lisolecitina, dipalmitilfosfatidilcolina, colinaglicerofosfolipide, lisocefalina, fosfonolipidi, fosfatidilglicerolo e glicerofosfolipidi o composti simili di varia origine. Oltre al Coenzima Q₁₀ possono comunque essere impiegati anche altri tipi di coenzimi ubiquinonici. Il componente ubiquinonico e i fosfolipidi sono contenuti in rapporti compresi tra 1 e 100 000, preferibilmente tra 10 e 1000.

Le composizioni secondo l'invenzione sono in grado di svolgere un'efficace azione terapeutica nella prevenzione e cura degli stati morbosi correlati a disordini enzimatici e metabolici cerebrali come nell'aterosclerosi, affaticamento, disturbi della memoria e neuroendocrini ed in genere nelle reazioni di tipo postanossico cerebrale e tissutale.

Il Coenzima Q₁₀ è costituito da una struttura ad anello chinonico e da una catena laterale con dieci unità insoprenoidi che lo rendono liposolubile e adatto a localizzarsi nella membrana mitocondriale, ove funge da trasportatore di elettroni (Morton R.A. — *Nature* 182-1764-1958; Gale P. e coll. — *Arch. Biochem. Biophys.* 93-211-1961). Considerando che i processi energetici tissutali e cellulari sono legati al trasporto idrogenionico, ne deriva che un difetto o carenza di questo sistema enzimatico può portare ad alterazioni metaboliche anche assai gravi.

È stato infatti riscontrato un parallelismo fra carenze in contenuto di Coenzima Q₁₀ nel tessuto miocardico, muscolare gengivale o cerebrale e forme morbose specifiche quali l'insufficienza miocardica, la distrofia muscolare, le paradontopatie e i

disturbi nervosi (Folkers K., Littarru G.P., Ho L., Runge T.M., Cooley D. — *Int. J. Vit. Res.* 40-380-1970).

La somministrazione esogena di Coenzima Q₁₀ ha portato alla remissione di molta parte della sintomatologia di queste forme morbose (Yamasawa J. — *Biomedical and Clinical Aspects of Coenzyme Q* — Elsevier — North Holland Ed. Vol. 2, pag. 333-1980; Nyler W.G. — *Idem*, pag. 349-1980; Wilkinson E.G., Arnold R.M. — *Res. Comm. Chem. Path. Pharmacol.* 12-111-1975), Camadak e coll. — *Biomedical and Clinical Aspects of Coenzyme Q* — Elsevier — North Holland Ed. Vol. 2, pag. 123-1980).

La constatazione che l'ubiquinone non è solamente un costituente dei mitocondri, ma che esso si trova pure presente in altre membrane, come nelle membrane dell'Apparato del Golgi, nelle membrane del reticolo endoplasmico, così come nelle membrane plastiche, indica che il ruolo del Coenzima Q₁₀ sia assai più esteso di quello sino ad ora considerato.

Tutti i modelli di sofferenza tissutale sia di tipo ossidativo che da carenza energetica e da formazione di radicali liberi, vedono nell'ubiquinone la possibilità di avere un fattore unico di regolazione.

Con la sua somministrazione può essere infatti ripristinata la respirazione mitocondriale depressa, aumentata la concentrazione in ATP cellulare, bloccata l'azione delle fosfolipasi e mantenuta intatta la membrana cellulare.

L'integrità e la funzionalità delle membrane cellulari è anche regolata, soprattutto a livello cerebrale, dalla sintesi fosfolipidica e dai sistemi energetici legati all'ATP che l'accompagnano.

La liposolubilità del Coenzima Q₁₀ è un altro fattore che permette l'intervento biochimico di questo coenzima a livello della componente fosfolipidica cellulare e subcellulare (White D.A. — *Form and Function of Phospholipids* — Ansell G.B. e coll. Ed. — Elsevier Pub. Amsterdam — pag. 441-1973; Young D.L., Powell G., McMillan W.O. — *J. Lipid. Res.* 12-1-1971, Soto E.F. e coll. — *Arch. Biochem. Biophys.* 150-362-1972; Krawiek L. e coll. — *Acta Physiol. Latino-americana* 25-439-1975).

