



DELEGATURA DE PROPIEDAD INDUSTRIAL

División de Nuevas Creaciones

SOLICITUD

PATENTE DE INVENCION

21. EXPEDIENTE No. _____

54. TÍTULO _____ USO DE 4-[ETIL (DIMETIL) AMONIO] BUTANOATO EN EL
_____ TRATAMIENTO DE ENFERMEDADES CARDIOVASCULARES

51. CLASIFICACIÓN INTERNACIONAL _____

71. SOLICITANTE _____ GRINDEKS, A JOINT STOCK COMPANY

DOMICILIO _____ RIGA, LETONIA

74. APODERADO _____ LUZ CLEMENCIA DE PAEZ
C.C. 35.456.344 de Usaquén

22. BOGOTÁ, D. C., _____



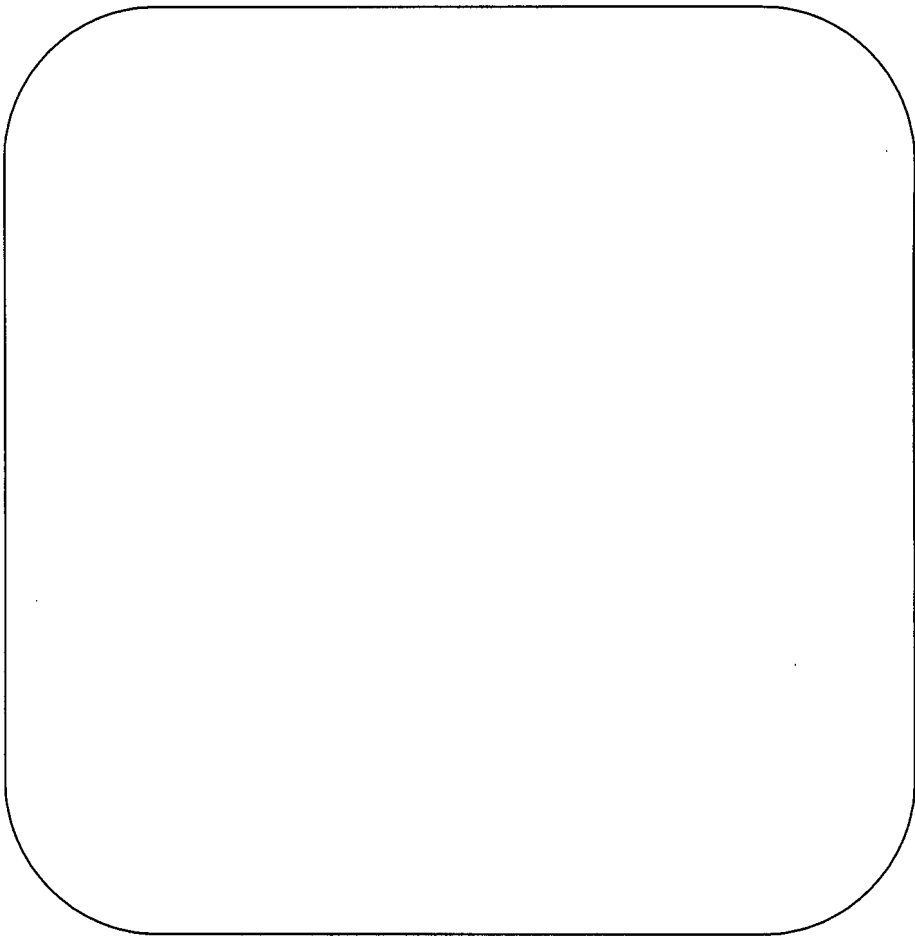
FORMULARIO UNICO DE SOLICITUD DE PATENTE
PCT
ENTRADA EN FASE NACIONAL

1 ☒ Patente de Invención. ☒ Capítulo I. ☐ Patente de Modelo de Utilidad. ☐ Capítulo II.		
2 SOLICITANTE (71)	Nombre: GRINDEKS, A JOINT STOCK COMPANY Sociedad constituida y existente bajo las leyes de Letonia. Dirección: 53, Krustpils street, LV-1057, Riga, Letonia Domicilio: Riga, Letonia	IDENTIFICACIÓN C.C. ☐ NIT ☐ C.E. ☐ Otro ☐ Cual _____ Número _____
3 REPRESENTANTE O APODERADO	Nombre: LUZ CLEMENCIA DE PAEZ Dirección: Carrera 4ª. No. 72-35 Teléfono: 347 36 11 Fax: 211 86 50 E-mail: clientes@cavelier.com Domicilio: Bogotá, Colombia.	IDENTIFICACIÓN C.C. ☒ NIT ☐ C.E. ☐ Otro ☐ Cual _____ Número <u>35.456.344</u> T.P <u>23.555</u>
4 INVENTOR (ES) (72)	1. Ivars KALVINS 21, Aizkarules Street, LV-1006 Riga, Letonia 2. Maija DAMBROVA 21, Aizkraukles street, LV-1006 Riga, Letonia 3. Edgars LIEPINS 21, Aizkarules street, LV-1006 Riga, Letonia 4. Osvalds PUGOVICS Ilmalas Street 10-35, LV-1004 Riga, Letonia 5. Reinis VILSKERSTS "Indras", Baldone, Rigas raj., Letonia 6. Janis KUKA K. Helmana Street 5-40., LV-3004 Jelgava, Letonia 7. Solveiga GRINBERGA Dienvidu 7/korp.3 dz50, LV-2169 Salaspils, Letonia 8. Einars LOZA Rēzeknes pulka Street, 17-65, LV-2010 Jurmala, Letonia	
5 PCT (86) Solicitud Internacional No. <u>PCT/EP2010/065924</u> Fecha: <u>22 de octubre de 2010</u> Publicación Internacional No. <u>WO 2011/048201 A1</u> Fecha: <u>28 de abril de 2011</u>		
6 Título (54) <u>USO DE 4-[ETIL(DIMETIL)AMONIO]BUTANOATO EN EL TRATAMIENTO DE ENFERMEDADES CARDIOVASCULARES</u>		

