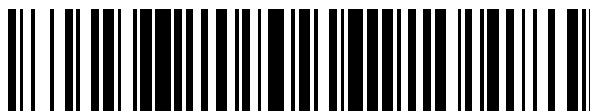


19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 585 558**

51 Int. Cl.:

<b>C07C 55/10</b>	(2006.01)	<b>A61P 9/00</b>	(2006.01)
<b>C07C 57/15</b>	(2006.01)		
<b>C07C 69/86</b>	(2006.01)		
<b>C07C 227/18</b>	(2006.01)		
<b>C07C 229/12</b>	(2006.01)		
<b>C07D 239/557</b>	(2006.01)		
<b>A61K 31/616</b>	(2006.01)		
<b>A61K 31/205</b>	(2006.01)		
<b>A61K 31/197</b>	(2006.01)		
<b>A61K 31/513</b>	(2006.01)		

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **27.04.2012** **E 12720465 (9)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **08.06.2016** **EP 2702033**

54 Título: **Uso de sales de 3-carboxi-N-etil-N,N-dimetilpropan-1-aminio en el tratamiento de una enfermedad cardiovascular**

30 Prioridad:

27.04.2011 EP 11163839  
 27.04.2011 EP 11163841  
 27.04.2011 EP 11163840  
 27.04.2011 EP 11163872  
 27.04.2011 EP 11163871

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:  
**06.10.2016**

73 Titular/es:

**GRINDEKS, A JOINT STOCK COMPANY (100.0%)**  
**53 Krustpils Street**  
**1057 Riga, LV**

72 Inventor/es:

**STONANS, ILMARS;**  
**KALVINS, IVARS;**  
**DAMBROVA, MAIJA;**  
**LIEPINS, EDGARS;**  
**GRINBERGA, SOLVEIGA;**  
**KUKA, JANIS;**  
**LOLA, DAINA;**  
**LOZA, EINARS;**  
**PUGOVICS, OSVALDS y**  
**VILSKERSTS, REINIS**

74 Agente/Representante:

**ISERN JARA, Jorge**

ES 2 585 558 T3

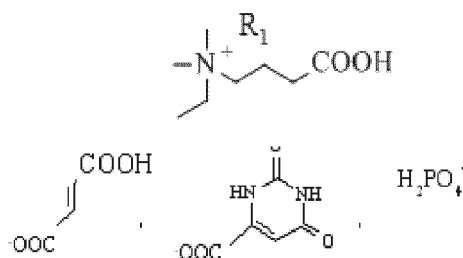
Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín europeo de patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre concesión de Patentes Europeas).

## DESCRIPCIÓN

Uso de sales de 3-carboxi-N-etil-N,N-dimetilpropan-1-aminio en el tratamiento de una enfermedad cardiovascular

## 5 Campo técnico

La presente invención se refiere al nuevo compuesto de sal de 3-carboxi-N-etil-N,N-dimetilpropan-1-aminio, y a un método de preparación de la misma que tiene la fórmula general en la que R1 es



10 La presente invención también se refiere a una sal de 3-carboxi-N-etil-N,N-dimetilpropan-1-aminio seleccionada entre (2E)-3-carboxiacrilato de 3-carboxi-N-etil-N,N-dimetilpropan-1-aminio, 2,6-dioxo-1,2,3,6-tetrahydropirimidin-4-carboxilato de 3-carboxi-N-etil-N,N-dimetilpropan-1-aminio y dihidrogenofosfato de 3-carboxi-N-etil-N,N-dimetilpropan-1-aminio para su uso en el tratamiento de una enfermedad cardiovascular.

## Antecedentes en la técnica

Las enfermedades cardiovasculares (ECV) son un grupo de trastornos del corazón y de los vasos sanguíneos.

20 Se estima que 16,7 millones –o el 29,2 % de las muertes totales a nivel mundial– son el resultado de las diversas formas de enfermedad cardiovascular (ECV).

25 El infarto de miocardio (ataque al corazón) es una consecuencia grave de una enfermedad de la arteria coronaria. El infarto de miocardio (IM) es la necrosis irreversible del músculo cardiaco secundaria a isquemia prolongada. Un ataque al corazón o infarto de miocardio es una urgencia médica en la que se reduce o se limita repentina y gravemente el suministro de sangre al corazón, haciendo que el músculo muera por falta de oxígeno. Más de 1,1 millones de personas sufren de ataque al corazón (infarto de miocardio) cada año y, para muchos de ellos, el ataque al corazón es el primer síntoma de enfermedad de la arteria coronaria. Un ataque al corazón puede ser lo suficientemente grave como para causar la muerte o puede no manifestarse. Una de cada cinco personas solo presenta síntomas leves o de ningún tipo, y el ataque al corazón solo se puede descubrir con un electrocardiograma rutinario realizado algún tiempo después.