Questa constatazione, unitamente all'osservanza che la somministrazione di fosfolipidi esogeni può aumentare ed indurre la loro incorporazione e la loro biosintesi a livello cerebrale e del tessuto nervoso, permette di intravedere l'importanza che unitamente alla frazione fosfolipidica da somministrare sia presente anche un sistema di trasporto energetico che possa provvedere alle biosintesi fosfolipidiche ed all'incorporazione fosfolipidica cellulare direttamente nei siti ove queste trasformazioni avvengono (Porcellati G. — *Central Nervous System. Studies on Metabolic Regulation and Function* — Gennazzini G. Ed. — Springer Pub. Berlin 1974).

Si è ora trovato che le composizioni farmaceutiche oggetto della presente invenzione permettono di ottenere notevoli effetti terapeutici grazie a interazioni sinergiche fra il componente ubiquinonico e i fosfolipidi, non prevedibili sulla base di quanto finora noto.

La validità della presente invenzione non è comunque legata alla verifica dei meccanismi biologici sin qui esposti.

I componenti lipidici o fosfolipidici presenti hanno inoltre anche la funzione di solubilizzare il componente ubiquinonico permettendo così la somministrazione parenterale. Il componente ubiquinonico, a sua volta, esercita un'azione antiossidante nei confronti dei fosfolipidi presenti.

Si riportano di seguito i risultati di prove tossicologiche e farmacologiche condotte sulle composizioni oggetto della presente invenzione.

Tossicologia

Le prove tossicologiche sono state eseguite associando il Coenzima Q₁₀ sia con una miscela fosfolipidica formata da fo-

sfatidilcolina, fosfatidiletanolamina + fosfatidilserina, sfingomielina, fosfatidilinositolo nel rapporto 40%, 34%, 10%, 16%, circa rispettivamente, oppure con lecitina di soia.

La somministrazione nelle diverse forme di associazione veniva eseguita sia per via orale che per via parenterale sia nel ratto del ceppo Wistar che nel topo del ceppo Swiss di ambedue i sessi.

In queste prove non si è potuto arrivare a determinare la DL₅₀ del prodotto, in considerazione della nota scarsa tossicità dei componenti dell'associazione.

Per via orale infatti si sono potuti associare g 1/kg di Coenzima Q₁₀ unitamente a g 0,5-1 oppure 2 di miscela di fosfolipidi così come di lecitina di soia senza che apparissero fenomeni tossici.

Anche la somministrazione per via parenterale si è dimostrata ugualmente ben tollerata, non dimostrandosi alcuna mortalità o effetti tossici anche con la somministrazione per via intraperitoneale di un'associazione contenente mg 300/kg di Coenzima Q₁₀ e g 0,5 oppure g 1/kg delle miscele di fosfolipidi in esame.

Pure le prove tossicologiche di carattere cronico hanno confermato la buona tollerabilità dell'associazione.

Somministrando per via orale per tre mesi consecutivi sia nel ratto del ceppo Wistar (maschi e femmine in pari numero) che in cani Beagle di sesso maschile una miscela contenente mg 100 di Coenzima Q₁₀ e mg 500 di fosfolipidi oppure g 2 di lecitina di soia, non si sono infatti potute dimostrare alterazioni né a carico della sopravvivenza, della crescita o dei diversi parametri biologici riguardanti il sangue e l'ematochimica.

FARMACOLOGIA

Prove farmacologiche

a) Prove sull'anossia cerebrale sperimentale

Per queste prove veniva impiegato un gruppo di conigli maschi New Zealand che, dopo esser stati posti in una gabbia chiusa impermeabile all'aria, veniva tolta dalla gabbia stessa l'aria e sostituita con azoto che veniva immesso successivamente.

La progressiva sostituzione dell'aria con azoto induceva uno stato di anossia rivelata da alterazioni elettroencefalografiche che arrivano fino al silenzio elettrico del tracciato.

La somministrazione di Coenzima Q₁₀ (mg 50/kg per via intraperitoneale oppure mg 200/kg per via orale) può portare ad una diminuzione dello stato anossico rivelabile attraverso la misura dei tempi necessari per l'inizio della comparsa dei segni di anossia, così come attraverso il tempo necessario al recupero ed al ritorno di un elettroencefalogramma normale.