7 Clasificación Internacional (51) <u>C07C 229/012</u>			
8 Prioridad	(33) País de Origen	(32) Fecha	(31) Número de Solicitud
	SI ☒ NO ☐	<u>LV</u>	<u>22 de octubre de 2009</u>
9 Comprobante de pago No.: <u>12-0032562</u> Fecha: <u>02 de abril de 2012</u>			
10 Anexos:			
☒ Comprobante de pago de la tasa de presentación de la solicitud por \$ 590.000.oo. ☐ Comprobante de pago por reivindicaciones adicionales después de la décima reivindicación por. ☐ Documento que acredita la existencia y representación legal cuando el solicitante sea persona jurídica. ☐ Poder de ☐ Documento de cesión del inventor al solicitante o a su causante. ☐ Declaraciones. ☐ Copia de la solicitud internacional. (Resumen, descripción, reivindicaciones, dibujos) ☒ Copia de la carátula de la Publicación Internacional WO 2011/048201 A1. ☒ Traducción de la solicitud internacional al castellano. (Resumen, descripción, reivindicaciones, dibujos) ☐ Copia del examen preliminar efectuado por la IPEA. ☐ Traducción del examen preliminar efectuado por la IPEA. ☐ De ser el caso, copia del contrato de acceso. ☐ De ser el caso, documento que acredite la licencia o autorización de uso de conocimientos tradicionales de las comunidades indígenas. ☐ De ser el caso, certificado de depósito del material biológico. ☐ Arte final 12x12 ☐ De ser el caso, información sobre otras solicitudes de patente o títulos obtenidos en el extranjero por el mismo titular o su causante, relacionadas parcial o totalmente con la invención de esta solicitud. ☒ Otros: VER HOJA DE DOCUMENTOS ANEXOS			

11

FIGURA CARACTERÍSTICA



12

Solicito la concesión de la patente,

NOMBRE: LUZ CLEMENCIA DE PAEZ

FIRMA : Luz Clemencia de Paez

C.C. 35.456.344 de Usaquén T.P. 23.555

SCT

DOCUMENTOS ANEXOS

1. ☒ Publicación Internacional WO 2011/048201 A1

Descripción:

Páginas 11 en español

Reivindicaciones: Número (s) 10

Figuras: Número (s)

2. ☒ **Forma PCT//SA/210.** Informe de Búsqueda Internacional.

3.

4. ☒ Extracto de publicación.

**NO SE REALIZARON MODIFICACIONES EN LA FASE
INTERNACIONAL**

(12) INTERNATIONAL APPLICATION PUBLISHED UNDER THE PATENT COOPERATION TREATY (PCT)

(19) World Intellectual Property Organization
International Bureau



(43) International Publication Date
28 April 2011 (28.04.2011)

(10) International Publication Number
WO 2011/048201 A1

(51) International Patent Classification:
C07C 229/12 (2006.01) A61P 9/10 (2006.01)
A61K 31/14 (2006.01)

(21) International Application Number:
PCT/EP2010/065924

(22) International Filing Date:
22 October 2010 (22.10.2010)

(25) Filing Language: English

(26) Publication Language: English

(30) Priority Data:
P-09-181 22 October 2009 (22.10.2009) LV

(71) Applicant (for all designated States except US):
GRINDEKS, A JOINT STOCK COMPANY [LV/LV];
53, Krustpils street, LV-1057 Riga (LV).

(72) Inventors; and

(75) Inventors/Applicants (for US only): **KALVINS, Ivars** [LV/LV]; 21, Aizkarules street, LV-1006 Riga (LV). **DAMBROVA, Maija** [LV/LV]; 21, Aizkraukles street, LV-1006 Riga (LV). **LIEPINS, Edgars** [LV/LV]; 21, Aizkraukles street, LV-1006 Riga (LV). **PUGOVICS, Osvalds** [LV/LV]; Ilmalas Street 10-35, LV-1004 Riga (LV). **VILSKERSTS, Reinis** [LV/LV]; "Indras", Bal-done, Rigas raj., (LV). **KUKA, Janis** [LV/LV]; K. Helmana Street 5-40, LV-3004 Jelgava (LV). **GRINBERGA, Solveiga** [LV/LV]; Dienvidu 7/korp.3 dz50, LV-2169 Salaspils (LV). **LOZA, Einars** [LV/LV]; Rēzeknes pulka Street, 17-65, LV-2010 Jūrmala (LV).

(81) Designated States (unless otherwise indicated, for every kind of national protection available): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KM, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PE, PG, PH, PL, PT, RO, RS, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.

(84) Designated States (unless otherwise indicated, for every kind of regional protection available): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), Eurasian (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), European (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

Declarations under Rule 4.17:

— of inventorship (Rule 4.17(iv))

Published:

— with international search report (Art. 21(3))

— before the expiration of the time limit for amending the claims and to be republished in the event of receipt of amendments (Rule 48.2(h))

(54) Title: USE OF 4-[ETHYL(DIMETHYL)AMMONIO]BUTANOATE IN THE TREATMENT OF CARDIOVASCULAR DISEASE

(57) Abstract: New compound 4-[ethyl(dimethyl)ammonio]butanoate, method of preparation thereof and use in the treatment of cardiovascular disease.

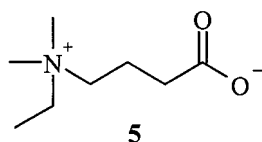
WO 2011/048201 A1

Descripción

Uso de 4-[etil(dimetil)amonio]butanoato en el tratamiento de enfermedades cardiovasculares

Ámbito técnico

5 La presente invención se refiere a un nuevo compuesto 4-[etil(dimetil)amonio]butanoato y a un método de preparación del mismo (compuesto de fórmula 5)



10 La presente invención se refiere también al uso de 4-[etil(dimetil)amonio]butanoato en el tratamiento de enfermedades cardiovasculares.

Antecedentes de la técnica

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

15 Unos 16,7 millones - o 29,2% del total de muertes en el mundo – son resultado de las diversas formas de enfermedades cardiovasculares (ECV).