35 Un ataque al corazón (infarto de miocardio) generalmente es causado por un coágulo de la sangre que bloquea una arteria del corazón. A menudo la arteria ya se ha estrechado por depósitos de grasa en sus paredes. Estos depósitos se pueden desprender o romper, lo que reduce el flujo sanguíneo y libera sustancias que provocan que las plaquetas de la sangre se adhieran y que tengan más probabilidades de formar coágulos. A veces se forma un coágulo en el interior del propio corazón, que posteriormente se desprende y queda atorado en una arteria que irriga el corazón. Un espasmo en una de estas arterias hace que el flujo sanguíneo se detenga.

40 La  $\gamma$ -butirobetaína, de la que el organismo mamífero sintetiza la carnitina, se caracterizó principalmente como sustancia tóxica que acelera la respiración, provoca salivación y lagrimeo, dilatación de la pupila, vasoconstricción y parada cardiaca en diástole. LINNEWEH, W. Gamma-Butyrobetain, Crotonbetain und im Carnitin tierischen Stoffwechsel. Hoppe-Seylers Zeitschrift für Chemie physiologische. 1929, vol. 181, p. 42-53. Al mismo tiempo, en artículos posteriores otros autores comprobaron que la  $\gamma$ -butirobetaína tiene una toxicidad extremadamente baja (DL<sub>50</sub> > 7000 mg/kg, s.c) ROTZSCH, W. Iber die Toxizitat des Carnitins und Einiger verwandter Stoffe. Acta biol. med. germ. 1959, vol. 3, p. 28-36.

50 En la bibliografía faltan datos sobre los efectos cardiovasculares de la  $\gamma$ -butirobetaína no sustituida, aunque en HOSEIN, E.A. Pharmacological actions of  $\gamma$ -butyrobetaine. Nature. 1959, vol. 183, p. 328-329 se informó de que la  $\gamma$ -butirobetaína es una sustancia similar a la acetilcolina con una acción prolongada. Sin embargo, más tarde, los mismos autores informaron de que, debido a un error de los experimentos involucrados, más que la  $\gamma$ -butirobetaína, es su éster metílico el que de hecho posee propiedades colinérgicas. Contrariamente a lo anterior, la  $\gamma$ -butirobetaína se caracterizó como sustancia farmacológicamente inerte, HOSEIN, E.A. Isolation and probable functions of betaine esters in brain metabolism. Nature. 1960, vol. 187, p. 321-322.

Se desvelan compuestos estructuralmente relacionados con las sales de 3-carboxi-N-etil-N,N-dimetilpropan-1-aminio en:

- El documento de GB 1238868 A 14/07/1971 desvela betaínas, tales como butanoato de 4-trimetilamonio, usadas para polímeros. Sin embargo, no se presentaron propiedades farmacológicas de estas betaínas;
- El documento de US 5973026 (XEROX CORP) 26/10/1999 desvela butanoato de 4-trimetilamonio y propionato de 3-[dietil(metil)amonio] para su uso en composiciones de tinta;
- LLOYD ANDREW, et al. A comparison of glycine, sarcosine, N,N-dimethylglycine, glycinebetaine and N-modified betaines as liposome cryoprotectants. *Journal of pharmacy and pharmacology*. 1992, vol. 44, no. 6, p. 507-511 desvela el uso de acetato de 2-[etil(dimetil)amonio] como crioprotector para liposomas;
- DAVID B., THOMAS, et al. Synthesis, Characterization, and Aqueous Solution Behavior of Electrolyte- and pH-Responsive Carboxybetaine-Containing Cyclocopolymers. *Macromolecules*. 2003, vol. 36, no. 26, p. 9710-9715 desvela el butanoato de 4-[dialil(metil)amonio] y su síntesis a partir de N,N-dialil-N-metilaminio y 4-bromobutanoato de etilo. Se obtiene el ácido libre a partir del éster en una segunda etapa usando resina de intercambio iónico Amberlite. El producto se usa como intermedio para la síntesis de polímeros;
- Prelog V. 1930, vol. 2, p. 712-722 desvela la síntesis de butanoato de 4-trimetilamonio partiendo de butanoato de 4-dimetilamonio y yoduro de metilo;
- El butanoato de 4-trimetilamonio y su síntesis a partir de trimetilamina y 4-bromobutanoato de etilo se desvela en el documento de JP 2009096766 A (KONAN GAKUEN) de 05/07/2009. El ácido libre se obtiene a partir del éster en una segunda etapa usando resina de intercambio iónico Amberlite;
- El documento WO 2008/055843 A (KALVINSH IVARS; CHERNOBROVIJS ALEKSANDRS; VARACHEVA LARISA; PUGOVICH OSVALDS) de 15/05/2008 describe el butanoato de 4-trimetilamonio y su síntesis partiendo del éster correspondiente y usando una solución de KOH;
- El documento de CA 2508094 A (VIVIER CANADA INC) de 20/11/2006 desvela betaínas, tales como butanoato de 4-trimetilamonio, para su uso como medicamento para acelerar la síntesis de colágeno;
- El documento de US 5965615 (TAIHO PHARMACEUTICAL CO LTD; VALSTS ZINATNISKI IESTADE BEZP) de 12/10/1999 desvela el butanoato de 4-trimetilamonio como medicamento para el tratamiento de trastorno metabólico de miocardio, el mismo compuesto se desvela en el documento de US 2007191381 (CONCERT PHARMACEUTICALS INC) de 16/08/2007 para el tratamiento del infarto de miocardio;
- El documento EP 2070529 A1 (BASF AG) de 30/05/2001 desvela nuevas sales de  $\gamma$ -butirotbetaína y su uso para la preparación de composiciones adecuadas para la nutrición humana o animal;
- El documento WO2010/149654 (GRINDEKS A JOINT STOCK COMPANY) de 29/12/2010 desvela un compuesto de succinato de gamma-butirotbetaína (GBBS) y su combinación con succinato de meldonio en el tratamiento de enfermedades cardiovasculares;