Sia il tempo necessario alla comparsa dei segni di anossia cerebrale sia il tempo necessario al recupero elettroencefalografico normale, risultano essere di molto ridotti se prima dell'inizio dell'esperienza alla somministrazione di Coenzima Q₁₀ viene associata per via orale la somministrazione di g 1/kg di una miscela di fosfolipidi (fosfatidilcolina, fosfatidiletanolamina, fosfatidilserina, sfingomielina, fosfatidilinositolo) oppure di g 1/kg di lecitina di soia.

Lo stesso potenziamento dell'attività antianossica del Coenzima Q₁₀ può essere ottenuto mediante l'introduzione per via intraperitoneale di mg 100/kg di fosfolipidi o di lecitina di soia.

Sia la miscela di fosfolipidi che la lecitina di soia appaiono senza alcun effetto in queste esperienze di anossia cerebrale qualora la loro somministrazione sia per via orale che per via parenterale venga eseguita senza unire il Coenzima Q₁₀.

Viene così a dimostrarsi il potenziamento dell'azione antianossica svolta dal Coenzima Q₁₀ da parte della miscela dei fosfolipidi o della lecitina di soia.

b) Prove sull'attività protettiva svolta sulle lesioni aterosclerotiche sperimentali

Anche in queste prove come in quelle di anossia cerebrale sperimentale è possibile ben evidenziare il sinergismo esistente tra il Coenzima Q₁₀, fosfolipidi o lecitina di soia.

L'associazione infatti di Coenzima Q₁₀ e di una miscela di fosfolipidi (fosfatidilcolina, fosfatidiletanolamina, sfingomielina, fosfatidilserina, fosfatidilinositolo) o di lecitina di soia (Coenzima Q₁₀ mg 50/kg per via orale più miscela di fosfolipidi mg 500/kg oppure mg 500/kg di lecitina di soia per via orale) inibisce la formazione delle lesioni aterosclerotiche in maniera molto più evidente che non con la somministrazione di solo Coenzima Q₁₀ o di soli fosfolipidi o lecitina.

In queste prove le alterazioni aterosclerotiche venivano indotte nel ratto con la somministrazione di una dieta aterogena (composizione della dieta: caseina 24%, olio di cotone 10%, sale 5%, zucchero 61%, colesterolo 0,5%, vitamina D₂ 200 m UST/g di dieta).

Dopo la somministrazione per sei settimane della dieta aterogena, si procedeva all'uccisione di tutti i ratti trattati sia con la sola dieta che con la dieta unitamente al solo Coenzima Q₁₀ o unitamente al Coenzima Q₁₀ associato a fosfolipidi o a lecitina.

I risultati degli esami portavano a dimostrare che mentre tutti i ratti trattati con la sola dieta aterogena così come i ratti trattati unitamente alla dieta aterogena con solo Coenzima Q₁₀ o soli fosfolipidi o lecitina erano portatori di gravi lesioni aterosclerotiche a livello sia aortico che miocardico, i gruppi di ratti trattati associando il Coenzima Q₁₀ con fosfolipidi oppure con lecitina non mostravano queste stesse lesioni oppure queste, qualora esistenti, erano molto diminuite nella loro frequenza e gravità.

Da quanto sopra esposto, risultano evidenti le vantaggiose e sorprendenti proprietà sinergiche ottenibili associando i principi attivi specificati.

Le composizioni secondo l'invenzione possono essere formulate sotto forma di capsule, compresse, confetti, granulati, sciroppi o soluzioni parenterali, in miscela con opportuni eccipienti.

Si riportano alcuni esempi non limitativi di composizioni farmaceutiche ottenibili con opportuni metodi di tecnica farmaceutica:

- CAPSULE OPERCOLATE, contenenti mg 10 di Coenzima Q₁₀ e g 0,5 di fosfolipidi;
- CAPSULE OPERCOLATE, contenenti mg 100 di Coenzima Q₁₀ e g 0,5 di fosfolipidi;
- GRANULATO, contenente per ogni 100 grammi di lecitina di soia mg 10 di Coenzima Q₁₀;
- FIALE, contenenti Coenzima Q₁₀ mg 10 e mg 500 di olio di soia e mg 50 di fosfolipidi da tuorlo d'uovo;
- FIALE, contenenti mg 300 di fosfolipidi (40% fosfatidilcolina, 35% fosfatidiletanolamina e fosfatidilserina, 10% sfingomielina, altri fosfolipidi 15%) e mg 10 di Coenzima Q₁₀.