El infarto de miocardio (ataque al corazón) es un resultado grave de una enfermedad arterial coronaria. El infarto de miocardio (IM) es la necrosis irreversible del músculo cardíaco secundario a isquemia prolongada. Un ataque al corazón o infarto de miocardio es una urgencia médica en la que el suministro de sangre al corazón se reduce repentina y severamente o se interrumpe causando la muerte del músculo por falta de oxígeno. Cada año más de 1,1 millones de personas sufren un ataque al corazón (infarto de miocardio) y para muchas de ellas, el ataque al corazón es el primer síntoma de una enfermedad arterial coronaria. Un ataque al corazón puede ser lo suficientemente grave como para causar la muerte o puede ser silencioso. Como mucho una de cada cinco personas tiene sólo síntomas leves o ninguno, y el ataque al corazón solo puede ser descubierto por un electrocardiograma rutinario realizado algún tiempo después.

30 Un ataque al corazón (infarto de miocardio) es causado generalmente por un coágulo de sangre que bloquea una arteria del corazón. Muchas veces la arteria ha sido reducida por depósitos de grasa en sus paredes. Estos depósitos pueden desprenderse o romperse reduciendo el flujo sanguíneo y liberando sustancias que hacen que las plaquetas de la sangre se hagan pegajosas y sean más propensas a formar coágulos. A veces un coágulo se forma en el interior del

35

propio corazón, y luego se desprende y se atasca en una arteria que irriga el corazón. Un espasmo en una de estas arterias hace que el flujo sanguíneo se interrumpa.

5 γ -butirotetina, desde la cual el organismo de los mamíferos sintetiza carnitina, se caracteriza principalmente como una sustancia tóxica que acelera la respiración, provoca la salivación y el lagrimeo, la dilatación de las pupilas, la vasoconstricción y la parada del corazón en la diástole **LINNEWEH, W.** Gamma-Butyrobetain, Crotonbetain und Carnitin im tierischen Stoffwechsel. *Hoppe-Seylers Zeitschrift für physiologische Chemie.* 1929, vol.181, p.42-53. Al mismo tiempo, en
10 trabajos posteriores de otros autores se ha comprobado que γ -butirotetina tiene una toxicidad extremadamente baja (DL50>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.

En la literatura no hay datos sobre los efectos cardiovasculares de
15 γ -butirotetina no sustituida, en **HOSEIN, E.A.** Pharmacological actions of γ -butyrobetaine. *Nature.* 1959, vol.183, p.328-329, se informa que γ -butirotetina es una sustancia similar a la acetilcolina con una acción prolongada. Sin embargo, más tarde los mismo autores informaron que había ocurrido un error durante los experimentos y que no γ -butirotetina, sino su metil éter tiene de hecho las
20 propiedades colinérgicas. En contrario a lo primero, γ -butirotetina se caracterizó como una sustancia farmacológicamente inerte **HOSEIN, E.A.** Isolation and probable functions of betaine esters in brain metabolism. *Nature.* 1960, vol.187, p.321-322.

Como compuestos estructuralmente relacionados con 4-[etil(dimetil)amonio] butanoato, han sido revelados:

- 25 ○ **GB 1238868** A 14.07.1971 - han sido reveladas las betainas, tales como 4-trimetilamonibutanoato, utilizadas para polímeros. Sin embargo, las propiedades farmacológicas de estas betainas no se presentaron;
- 30 ○ **US 5973026** A (XEROX CORP) 26.10.1999 - han sido revelados 4-trimetilamonibutanoato y 3-[dietil(metil)amonio]propionato para la utilización en las 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,
35 p.507-511 - revelado 2-[etil(dimetil)amonio]acetato utilizado 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, n.26, p.9710-9715 - revelado 4-[dialilo(metil)amonio]butanoato y su síntesis a partir de

○ *Prelog V.* 1930, vol.2, p.712-722 - revelada la síntesis de 4-trimetilamoniobutanoato a partir de 4-dimetilamoniobutanoato y yoduro de metilo;

○ 4-trimetilamoniobutanoato y su síntesis a partir de trimetilamina y 4-bromobutanoato de etilo ha sido descrito en **JP 2009096766 A** (KONAN GAKUEN) 07.05.2009. El ácido libre fue obtenido a partir del éster en una segunda etapa utilizando la resina de intercambio iónico Amberlite;

○ **WO 2008/055843 A** (KALVINSH IVARS; CHERNOBROVIJS ALEKSANDRS; VARACHEVA LARISA; PUGOVICH OSVALDS) 15.05.2008 - han sido descritos 4-trimetilamoniobutanoato y la síntesis a partir del éster correspondiente y utilizando la solución de KOH;

○ **CA 2508094 A** (VIVIER CANADA INC) 20.11.2006 - han sido reveladas las betaínas, tales como 4-trimetilamoniobutanoato, para la utilización como fármaco para acelerar la síntesis del colágeno;

○ **US 5965615 A** (TAIHO PHARMACEUTICAL CO LTD; VALSTS ZINATNISK IESTADE BEZP) 12.10.1999 - ha sido revelado 4-trimetilamoniobutanoato como fármaco para el tratamiento de trastornos metabólicos de miocardio, el mismo compuesto ha sido descrito en **US 2007191381 A** (CONCERT PHARMACEUTICALS INC) 16.08.2007 para el tratamiento del infarto de miocardio.

Dihidrato de 3- (2,2,2-trimetilhidrazinio)propionato se conoce como un compuesto con propiedades cardiprotectoras (esta sustancia es conocida por su denominación común internacional como "meldonium"). 3- (2,2,2-trimetilhidrazinio)propionato ha sido revelado en **US 4481218** (INST ORGANICHESKOGO SINTEZA) 06.11.1984, así como en **US 4451485 A** (INSTITU ORCH SINTEZA AKADEMII) 29.05.1984.