El propionato de 3-(2,2,2-trimetilhidrazinio) dihidratado es conocido como compuesto con propiedades cardioprotectoras (esta sustancia se conoce bajo su Denominación Común Internacional de meldonio). El propionato de 3-(2,2,2-trimetilhidrazinio) se desvela en el documento de US 4481218 (INST ORGANICHESKOGO SINTEZA) de 06/11/1984, así como en el documento de US 4451485 A (INSTITUCIONAL ORCH SINTEZA AKADEMII) de 29/05/1984.

Es bien sabido que el propionato de 3-(2,2,2-trimetilhidrazinio) como dihidrato se usa ampliamente para el control de la relación de concentración de carnitina y gamma-butirotbetaína y por lo tanto de la velocidad de beta-oxidación de ácidos grasos en el cuerpo. DAMBROVA M., LIEPINS E., KALVINSH I. I. Mildronate: cardioprotective action through carnitine-lowering effect. *Trends in Cardiovascular Medicine*, 2002, vol. 12, no. 6, p. 275-279.

Debido a estas propiedades, el meldonio se aplica ampliamente en medicina como fármaco anti-isquémico, protector frente al estrés y cardioprotector en el tratamiento de diversas enfermedades cardiovasculares y otras patologías que implican isquemia tisular. KARPOV R.S., KOSHELSKAYA O.A., VRUBLEVSKY A.V., SOKOLOV A.A., TEPLYAKOV A.T., SKARDA I., DZERVE V., KLINTSARE D., VITOLS A., KALNINS U., KALVINSH I., MATVEYA L., URBANE D. Clinical Efficacy and Safety of Mildronate in Patients With Ischemic Heart Disease and Chronic Heart Failure. *Kardiologiya*. 2000, no. 6, p. 69-74. En el tratamiento de enfermedades cardiovasculares el mecanismo de acción del propionato de 3-(2,2,2-trimetilhidrazinio) se basa en la limitación de la tasa de biosíntesis de carnitina y la limitación del transporte de ácidos grasos relacionados de cadena larga a través de las membranas de las mitocondrias. SIMKHOVICH B.Z., SHUTENKO Z.V., MEIRENA D.V., KHAGI K.B., MEZHAPUKE R.J., MOLODCHINA T.N., KALVINS I.J., LUKEVICS E.

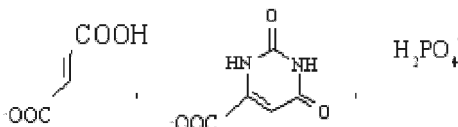
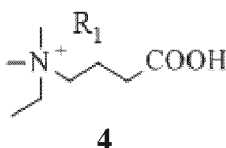
El propionato de 3-(2,2,2-trimetilhidrazinio) (THP) es un nuevo inhibidor de la hidroxilasa gamma-butirotbetaína con propiedades cardioprotectoras. *Biochemical Pharmacology*. 1988, vol. 37, p. 195-202, KIRIMOTO T., ASAKA N., NAKANO M., TAJIMA K., MIYAKE H., MATSUURA N. Beneficial effects of MET-88, a  $\gamma$ -butyrotbetaína hydroxylase inhibitor in rats with heart failure following myocardial infarction. *European Journal of Pharmacology*. 2000, vol. 395, no. 3, p. 217-224.

Sumario de la invención

Del documento EP 2070529 B (Grindeks JSC) de 12/10/2011 se sabía que el dihidrato de meldonio tiene un efecto cardioprotector y su sal orotato de meldonio se usa para el tratamiento de enfermedades cardiovasculares; sin embargo no hay datos acerca de que la propia  $\gamma$ -butirotetaina presente efecto cardioprotector. En la patente EP 0845986 B (KALVINSH IVARS, VEVERIS MARIS) de 02/04/2003 se desvela una composición farmacéutica de dihidrato de meldonio y  $\gamma$ -butirotetaina para su uso en el tratamiento de enfermedades cardiovasculares.

Un objeto de la presente invención es proporcionar un compuesto, que presente efecto cardioprotector.

