



406450

P A T E N T E

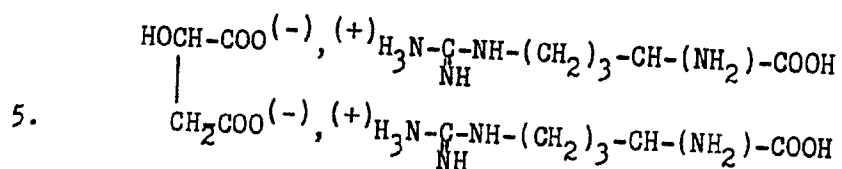
D E

I N V E N C I O N

a favor de Don ARTURO LOCATELLI y Don MARIO LOCATELLI,
ambos de nacionalidad italiana, residentes en Padova
(Italia), via delle Palme 5, por "PROCEDIMIENTO PARA
LA PREPARACION DEL MALATO DE ARGININA".

MEMORIA DESCRIPTIVA

La presente invención se refiere a un procedi-
miento para la preparación de un compuesto correspon-
diente a la fórmula:



Dicho compuesto es utilizable con fines te-
rapéuticos para reducir la acumulación de amoniaco en
la sangre y en los tejidos.

Es conocido que en las alteraciones hepáticas



el contenido de amoníaco en la sangre y en los tejidos aumenta en medida proporcional con la gravedad de la afección. Numerosas pruebas experimentales y clínicas demuestran que la acumulación de amoníaco es responsable del coma hepático y que en esta afección morbosa existe una alteración del metabolismo nitrogenado y en particular de la eliminación del amoníaco en forma de urea.

Entre las varias sustancias propuestas para reducir la acumulación de amoníaco en la sangre, hígado, riñones y tejido muscular, y que compromete la actividad del sistema nervioso central (intoxicación hepatocerebral), existen el ácido glutámico y el ácido aspártico (y sus sales y derivados N-carbamil y N-acil), capaces de fijar el amoníaco en presencia de ATP, que, por otra parte, se halla ausente en las insuficiencias hepáticas graves; en realidad, la eficacia terapéutica de estos compuestos es actualmente muy discutida.

Más eficaz resulta la arginina (y algunas de sus sales, como el glutamato, aspartato, fosfato, glucoronato, glucosio-1-fosfato, pirrolidon-carboxilato, pantotenato, orotato, etc.), que ejerce una acción activadora sobre el ciclo de la ornitina (ciclo de la ureogénesis o de Krebs-Henseleit), con aumento de la conversión del amoníaco en urea.

La superior eficacia de la arginina con respecto a los otros constituyentes del ciclo de la ureogénesis se debe probablemente a su mayor permeabilidad ce-



- lular y a la presencia de concentraciones elevadas de arginasios incluso en hígados muy lesionados. Numerosas investigaciones clínicas confirman, en efecto, que el suministro de arginina determina una disminución de
5. la amoniemia, aumento de la urea y normalización del E.E.G. en la intoxicación hepatocerebral. Por otra parte, los mejores resultados terapéuticos se obtienen en general no con el clorhidrato de arginina reducido con hidrato o carbonato sódico, ni con las asociaciones de clorhidrato de arginina y de sales sódicas de ácidos orgánicos
10. metabólicamente activos, sino con las sales obtenidas por unión de la arginina-base con los indicados ácidos libres. De esta manera no se altera el equilibrio electrolítico (por ausencia de los iones Na^+ y Cl^-), de por
15. sí comprometido en las afecciones hepáticas graves con edemas y ascitis.

- Siguiendo esta dirección, dado que el ciclo de la ureogénesis se halla en estrecha relación, mediante algunos compuestos intermedios, con el ciclo energético
20. del ácido cítrico (ciclo de Krebs), los solicitantes han deseado potenciar la acción de la arginina con el ácido málico; este último actúa de substrato generador de energía y resulta capaz de proteger por sí solo al hígado
25. contra la intoxicación por CCl_4 , en los ensayos con ratones, y ello en medida no inferior a algunos compuestos tiólicos (cisteína, glutatión, ácidos tioglicólicos y tiomálicos) y superior a la metionina, a la colina y a los ácidos aspártico y glutámico.



Se ha realizado así la síntesis del malato de arginina, de acuerdo con la presente invención.

En línea general, este compuesto se prepara haciendo reaccionar cantidades equivalentes de arginina y de ácido málico en un disolvente polar como alcohol etílico o agua y aislando la sal así obtenida por concentración al vacío y a baja temperatura de la solución resultante.

Con el fin de ilustrar mejor la invención, se cita a continuación, a título de ejemplo no limitativo, una forma preferida de realización.

En un frasco de tres cuellos, provisto de agitador, termómetro y rácor para destilación al vacío, se introducen 100 ml de disolvente polar, agua o un alcohol alifático primario de 1-3 átomos de carbono, y 13,4 g de ácido málico. Agitando, se añaden lentamente 34,8 g de arginina finamente pulverizada, que pasa así a formar solución. La solución resultante es a continuación concentrada al vacío a la temperatura de 30° C, a sequedad, y el residuo, tomado de nuevo con poco alcohol, es filtrado y secado. Se obtienen así 45 g de un producto sólido, blanco, cristalino, a p.f. de 222-225° con dec. El rendimiento es del 95%.