Es bien conocido que 3- (2, 2,2-trimetilhidrazinio)propionato como dihidrato es ampliamente utilizado para el control de la carnitina y del coeficiente de concentración de la gamma-butirotetaina y por lo tanto para el control de la

velocidad de la beta-oxidación de ácidos grasos en el cuerpo **DAMBROVA M., LIEPINSH 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, meldonio se aplica ampliamente en la medicina como un fármaco antiisquémico, de protección de la tensión nerviosa y de protección cardiovascular en el tratamiento de diversas enfermedades cardiovasculares y otras patologías que incluyen la 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 de 3-(2,2,2-trimetilhidrazinio)propionato se basa en la limitación del coeficiente de biosíntesis de la carnitina y en la limitación del transporte de ácidos grasos de cadena larga a través de membranas mitocondriales **SIMKHOVICH B.Z., SHUTENKO Z.V., MEIRENA D.V., KHAGI K.B., MEZHAPUKE R.J., MOLODCHINA T.N., KALVINS I.J., LUKEVICS E.**

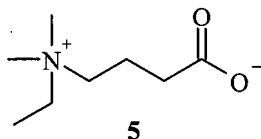
3-(2,2,2,-trimetilhidrazinio)propionato (THP) – un novedoso inhibidor de la hidroxilasa de la gamma-butirotbetaína con propiedades cardioprotectoras. *Biochemical Pharmacology*. 1988, vol.37, p.195-202. , **KIRIMOTO T., ASAKA N., NAKANO M., TAJIMA K., MIYAKE H., MATSUURA N.** Efectos beneficiosos de MET-88, un inhibidor de la hidroxilasa de la γ -butirotbetaína en ratas con insuficiencia cardíaca tras un infarto de miocardio. *European Journal of Pharmacology*. 2000, vol.395, no.3, p.217-224.

25 **Resumen de la invención**

Se sabe que el meldonio dihidrato tiene un efecto cardioprotector; sin embargo, no hay datos de que la propia γ -butirotbetaína tiene un efecto cardioprotector pronunciado. En el patente **EP 0845986 B** (KALVINSH IVARS, VEVERIS MARIS) 02.04.2003 se revela la composición farmacéutica del meldonio dihidrato y de la γ -butirotbetaína para su uso en el tratamiento de enfermedades cardiovasculares.

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

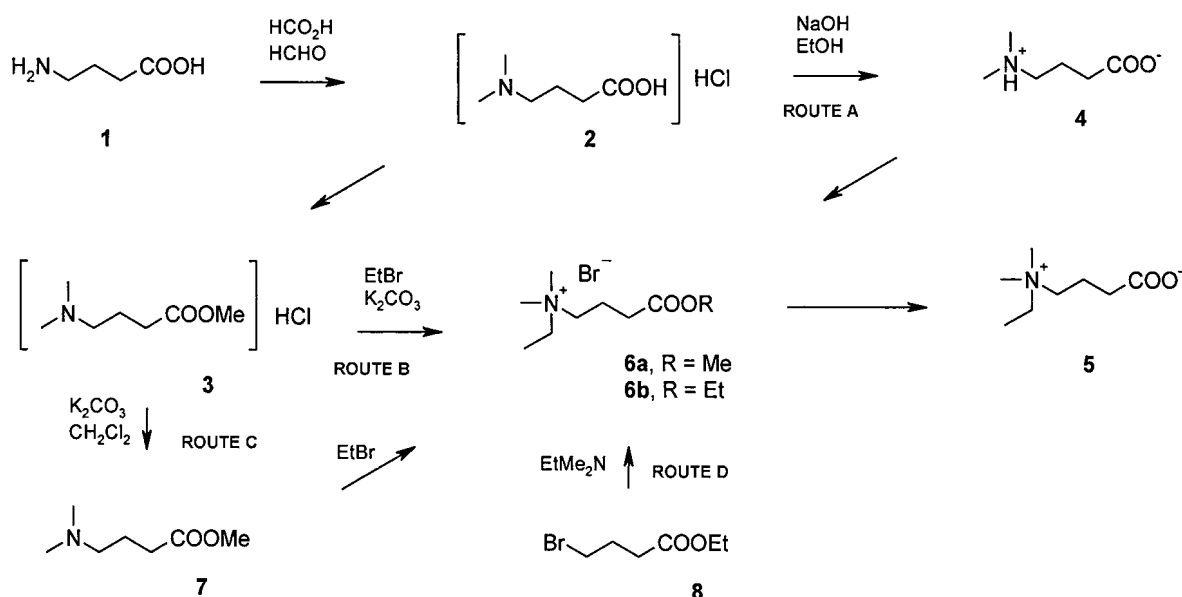
El objeto arriba mencionado se logra proporcionando un nuevo compuesto 4-[etil(dimetil)amonio]butanoato (compuesto de fórmula 5) que tiene una estructura similar a la de meldonio o de γ -butirotbetaína.



Para nuestra sorpresa, 4-[etil(dimetil)amonio]butanoato tiene un efecto cardioprotector pronunciado y es más eficaz que el meldonio de dihidrato *in vivo* de modelos del infarto de miocardio, debido a estas propiedades, el 4-[etil(dimetil)amonio] butanoato puede ser utilizado en la medicina. 4-[etil(dimetil)amonio]butanoato puede ser utilizado como una solución para inyecciones o en forma de comprimidos.

El siguiente objeto de la presente invención es un método de preparación del mencionado compuesto de formula 5.

Aquí se describen cuatro procesos que pueden ser utilizados para la preparación del compuesto deseado de 4-[etil(dimetil)amonio] butanoato de formula 5, véase el esquema de abajo.



El primer proceso (Ruta A) consiste en los siguientes pasos del proceso:

- a) añadir bromuro de etilo a 4-(dimetilamonio)butanoato para producir bromuro de *N*-etil-4-metoxi-*N,N*-dimetil-4-oxo-1-butanaminio;
- b) tratar bromuro de *N*-etil-4-metoxi-*N,N*-dimetil-4-oxo-1-butanaminio con hidróxido de potasio para obtener el compuesto deseado 4-[etil(dimetil)amonio] butanoato.

El segundo proceso (Ruta B) consiste en los siguientes pasos del proceso:

- a) añadir carbonato de potasio y brometano al cloruro de 4-metoxi-*N,N*-dimetil-4-oxo-1-butanaminio para producir bromuro de *N*-etil-4-metoxi-*N,N*-dimetil-4-oxo-1-butanaminio;

b) pasar bromuro de *N*-etil-4-metoxi-*N,N*-dimetil-4-oxo-1-butanaminio por una columna de resina de intercambio iónico para obtener 4-[etil(dimetil)amonio] butanoato.