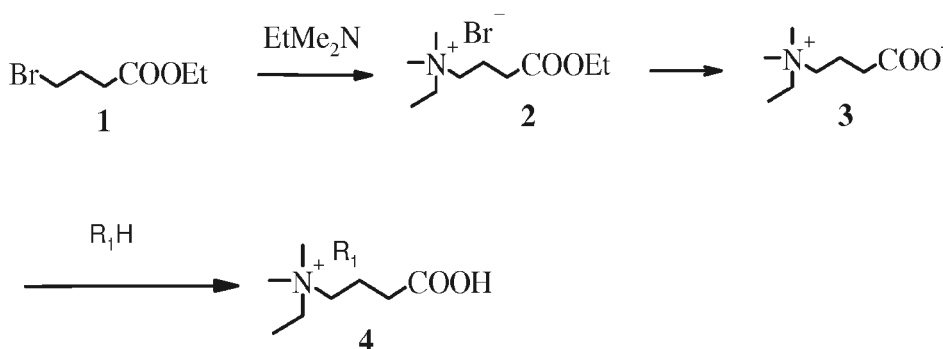
El objeto mencionado anteriormente se consigue proporcionando nuevos compuestos de sales de 3-carboxi-N-etil-N,N-dimetilpropan-1-aminio (compuesto de fórmula 4), que tiene una estructura similar al meldonio o la  $\gamma$ -butirotetaina, en la que R<sub>1</sub> es



Para nuestra sorpresa las sales de 3-carboxi-N-etil-N,N-dimetilpropan-1-aminio poseen un efecto cardioprotector pronunciado y son más eficaces que el dihidrato de meldonio en modelos de infarto de miocardio en vivo; debido a esta propiedad las sales de N-etil-3-carboxi-N,N-dimetilpropan-1-aminio se pueden usar en medicina. Las sales de N-etil-3-carboxi-N,N-dimetilpropan-1-aminio se pueden usar como solución inyectable.

El siguiente objeto de la presente invención es un método de preparación de dicho compuesto de fórmula 4.

Se desvela un proceso que se puede usar a fin de preparar el compuesto diana de sales de 3-carboxi-N-etil-N,N-dimetilpropan-1-aminio de fórmula 4; véase el esquema siguiente.



El proceso de preparación de la sal de 3-carboxi-N-etil-N,N-dimetilpropan-1-aminio de fórmula 4 implica las siguientes etapas de proceso:

- añadir N,N-dimetiletilamina a 4-bromobutanoato de etilo (1) en un disolvente apropiado para obtener bromuro de 4-etoxi-N-etil-N,N-dimetil-4-oxo-1-butanaminio (2);
- pasar el bromuro de 4-etoxi-N-etil-N,N-dimetil-4-oxo-1-butanaminio (2) a través de la columna de resina de intercambio iónico para obtener butanoato de 4-[etil(dimetil)amonio] (3);
- añadir un ácido que se selecciona entre el ácido (E)-butenodioico (4 a), ácido 2,6-dioxo-1,2,3,6-tetrahidropirimidin-4-carboxílico monohidratado (4 b) o ácido fosfórico (4 c) al butanoato de 4-[etil(dimetil)amonio] (3) en un disolvente apropiado para obtener la sal de 3-carboxi-N-etil-N,N-dimetilpropan-1-aminio (4).

## Descripción de las realizaciones

La presente invención se describirá con más detalle haciendo referencia a los siguientes ejemplos no limitantes.

## 5 Preparación de bromuro de 4-etoxi-N-etil-N,N-dimetil-4-oxo-1-butanaminio (2)

## Procedimiento A

10 A una solución de 4-bromobutanoato de etilo (1) (20,0 g, 102,5 mmol) en acetonitrilo (70 ml) se le añadió N,N-dimetiletilamina (15 ml, 139 mmol) y se agitó a temperatura ambiente durante 3 días. La mezcla de reacción se evaporó, el residuo se trituró con acetona (50 ml), se filtró, se lavó con éter, y se secó para dar 26,051 g (94,8 %) del bromuro de 4-etoxi-N-etil-N,N-dimetil-4-oxo-1-butanaminio. LCMS (ESI<sup>+</sup>, m/z): [M-Br]<sup>+</sup> 188, pureza 98,9 %. RMN <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>, HMDSO) δ: 1,26 (t, J = 7,2 Hz, 3H); 1,44 (t, J = 7,4 Hz, 3H); 2,00-2,11 (m, 2H); 2,52 (t, J = 6,6 Hz, 2H); 3,40 (s, 6H); 3,64-3,73 (m, 2H); 3,69 (q, J = 7,4 Hz, 2H); 4,14 (q, J = 7,2 Hz, 2H).