Análisis: por $C_{16}H_{34}N_8O_9$

Est. %:	C, 39.99;	H, 7.21;	N, 23.19
Calc. %:	39,82;	7.10;	23.22

PRUEBAS EXPERIMENTALES EFECTUADAS

Partiendo de la demostración de que ratones intoxi-



cados con NH_4Cl y no protegidos por arginina solamente, sobreviven por administración simultánea de ácido málico, han sido demostradas las siguientes propiedades del malato de arginina:

5. 1) Secreción biliar (BSF-TEST): el compuesto (25 mg/kg. s. c. por 10 días) atenúa de modo significativo el daño hepático por CCl_4 (200 mg/kg en aceite de oliva i/m. por 10 días).
- 2) Actividades metabólicas hepáticas: en el ratón intoxicado por CCl_4 (400 mg/kg en aceite de oliva i.m. por 10 días) el compuesto (30 mg/kg s.c. por 10 días) mantiene normales las actividades transaminásicas y el consumo de O_2 del homogenado de hígado.
10. 3) Toxicidad subaguda del CCl_4 : en el ratón intoxicado cada tres días con CCl_4 en aceite de oliva al 50% (4 ml/kg i.p.), el compuesto (200 mg/kg s.c. por tres días) aumenta la supervivencia en un 50%.
- 4) Acción antiamoníémica: en el ratón intoxicado con NH_4Cl (200 mg/kg i.m.), el compuesto (500 mg/kg i.p.)
20. reduce la amoniemia en medida significativamente superior respecto a cantidades equimoleculares de arginina.
- 5) Toxicidad aguda del NH_4Cl : en el ratón intoxicado con NH_4Cl i.m., el compuesto (800 mg/kg i.p.) reduce la DL_{50} del mismo en un 35%.
25. 6) Toxicidad aguda: en el ratón el compuesto tiene una DL_{50} i.p. de 4,86 g/kg (4,11-5,73); en el conejo 0,5 g/kg e.v. no provocan alteraciones de la presión ni de la respiración.



7) Toxicidad subcrónica y crónica: en el ratón 0,5 g/kg/día/120 días (dosis 30-40 veces mayor que la prevista para uso clínico) no provocan alteraciones del aumento, de la crisis hemática, del tiempo de coagulación, de la glicemia, de las transaminasas serosas, de la excreción de BSF, de la inversión alcalina, de los lípidos, glicógeno y transaminasas hepáticas, de las proteínas musculares, del peso, del aspecto macro- y microscópico de las vísceras; finalmente, ausencia de toxicidad fetal y de actividad teratogénica y carcinogénica.

Todos estos resultados obtenidos con el malato de arginina pueden ser interpretados como efectos del potenciamiento que, sobre las conocidas propiedades de la arginina, ejerce el componente málico. Este, en efecto, además de suministrar la energía indispensable para la síntesis del ATP, da origen en el organismo a ácido pirúvico por descarboxilación, a ácido oxalacético por deshidrogenación, y, finalmente, a ácido α -queto-glutárico. Se forman así tres α -quetoácidos capaces de fijar amoníaco, transformándose respectivamente en alanina, ácido aspártico y ácido glutámico, sin consumo de ATP; estos dos aminoácidos pueden a su vez fijar amoníaco transformándose respectivamente en glutamina y asparagina, pero con consumo de ATP. De ello se desprende que el componente málico contribuye tanto a nivel energético como a nivel metabólico a detoxificación amoniacal (fijación del amoníaco en aminoácidos) en sinergismo con la



llevada a cabo por la arginina (eliminación del amoniaco en forma de urea).

PRUEBAS CLINICAS

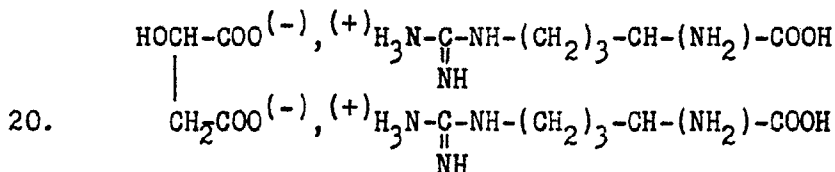
- En numerosos pacientes afectados de hepatopatías agudas y crónicas, hepatoesclerosis precirróticas y cirróticas, toxicosis e hiperamoniemias exógenas y endógenas, intoxicaciones hepatocerebrales, el malato de arginina en dosis diarias de 0,5-1 g i.m. ó 1,5-3 g en inyecciones endovenosas 1-2 veces al día durante períodos también de 1-2 meses, determina una rápida disminución de la amoniemia, con regresión de los síntomas neurológicos, progresiva mejora de los parámetros biohumorales, de los tests de funcionalidad hepática y de las condiciones generales, con perfecta tolerancia local y general.

- . -

N O T A

15. Se reivindica como objeto de la presente patente de invención:

1. Procedimiento para la preparación del malato de arginina, según un compuesto correspondiente a la fórmula



que se caracteriza por el hecho de añadir, agitando, a una cantidad equivalente de arginina, un equivalente de



5. ácido málico, disuelto en agua o en alcohol alifático primario de 1-3 átomos de carbono; por concentrar la solución resultante hasta sequedad; por tomar de nuevo el residuo con poco alcohol; y por filtrar y secar, obteniendo, con rendimiento del 95%, un producto sólido, cristalino, blanco, a p.f. 222-225^o con dec.

10. 2. Procedimiento para la preparación del malato de arginina, según la reivindicación anterior, que se caracteriza por el hecho de que el compuesto obtenido es utilizable con fines terapéuticos para reducir la acumulación de amoníaco en la sangre y los tejidos.

3. Procedimiento para la preparación del malato de arginina.

15. La presente memoria consta de ocho hojas foliadas, escritas por una sola cara.

Madrid, 7 SEP. 1972

ARTURO LOCATELLI
MARIO LOCATELLI
p.a.

J. TORTRAS
p.p.

A. GULLEUMAS