5 El tercer proceso (Ruta C) consiste en los siguientes pasos del proceso:

a) añadir carbonato de potasio y diclorometano al cloruro de 4-metoxi-*N,N*-dimetil-4-oxo-1-butanaminio para producir metil-4-(dimetilamino)butanoato;

10 b) agitar metil-4-(dimetilamino)butanoato con bromoetano en diclorometano para obtener bromuro de *N*-etil-4-metoxi-*N,N*-dimetil-4-oxo-1-butanaminio;

c) tratar bromuro de *N*-etil-4-metoxi-*N,N*-dimetil-4-oxo-1-butanaminio con hidróxido de potasio para obtener el compuesto deseado 4-[etil(dimetil)amonio] butanoato.

15

El cuarto proceso (Ruta D) consiste en los siguientes pasos del proceso:

a) añadir *N,N*-dimetiletilamino a 4-bromobutanoato de etilo en diclorometano para obtener bromuro de 4-etoxi-*N*-etil-*N,N*-dimetil-4-oxo-1-butanaminio;

20 b) pasar bromuro de 4-etoxi-*N*-etil-*N,N*-dimetil-4-oxo-1-butanaminio por una columna de resina de intercambio iónico para obtener 4-[etil(dimetil)amonio] butanoato.

Descripción de la realización

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

SÍNTESIS DE 4-[ETIL(DIMETIL)AMONIO]BUTANOATO (5)

30 Preparación de cloruro de 4-metoxi-*N,N*-dimetil-4-oxo-1-butanaminio (3)

A una solución de cloruro de 3-carboxi-*N,N*-dimetil-1-propanaminio (2) (45,93 g, 0,27 moles) en metanol anh. (300 ml) a (-10)-0°C se añadió lentamente el cloruro de tionilo (55 ml, 0,76 moles) y la mezcla reactiva se agitó durante una hora a temperatura ambiente. Después, la mezcla reactiva se agitó a 40-50°C durante 3 horas y se evaporó. El residuo se disolvió en acetona (110 ml) y se precipitó añadiendo éter (400 ml). El sólido se filtró, se lavó con éter y una vez más se disolvió en acetona (110 ml), después se precipitó con éter (400 ml). El

precipitado se filtró, se lavó con éter y se secó para dar 38,4 g (77%) de cloruro de 4-metoxi-*N,N*-dimetil-4-oxo-1-butanaminio.

^1H NMR (DMSO- d_6 , HMDSO) δ : 1,91 (qui, $J=7,7$ Hz, 2H); 2,43 (t, $J=7,74$ Hz, 2H); 2,71 (d, $J=4,9$ Hz, 6H); 2,98-3,06 (m, 2H), 3,61 (s, 3H); 10,76 (b s, 1H).

5

Ruta A

Preparación de 4-[etil(dimetil)amonio]butanoato (5)

Una mezcla de 4-(dimetilamonio)butanoato (4) (7,87 g, 0,06 moles) y bromuro de etilo (13,08 g, 0,12 moles) en acetona anhidra (20 ml) se sometió a reflujo hasta que el material de salida 4-(dimetilamonio)butanoato se desapareció (control TLC, hidróxido de amonio metanólico-acuoso, 3:1). La mezcla reactiva se completó con isopropanol (100 ml) y la solución se evaporó a sequedad. Una solución de solución de KOH (7,28 g, 0,13 moles) en 96% de etanol (70 ml) se añadió al residuo a 0°C y la mezcla reactiva se agitó durante 4 horas. El precipitado se separó por filtración y el filtrado se trató con HCl 2 N en metanol hasta que el pH del medio fue 7-8. La mezcla reactiva se mantuvo a -18°C durante 12 horas y se filtró. El filtrado se evaporó a sequedad y el residuo se secó azeotrópicamente con isopropanol (3 x 100 ml). El sólido aceitoso obtenido (13,4 g) se disolvió en isopropanol (100 ml) y se mantuvo a -18°C durante 12 horas. El precipitado se filtró y el filtrado se evaporó a sequedad y se cristalizó en acetona (30 ml) a -18°C para dar 4,14 g (43%) de 4-[etil(dimetil)amonio]butanoato.

^1H NMR (DMSO- d_6 , HMDSO) δ : 1,24 (t, $J=7,3$ Hz, 3H); 1,68-1,78 (m, 2H); 1,87 (t, $J=6,5$ Hz, 2H); 2,96 (s, 6H); 3,16-3,23 (m, 2H); 3,29 (q, $J=7,3$ Hz, 2H). LC ESI-MS (m/z): 160 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

Cálculo anal. para $\text{C}_8\text{H}_{17}\text{NO}_2 \cdot 1,3 \text{H}_2\text{O}$: C 52,61, H 10,82, N 7,67.
Encontrado: C 52,64, H 11,00, N 7,58

Ruta B

Preparación de bromuro de *N*-etil-4-metoxi-*N,N*-dimetil-4-oxo-1-butanaminio (6a)

Una mezcla de cloruro de 4-metoxi-*N,N*-dimetil-4-oxo-1-butanaminio (3) (7,27 g, 0,04 moles), anhidro K_2CO_3 (5,52 g, 0,04 moles) y bromoetano (4,48 ml, 0,06 moles) en acetona (40 ml) se agitó vigorosamente a temperatura ambiente durante 2 días. El precipitado se filtró, se lavó con acetona, se suspendió en isopropanol (100 ml) y se agitó vigorosamente a temperatura ambiente durante 2 horas. La mezcla se filtró, el filtrado se evaporó a sequedad y se secó azeotrópicamente varias veces con isopropanol. El residuo se cristalizó en acetona (10 ml) mediante

la adición de acetato de etilo (35 ml) y se secó al vacío sobre P_2O_5 para dar 6,51 g (64%) de bromuro de *N*-etil-4-metoxi-*N,N*-dimetil-4-oxo-1-butanaminio.

^1H NMR ($CDCl_3$, HMDSO) δ : 1,44 (t, $J=7,2$ Hz, 3H); 2,01-2,12 (m, 2H); 2,55 (t, $J=6,6$ Hz, 2H); 3,40 (s, 6H); 3,66-3,73 (m, 4H); 3,69 (s, 3H).

5 LC ESI-MS (m/z): 174 $[M+H]^+$.

Cálculo anal. para $C_9H_{20}BrNO_2 \cdot 0,09 H_2O$: C 42,26, H 7,95, N 5,48.

Encontrado: C 42,26, H 8,28, N 5,35.