15

## Procedimiento B

20 A una solución de 4-bromobutanoato de etilo (1) (19,5 g, 100 mmol) en acetona (70 ml) se le añadió N,N-dimetiletilamina (15 ml, 139 mmol) y se agitó a temperatura ambiente durante 3 días. La mezcla de reacción se filtró; el material sólido se lavó con acetona, éter, y se secó para dar 24,19 g (90,2 %) del compuesto del título 2. El filtrado se evaporó; el residuo (2,147 g) se trituró con éter y se secó para dar un lote adicional (0,962 g, 3,6 %) del producto 2 de la misma calidad que la parte principal. La evaporación de los lavados de éter permitió la recuperación de 0,956 g (4,9 mmol, 4,9 %) del material de partida 1. Bromuro de 4-etoxi-N-etil-N,N-dimetil-4-oxo-1-butanaminio: LCMS (ESI<sup>+</sup>, m/z): [M-Br]<sup>+</sup> 188, pureza 98,4 %. RMN <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>, HMDSO) δ: 1,26 (t, J = 7,2 Hz, 3H); 1,44 (t, J = 7,4 Hz, 3H); 2,00-2,11 (m, 2H); 2,52 (t, J = 6,6 Hz, 2H); 3,40 (s, 6H); 3,64-3,73 (m, 2H); 3,69 (q, J = 7,4 Hz, 2H); 4,14 (q, J = 1,2 Hz, 2H).

25

## Preparación de butanoato de 4-[etil(dimetil)amonio] (3)

30 Una solución de bromuro de 4-etoxi-N-etil-N,N-dimetil-4-oxo-1-butanaminio (2) (12,00 g, 44,7 mmol) en agua (10 ml) se hizo pasar a través de una columna de resina de intercambio iónico Amberlite<sup>®</sup> IRA-410 (OH) (250 ml) eluyendo lentamente (10 gotas/min aproximadamente) con etanol (control TLC). El eluato se evaporó y el residuo (12 g) se disolvió en agua (50 ml). A esta solución se le añadió resina de intercambio iónico DOWEX<sup>®</sup> 50WX8 (5 g) y se agitó a temperatura ambiente durante 0,5 h. La mezcla de reacción se filtró a través de Celite (1 cm) y el eluato se evaporó. El residuo se secó azeotrópicamente con isopropanol, acetonitrilo y acetona. El sólido obtenido se trituró con acetona (10 ml) y la mezcla se mantuvo a 0 °C durante 2 h. El precipitado se filtró y se secó al vacío sobre P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> para dar 4,65 g (65 %) del butanoato de 4-[etil(dimetil)amonio] (3). (DMSO-d<sub>6</sub>, HMDSO) δ: 1,24 (t, J = 7,3 Hz, 3H); 1,66-1,76 (m, 2H); 1,81 (t, J = 6,4 Hz, 2H); 2,95 (s, 6H); 3,16-3,23 (m, 2H); 3,29 (q, J = 7,3 Hz, 2H). LCMS (ESI<sup>+</sup>, m/z): 160 [M + H]<sup>+</sup>.

35

40 Anál. calc. para C<sub>8</sub>H<sub>17</sub>NO<sub>2</sub> · 1,55 H<sub>2</sub>O: C 51,34; H 10,82; N 7,48.

Encontrado: C 51,36, H 11,40, N 7,34.

## 45 Preparación de (2E)-3-carboxiacrilato de 3-carboxi-N-etil-N,N-dimetilpropan-1-aminio (4 a)

50 A una solución de butanoato de 4-[etil(dimetil)amonio] (3) (2,0 g, 12,56 mmol) en etanol anhidro (10 ml) se le añadió una solución caliente (60 °C) de ácido (E)-butenodioico (1,46 g, 12,56 mmol) en etanol (50 ml). La mezcla de reacción se dejó en reposo a temperatura ambiente durante 2 h, y los cristales precipitados se filtraron y se secaron sobre P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> para dar 2,98 g (85 %) del (2E)-3-carboxiacrilato de 3-carboxi-N-etil-N,N-dimetilpropan-1-aminio. Pf 122-123 °C. RMN <sup>1</sup>H (D<sub>2</sub>O, DSS) δ: 1,36 (tt, J = 1,9, 7,3 Hz, 3H); 2,06 (m, 2H); 2,49 (t, J = 7,1 Hz, 2H); 3,06 (s, 6H); 3,31 (m, 2H); 3,40 (q, J = 7,3 Hz, 2H); 6,75 (s, 1,9H, CH=CH). LCMS ESI<sup>+</sup> (m/z): 160 [M + H]<sup>+</sup>. Ensayos de titulación: Contenido de agua (Fisher) 0,13 %, contenido de betaína (HClO<sub>4</sub>) 93,0 %, contenido de ácido (E)-butenodioico 46,1 %. Anál. calc. para C<sub>8</sub>H<sub>17</sub>NO<sub>2</sub> · 1,2 C<sub>4</sub>H<sub>4</sub>O<sub>4</sub> (46,7 %): C 51,50, H 7,36, N 4,69. Encontrado: C 51,52, H 7,35, N 4,61.