Preparación de 4-[etil(dimetil)amonio]butanoato (5)

10 Una solución de bromuro de *N*-etil-4-metoxi-*N,N*-dimetil-4-oxo-1-butanaminio (6a) (6,51 g, 0,025 moles) en etanol (20 ml) se pasó por una columna de resina de intercambio iónico Amberlite® IRA-410 (OH) (190 ml) eluyéndose lentamente con etanol (100 ml). El eluato se evaporó a sequedad y el residuo se secó azeotrópicamente varias veces con isopropanol, después de disolvió en

15 isopropanol (50 ml) y se mantuvo a 0°C durante 12 horas. La mezcla se filtró y el filtrado se evaporó. El residuo (7,35 g) se mezcló con acetato de etilo frío y se mantuvo a 0°C durante 12 horas. La mezcla se filtró y el precipitado se secó al vacío sobre P_2O_5 para proporcionar 3,54 g (86%) de 4-[etil(dimetil)amonio]butanoato. La pureza del material se incrementó al pasar una

20 solución de agua de 4-[etil(dimetil)amonio] butanoato a través de la resina de intercambio iónico DOWEX® 50WX8. La solución se evaporó a sequedad; el residuo se secó azeotrópicamente con isopropanol y seguidamente se secó al vacío sobre P_2O_5 para dar 1,27 g (31%) de 4-[etil(dimetil)amonio]butanoato.

25 Ruta C

Preparación de metilo de 4-(dimetilamino)butanoato (7)

Una suspensión de cloruro de 4-metoxi-*N,N*-dimetil-4-oxo-1-butanaminio (3) (5,44 g, 0,03 moles) y anhídrido K_2CO_3 (5,52 g, 0,04 moles) en diclorometano (70 ml) se agitó vigorosamente a temperatura ambiente durante 24 horas. El

30 precipitado se filtró, se lavo con diclorometano, y el filtrado se evaporó. El residuo se destiló a 32-35°C / 3-4 mm Hg para dar 2,88 g (66%) de 4-(dimetilamino)butanoato.

^1H NMR ($DMSO-d_6$, HMDSO) δ : 1,64 (qui, $J=7,2$ Hz, 2H); 2,09 (s, 6H); 2,17 (t, $J=7,1$ Hz, 2H); 2,30 (t, $J=7,4$ Hz, 2H); 3,57 (s, 3H).

35 Preparación de bromuro de *N*-etil-4-metoxi-*N,N*-dimetil-4-oxo-1-butanaminio (6a)

Una mezcla de metilo de 4-(dimetilamino)butanoato (**7**) (1,45 g, 10 mmoles) y bromoetano (1,2 ml, 16 mmoles) en diclorometano (15 ml) se agitó a temperatura ambiente. La mezcla reactiva se evaporó a sequedad, el sólido blanco (2,438 g) se trituró con acetona, se filtró y se secó al vacío sobre P₂O₅ para dar 2,397 g (94%) de bromuro de *N*-etil-4-metoxi-*N,N*-dimetil-4-oxo-1-butanaminio.

Ruta D

Preparación de bromuro de 4-etoxi-*N*-etil-*N,N*-dimetil-4-oxo-1-butanaminio (**6b**)

A una solución de 4-bromobutanoato de etilo (**8**) (19,5 g, 0,1 mol) en diclorometano a temperatura del baño de hielo se añadió *N,N*-dimetiletilamina (10,8 ml, 0,1 mol) y se agitó a temperatura ambiente durante la noche. La mezcla reactiva se evaporó a sequedad, el residuo se trituró con acetona (50 ml) y se mantuvo a 0°C durante 0,5 horas. El precipitado se filtró y se secó al vacío sobre P₂O₅ para dar 22,274 g (94%) de bromuro de 4-etoxi-*N*-etil-*N,N*-dimetil-4-oxo-1-butanaminio.

¹H NMR (CDCl₃, 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).

Preparación de 4-[etil(dimetil)amonio]butanoato (**5**)

Una solución de bromuro de 4-etoxi-*N*-etil-*N,N*-dimetil-4-oxo-1-butanaminio (**6b**) (12,00 g, 44,7 mmoles) en agua (10 ml) se pasó por una columna de resina de intercambio iónico Amberlite® IRA-410 (OH) (250 ml) eluyéndose lentamente (aprox. 10 gotas/min) con etanol (control TLC). El eluado se evaporó y el residuo (12 g) se disolvió en agua (50 ml). A esta solución se le añadió la resina de intercambio iónico DOWEX® 50WX8 (5 g) y se agitó a temperatura ambiente durante 0,5 horas. La mezcla reactiva se filtró a través de celita (1 cm) y el eluato se evaporó a sequedad. 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 horas. El precipitado se filtró y se secó al vacío sobre P₂O₅ para dar 4,65 g (65%) de 4-[etil(dimetil)amonio]butanoato.

¹H NMR (DMSO-d₆, 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). LC ESI-MS (*m/z*): 160 [M+H]⁺.

Cálculo anal. para C₈H₁₇NO₂ · 1,55 H₂O: C 51,34; H 10,82; N 7,48.

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

Actividad cardioprotectora

Cincuenta ratas Wistar machos de 10 semanas de edad, con un peso de 200-250 g, fueron mantenidos en condiciones estándar (21-23°C, 12 horas del ciclo luz-oscuridad) con acceso ilimitado al alimento (dieta R3, Lactamin AB, Suecia) y agua.

Las ratas fueron adaptadas a las condiciones locales 2 semanas antes del comienzo del tratamiento. El meldonio dihidrato a una dosis de 5 mg/kg o 100 mg/kg, la gamma-butirotetina a una dosis de 5 mg/kg y EG a una dosis de 20mg/kg fueron administrados por vía oral diariamente durante 8 semanas. Las ratas del grupo de control recibieron agua.

Estudio del infarto de corazón en ratas aisladas

El experimento con el corazón en ratas aisladas fue realizado básicamente del modo descrito anteriormente (Liepinsh et al., *J. Cardiovasc. Pharmacol.* **2006**; 48(6):314-9). Veinticuatro horas después de la última administración de fármacos, los corazones se extirparon y se perfundieron retrógradamente a través de la aorta a una presión constante utilizando buffer de Krebs-Henseleit oxigenado a 37°C. La frecuencia cardíaca, la presión final diastólica del ventrículo izquierdo y la presión desarrollada del ventrículo izquierdo se registraron de forma continua. El flujo coronario se midió utilizando un detector de flujo por ultrasonido (HSE) y el sistema PowerLab 8 /30 de ADInstruments. Los corazones se perfundieron durante 20 minutos para estabilizar las funciones hemodinámicas, y después se realizó la oclusión durante 60 minutos mediante la constricción de los hilos a través de un tubo de plástico. El éxito de la oclusión se confirmó con una disminución del flujo coronario en un 40 por ciento. La reperfusión se logró mediante la liberación de los hilos. Al final del período de reperfusión de 150 minutos, la zona de riesgo se delineó con solución azul de metileno al 0,1%. Luego los corazones se seccionaron transversalmente desde el vértice hasta la base en cinco fragmentos con un grosor de 2 mm y se incubaron en cloruro de trifeniltetrazolio al 1% en buffer de fosfato (pH 7,4, 37°C) durante 10 minutos para teñir el tejido viable de rojo y el tejido necrótico, de blanco. El análisis planimétrico computarizado de fotogramas hechos con Sony A900 se realizó mediante el software Image-Pro Plus 6.3 para determinar el área de riesgo y el área de necrosis expresadas en porcentaje del ventrículo izquierdo. Los valores obtenidos se utilizaron para calcular el tamaño del infarto (TI) como porcentaje del área de riesgo de acuerdo con la formula:

Tamaño del Infarto = Área de Necrosis/Área de Riesgo x 100%.

Efectos del modelo del infarto de corazón en ratas aisladas

El efecto antiinfarto de sustancias examinadas se investigó en un modelo del infarto de miocardio en ratas aisladas. Durante la oclusión de la arteria coronaria izquierda, el flujo coronario en todos los grupos del experimento se redujo en un 40% (de 11 ml/min a 7 ml/min). Además, se observó la caída de presión desarrollada del ventrículo izquierdo en un 50%. La frecuencia cardíaca durante el período de la oclusión no ha cambiado significativamente. En la fase de reperfusión, el flujo coronario, la presión desarrollada del ventrículo izquierdo, $\pm dp/dt$ de valores se recuperaron hasta un 80% de nivel de control. No hubo diferencias significativas entre los grupos de control y de tratamiento.

Efectos de meldonio dihidrato (5 mg/kg y 100 mg/kg), gamma-butirotetaina (5mg/kg) y 4-[etil(dimetil)amonio]butanoato (EG) (5 mg/kg) después de 2 semanas del tratamiento del tamaño de infarto en el experimento del infarto de miocardio en ratas aisladas se presentan en la *Tabla 1*.

Tabla 1
Efectos de meldonio dihidrato, gamma-butirotetaina y EG en el tamaño del infarto

	Tamaño del infarto, % de control
Control	100,0±5
Meldonio dihidrato 5 mg/kg	95±9
Meldonio dihidrato 100 mg/kg	76±10*
Gamma-butirotetaina 5 mg/kg	90±5
EG 5 mg/kg	59±6*

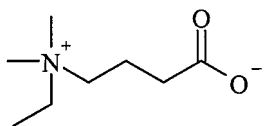
Cada valor representa la media $\pm$ s.e.m. de 9-10 animales.

*Diferencia significativa del grupo de control (t-test $P < 0.05$),

Como muestra la *Tabla 1*, el tratamiento con meldonio dihidrato a una dosis de 5 mg/kg disminuyó el tamaño del infarto en un 5%, la actividad terapéutica de meldonio dihidrato se observó sólo a 100 mg/kg, cuando el tamaño del infarto se redujo en un 24%. La gamma-butirotetaina a una dosis de 5 mg/kg no tuvo ningún efecto terapéutico. 4-[etil(dimetil)amonio]butanoato a una dosis de 5 mg/kg mostró el mejor efecto terapéutico disminuyendo el tamaño del infarto en un 41%.

REIVINDICACIONES

1. 4-[Etil(dimetil)amonio]butanoato



2. Un proceso de preparación de 4-[etil(dimetil)amonio]butanoato comprende:

- a) añadir bromuro de etilo a 4-(dimetilamonio)butanoato en acetona para producir bromuro de *N*-etil-4-metoxi-*N,N*-dimetil-4-oxo-1-butanaminio;
- b) tratar bromuro de *N*-etil-4-metoxi-*N,N*-dimetil-4-oxo-1-butanaminio con solución de hidróxido potásico en etanol para obtener el compuesto deseado de 4-[etil(dimetil)amonio] butanoato.

3. Un proceso de preparación de 4-[etil(dimetil)amonio]butanoato comprende:

- a) añadir carbonato de potasio y bromoetano a cloruro de 4-metoxi-*N,N*-dimetil-4-oxo-1-butanaminio en acetona para producir bromuro de *N*-etil-4-metoxi-*N,N*-dimetil-4-oxo-1-butanaminio;
- b) pasar bromuro de *N*-etil-4-metoxi-*N,N*-dimetil-4-oxo-1-butanaminio en presencia de etanol por una columna de resina de intercambio iónico para obtener 4-[etil(dimetil)amonio] butanoato.

4. Un proceso de preparación de 4-[etil(dimetil)amonio]butanoato comprende:

- a) añadir carbonato de potasio y diclorometano a cloruro de 4-metoxi-*N,N*-dimetil-4-oxo-1-butanaminio para producir metil-4-(dimetilamino)butanoato;
- b) agitar metil-4-(dimetilamino)butanoato con bromoetano en diclorometano para obtener bromuro de *N*-etil-4-metoxi-*N,N*-dimetil-4-oxo-1-butanaminio;
- c) tratar bromuro de *N*-etil-4-metoxi-*N,N*-dimetil-4-oxo-1-butanaminio con solución de hidróxido potásico en etanol para obtener el compuesto deseado 4-[etil(dimetil)amonio] butanoato.