55

## Preparación de 2,6-dioxo-1,2,3,6-tetrahidropirimidin-4-carboxilato de 3-carboxi-N-etil-N,N-dimetilpropan-1-aminio (4 b)

60 A una solución de butanoato de 4-[etil(dimetil)amonio] (3) (2,0 g, 12,56 mmol) en isopropanol (100 ml) se le añadió ácido 2,6-dioxo-1,2,3,6-tetrahidropirimidin-4-carboxílico monohidratado (2,187 g, 12,56 mmol) y la mezcla de reacción se calentó a reflujo hasta que todo el ácido carboxílico se disolvió. La mezcla de reacción se dejó enfriar a temperatura ambiente, los cristales precipitados se filtraron, se lavaron con isopropanol (5 ml) y éter dietílico (20 ml), y se secaron sobre P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> para dar 3,238 g (97,4 %) del 2,6-dioxo-1,2,3,6-tetrahidropirimidin-4-carboxilato de 3-carboxi-N-etil-N,N-dimetilpropan-1-aminio. Pf 150,7 °C. RMN <sup>1</sup>H (D<sub>2</sub>O, DSS) δ: 1,36 (tt, J = 2,0, 7,3 Hz, 3H); 2,05 (m, 2H); 2,47 (t, J = 7,0 Hz, 2H); 3,07 (s, 6H); 3,31 (m, 2H); 3,41 (q, J = 7,3 Hz, 2H); 6,20 (s, 1 H, C=CH). LCMS ESI<sup>+</sup>

65

(m/z): 160 [M + H]<sup>+</sup>. Anál. calc. para C<sub>8</sub>H<sub>17</sub>NO<sub>2</sub> · C<sub>5</sub>H<sub>4</sub>N<sub>2</sub>O<sub>4</sub> (49,5 %): C 49,52, H 6,71, N 13,33. Encontrado: C 49,59, H 6,69, N 13,26.

Preparación de dihidrogenofosfato de 3-carboxi-N-etil-N,N-dimetilpropan-1-aminio (4 c)

5 A una solución de butanoato de 4-[etil(dimetil)amonio] (3) (6,4 g, 40 mmol) en agua (10 ml) se le añadió una solución de H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> ac. al 85 % (4,73 g, 40 mmol) en acetona (10 ml) y la solución resultante se agitó a temperatura ambiente durante 10 min. La mezcla de reacción se evaporó y se secó azeotrópicamente varias veces con acetona mediante un evaporador rotatorio a 45 °C. La sustancia cristalina blanca obtenida se secó sobre P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> para dar 9,82 g (95 %) de dihidrogenofosfato de 3-carboxi-N-etil-N,N-dimetilpropan-1-aminio. Pf 110-135 °C. RMN <sup>1</sup>H (D<sub>2</sub>O, DSS) δ: 1,36 (tt, J = 1,8, 7,3 Hz, 3H); 2,06 (m, 2H); 2,50 (t, J = 7,0 Hz, 2H); 3,06 (s, 6H); 3,32 (m, 2H); 3,41 (q, J = 7,3 Hz, 2H). LCMS ESI<sup>+</sup> (m/z): 160 [M + H]<sup>+</sup>. Ensayos de titulación: Contenido de agua (Fisher) 0,356 %, contenido de betaína (HClO<sub>4</sub>) - 95,682 %. Anál. calc. para C<sub>8</sub>H<sub>17</sub>NO<sub>2</sub> · 0,052 H<sub>2</sub>O (0,356 %) 1,07 H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> (39,6 %): C 36,26; H 7,73; N 5,29.

15 Encontrado: C 36,20, H 7,72, N 5,11.

La pureza del dihidrogenofosfato de 3-carboxi-N-etil-N,N-dimetilpropan-1-aminio obtenido se incrementó por cristalización en metanol. Así, el dihidrogenofosfato de 3-carboxi-N-etil-N,N-dimetilpropan-1-aminio (6,9 g) se cristalizó en metanol (40 ml) para dar 5,326 g (77 %) de dihidrogenofosfato de 3-carboxi-N-etil-N,N-dimetilpropan-1-aminio purificado con un punto de fusión de 139 °C. Calc. para C<sub>8</sub>H<sub>17</sub>NO<sub>2</sub> · H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> (38,1 %): C 37,36; H 7,84; N 5,45. Encontrado: C 37,52, H 7,85, N 5,39

Actividad cardioprotectora

25 Cincuenta ratas Wistar macho de 200-250 g de peso y 10 semanas de edad se estabularon en condiciones normales (21-23 °C, ciclos de 12 h de luz-oscuridad) con acceso ilimitado a alimentos (dieta R3, Lactamin AB, Suecia) y agua. Las ratas se adaptaron a las condiciones locales durante dos semanas antes del inicio del tratamiento. Se administró diariamente por vía oral durante 8 semanas dihidrato de meldonio a una dosis de 20 mg/kg, gamma-butirotbetaína a una dosis de 20 mg/kg y sales de 3-carboxi-N-etil-N,N-dimetilpropan-1-aminio a una dosis de 20 mg/kg. Las ratas de control recibieron agua.