5. Un proceso de preparación de 4-[etil(dimetil)amonio]butanoato comprende:

- a) añadir *N,N*-dimetiletilamino a etil 4-bromobutanoato en diclorometano para obtener bromuro de 4-etoxi-*N*-etil-*N,N*-dimetil-4-oxo-1-butanaminio;
- b) pasar bromuro de 4-etoxi-*N*-etil-*N,N*-dimetil-4-oxo-1-butanaminio disuelto en agua por una columna de resina de intercambio iónico para obtener 4-[etil(dimetil)amonio] butanoato.

6. 4-[Etil(dimetil)amonio]butanoato para su uso como medicamento.

7. 4-[Etil(dimetil)amonio]butanoato para su uso en el tratamiento de enfermedades cardiovasculares

5

8. Uso de 4-[etil(dimetil)amonio]butanoato para la fabricación de un medicamento para el tratamiento de enfermedades cardiovasculares.

10

9. Uso de 4-[etil(dimetil)amonio]butanoato de acuerdo con la reivindicación 8 para la fabricación de un medicamento para el tratamiento de enfermedades cardíacas isquémicas.

10. Uso de acuerdo con la reivindicación 9 donde una enfermedad cardíaca isquémica es un infarto de miocardio.

15

RESUMEN

Nuevo compuesto 4-[etil(dimetil)amonio]butanoato, método de preparación del mismo y su uso en el tratamiento de enfermedades cardiovasculares.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No

PCT/EP2010/065924

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

INV. C07C229/12 A61K31/14 A61P9/10
ADD.

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

C07C A61K

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

EPO-Internal, CHEM ABS Data

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	US 5 965 615 A (KALVINSH IVARS [LV] ET AL) 12 October 1999 (1999-10-12) cited in the application column 1, line 15; claims 3,4 column 2, line 32 - line 38 -----	1-10
A	WO 97/06794 A1 (KALVINSH IVARS [LV]; VEVERIS MARIS [LV]) 27 February 1997 (1997-02-27) cited in the application * abstract -----	1-10

☐

Further documents are listed in the continuation of Box C.

☒

See patent family annex.

* Special categories of cited documents :

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier document but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

7 February 2011

Date of mailing of the international search report

15/02/2011

Name and mailing address of the ISA/

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040,
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Scheid, Günther

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No

PCT/EP2010/065924

Patent document cited in search report		Publication date	Patent family member(s)	Publication date
US 5965615	A	12-10-1999	EP 0781554 A1	02-07-1997
			WO 9704767 A1	13-02-1997
			JP 3119430 B2	18-12-2000
			JP 10095731 A	14-04-1998

WO 9706794	A1	27-02-1997	AT 235901 T	15-04-2003
			CA 2229228 A1	27-02-1997
			DE 69627160 D1	08-05-2003
			DE 69627160 T2	12-02-2004
			EP 0845986 A1	10-06-1998
			ES 2196167 T3	16-12-2003
			JP 3072858 B2	07-08-2000
			JP 10512286 T	24-11-1998
			LV 11728 B	20-08-1997
			US 5859056 A	12-01-1999

 Industria y Comercio SUPERINTENDENCIA		SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO DIVISION DE NUEVAS CREACIONES EXTRACTO PARA PUBLICACIÓN SOLICITUD DE PATENTE DE INVENCION PCT	
(21) N° de solicitud:		(51) Int Cl: C07C 229/012	
22) Fecha de solicitud:		(71) Solicitante(s) GRINDEKS, A JOINT STOCK COMPANY	
(30) Prioridad	(31) Prioridad P-09-181	(32) Fecha 22/10/2009	(33) País LV
		(72) Inventor(es) IVARS KALVINS Y OTROS	
		(74) Apoderado: LUZ CLEMENCIA DE PAEZ	
(85)	Fecha limite inicio fase nacional: 22/05/2012		(87) Publicación internacional
(86)	Datos relativos a la presentación de la solicitud PCT		Fecha: 28/04/2011
	Fecha de presentación de la solicitud: 22/10/2010		N° publicación: WO 2011/048201 A1
	No. de solicitud PCT/EP2010/065924		
(54) Título: USO DE 4-[ETIL(DIMETIL)AMONIO]BUTANOATO EN EL TRATAMIENTO DE ENFERMEDADES CARDIOVASCULARES			

Resumen:

Nuevo compuesto 4-[etil(dimetil)amonio]butanoato, método de preparación del mismo y su uso en el tratamiento de enfermedades cardiovasculares.

Sede Centro: Carrera 13 No. 27 - 00 Pisos 3,4,5 y 10 Bogotá, D.C.- Colombia



No. 12-065428- -00000-0000

Fecha: 2012-04-20 11:51:53 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI
Act. 411 PRESENTACION Folios: 23

PATENTE DE INVENCION ☐

MODEL

- ☐ Indicación que se solicita una patente.
- ☐ Datos de identificación del solicitante o de la persona que presenta la solicitud
- ☐ Descripción de la invención
- ☐ Dibujos de ser estos pertinentes
- ☐ Comprobante de pago de las tasas establecidas (De ser el caso formato de descuento)
- Completa ☐ Incompleta ☐

PATENTE DE INVENCION PCT ☒

MODELO DE UTILIDAD PCT ☐

Art.33 Decisión 486/00, Circular Única

- ☒ Indicación que se solicita una PCT
- ☒ Copia de la solicitud en español, tal como fue presentada inicialmente (capítulo descriptivo, reivindicatorio, resumen)
- ☐ Dibujos de ser estos pertinentes
- ☒ Comprobante de pago de las tasas establecidas (de ser el caso formato de descuento)
- Completa ☒ Incompleta ☐

DISEÑO INDUSTRIAL ☐

(Art. 119 Decisión 486/00)

- ☐ Indicación que se solicita Diseño industrial
- ☐ Datos de identificación del solicitante o de la persona que presenta la solicitud
- ☐ Representación gráfica y fotográfica del Diseño industrial o muestra del material que incorpora el diseño
- ☐ Comprobante de pago de las tasas establecidas
- Completa ☐ Incompleta ☐

ESQUEMA DE TRAZADO ☐

(Art. 92 Decisión 486/00)

- ☐ Indicación que se solicita un esquema de trazado
- ☐ Datos de identificación del solicitante o de la persona que presenta la solicitud
- ☐ Representación gráfica de un esquema de trazado
- ☐ Comprobante de pago de las tasas establecidas
- Completa ☐ Incompleta ☐