Estudio de infarto de corazón aislado de rata

35 El experimento de corazón aislado de rata se realizó esencialmente como se describe anteriormente (Liepinsh et al, J. Cardiovasc Pharmacol 2006; 48 (6): 314-9). Veinticuatro horas después de la última administración de fármacos, los corazones se escindieron y se sometieron a perfusión retrógrada a través de la aorta a una presión constante con tampón oxigenado de Krebs-Henseleit a 37 °C. El ritmo cardiaco, la presión diastólica final del ventrículo izquierdo y la presión desarrollada del ventrículo izquierdo se registraron continuamente. El flujo coronario se midió usando un detector de flujo de ultrasonidos (HSE) y el sistema PowerLab 8/30 de ADInstruments. Los corazones se perfundieron durante 20 min para estabilizar las funciones hemodinámicas y a continuación se realizó la oclusión durante 60 min mediante la constricción de hilos a través de un tubo de plástico. La oclusión con éxito se confirmó por una disminución del flujo coronario de aproximadamente el 40 por ciento. La reperusión se consiguió liberando los hilos. Al final del periodo de reperusión de 150 min, la zona de riesgo se delineó con azul de metileno al 0,1 %. A continuación los corazones se seccionaron transversalmente desde el ápice a la base en cinco cortes de 2 mm de espesor y se incubaron en cloruro de trifeniltetrazolio al 1 % en tampón de fosfato (pH 7,4, 37 °C) durante 10 min para teñir de rojo el tejido viable y de blanco el tejido necrótico. El análisis planométrico computarizado Sony A900 de fotografías se realizó usando el *software* Image-Pro Plus 6.3 para determinar el área en riesgo y el área de la necrosis expresada en % del ventrículo izquierdo. Los valores obtenidos se usaron para calcular el tamaño del infarto (IS) como % del área de riesgo de acuerdo con la fórmula:

$$50 \quad \text{Tamaño del infarto} = \frac{\text{Área de necrosis}}{\text{Zona de riesgo}} \times 100 \%$$

Efectos en el modelo de infarto de corazón aislado de rata

55 El efecto anti-infarto de las sustancias examinadas se investigó en un modelo de infarto de corazón aislado de rata. Durante la oclusión de la arteria coronaria izquierda, el flujo coronario se redujo un 40 % (de 11 ml/min a 7 ml/min) en todos los grupos experimentales. Además, para el 50 % se observó el descenso de la presión ventricular izquierda desarrollada. La frecuencia cardiaca durante el periodo de oclusión no cambió significativamente. En el estadio de reperusión, se recuperaron los valores del flujo coronario, presión ventricular izquierda desarrollada, y ±dp/dt hasta aproximadamente el 80 % del nivel de control. No hubo diferencias significativas entre los grupos de control y de tratamiento.

65 Los efectos del dihidrato de meldonio (20 mg/kg), la gamma-butirotbetaína (20 mg/kg) y las sales de 3-carboxi-N-etil-N,N-dimetilpropan-1-aminio (20 mg/kg) después de 2 semanas de tratamiento en el tamaño del infarto en el experimento de infarto de corazón aislado de rata se presentan en la Tabla 1, Tabla 2, Tabla 3.

Tabla 1 Efectos del dihidrato de meldonio, la gamma-butirotetina y el (2E)-3-carboxiacrilato de 3-carboxi-N-etil-N,N-dimetilpropan-1-aminio sobre el tamaño del infarto

	Tamaño del infarto, % de control
Control	100,0 ± 5,9
Dihidrato de meldonio, 20 mg/kg	117,9 ± 7,9
Gamma-butirotetina, 20 mg/kg	87,6 ± 11,4
(2E)-3-carboxiacrilato de 3-carboxi-N-etil-N,N-dimetilpropan-1-aminio, 20 mg/kg	46,5 ± 7,0 <sup>*, #, \$</sup>

5

Tabla 2 Efectos del dihidrato de meldonio, la gamma-butirotetina y el 2,6-dioxo-1,2,3,6-tetrahidropirimidin-4-carboxilato de 3-carboxi-N-etil-N,N-dimetilpropan-1-aminio sobre el tamaño del infarto

	Tamaño del infarto, % de control
Control	100,0 ± 5,9
Dihidrato de meldonio, 20 mg/kg	117,9 ± 7,9
Gamma-butirotetina, 20 mg/kg	87,6 ± 11,4
2,6-dioxo-1,2,3,6-tetrahidropirimidin-4-carboxilato de 3-carboxi-N-etil-N,N-dimetilpropan-1-aminio, 20 mg/kg	60,6 ± 6,7 <sup>*, #, \$</sup>

Tabla 3 Efectos del dihidrato de meldonio, la gamma-butirotetina y el dihidrogenofosfato de 3-carboxi-N-etil-N,N-dimetilpropan-1-aminio sobre el tamaño del infarto

	Tamaño del infarto, % de control
Control	100,0 ± 5,9
Dihidrato de meldonio, 20 mg/kg	117,9 ± 7,9
Gamma-butirotetina, 20 mg/kg	87,6 ± 11,4
Dihidrogenofosfato de 3-carboxi-N-etil-N,N-dimetilpropan-1-aminio, 20 mg/kg	56,1 ± 4,4 <sup>*, #, \$</sup>

10 Cada uno de los valores cuadros mencionados en las Tablas 1-3 representa la media ± SEM de 9-10 animales. \* p <0,05 comparado con el grupo de control; # p <0,05 comparado con el grupo de gamma-butirotetina, \$ p <0,05 comparado con el grupo de dihidrato de meldonio.

15 Tal como se presenta en las Tablas 1-5, el tratamiento dihidrato de meldonio a una dosis de 20 mg/kg no tuvo ningún efecto terapéutico; la gamma-butirotetina redujo el tamaño del infarto en un 12,4 %.

El (2E)-3-carboxiacrilato de carboxi-N-etil-N,N-dimetilpropan-1-aminio a una dosis de 20 mg/kg redujo el tamaño del infarto en un 53,5 %.

20 El 2,6-dioxo-1,2,3,6-tetrahidropirimidin-4-carboxilato de 3-carboxi-N-etil-N,N-dimetilpropan-1-aminio a una dosis de 20 mg/kg redujo el tamaño del infarto en un 39,4 %.

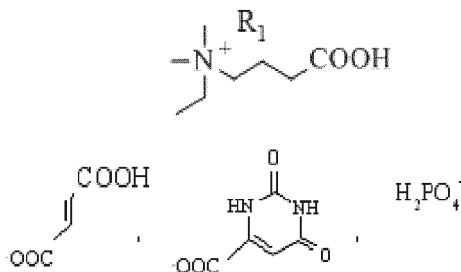
El dihidrogenofosfato de 3-carboxi-N-etil-N,N-dimetilpropan-1-aminio a una dosis de 20 mg/kg redujo el tamaño del infarto en un 43,9 %.

25

REIVINDICACIONES

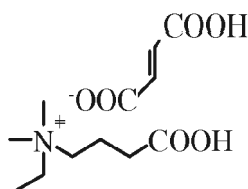
1. La sal de 3-carboxi-N-etil-N,N-dimetilpropan-1-aminio, que tiene la fórmula general en la que R1 es -

5



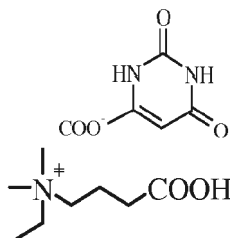
2. Una sal de 3-carboxi-N-etil-N,N-dimetilpropan-1-aminio de acuerdo con la reivindicación 1, que es (2E)-3-carboxiacrilato de 3-carboxi-N-etil-N,N-dimetilpropan-1-aminio

10



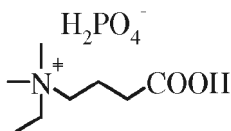
3. Una sal de 3-carboxi-N-etil-N,N-dimetilpropan-1-aminio de acuerdo con la reivindicación 1, que es 2,6-dioxo-1,2,3,6-tetrahidropirimidin-4-carboxilato de 3-carboxi-N-etil-N,N-dimetilpropan-1-aminio

15



4. Una sal de 3-carboxi-N-etil-N,N-dimetilpropan-1-aminio de acuerdo con la reivindicación 1, que es dihidrogenofosfato de 3-carboxi-N-etil-N,N-dimetilpropan-1-aminio

20



5. Un proceso para la preparación de una sal de 3-carboxi-N-etil-N,N-dimetilpropan-1-aminio que comprende:

25

- añadir N,N-dimetiletilamina a 4-bromobutanoato de etilo en un disolvente apropiado para obtener bromuro de 4-etoxi-N-etil-N,N-dimetil-4-oxo-1-butanaminio;
- pasar bromuro de 4-etoxi-N-etil-N,N-dimetil-4-oxo-1-butanaminio a través de la columna de resina de intercambio iónico para obtener butanoato de 4-[etil(dimetil)amonio];
- añadir un ácido seleccionado del grupo que consiste en ácido fumárico, ácido orótico y ácido fosfórico en un disolvente apropiado para obtener la sal de 3-carboxi-N-etil-N,N-dimetilpropan-1-aminio correspondiente.

30

6. Un proceso de acuerdo con la reivindicación 5, en el que en la etapa a) el disolvente adecuado es acetonitrilo o acetona.

35



7. La sal de 3-carboxi-N-etil-*N,N*-dimetilpropan-1-aminio, seleccionada del grupo que consiste en dihidrogenofosfato, 2,6-dioxo-1,2,3,6-tetrahidropirimidin-4-carboxilato y (*2E*)-3-carboxiacrilato de 3-carboxi-N-etil-*N,N*-dimetilpropan-1-aminio para su uso como medicamento.
- 5 8. La sal de 3-carboxi-N-etil-*N,N*-dimetilpropan-1-aminio, seleccionada del grupo que consiste en dihidrogenofosfato, 2,6-dioxo-1,2,3,6-tetrahidropirimidin-4-carboxilato y (*2E*)-3-carboxiacrilato de 3-carboxi-N-etil-*N,N*-dimetilpropan-1-aminio para su uso en un método de tratamiento de enfermedades cardiovasculares.
- 10 9. El compuesto para su uso de acuerdo con la reivindicación 8, en el que la enfermedad cardiovascular es enfermedad isquémica del corazón.
10. El compuesto para su uso de acuerdo con la reivindicación 9, en el que la enfermedad isquémica es infarto de miocardio.