



(12) BẢN MÔ TẢ SÁNG CHẾ THUỘC BẢNG ĐỘC QUYỀN SÁNG CHẾ

(19) Cộng hòa xã hội chủ nghĩa Việt Nam (VN)
CỤC SỞ HỮU TRÍ TUỆ

(11)



1-0024015

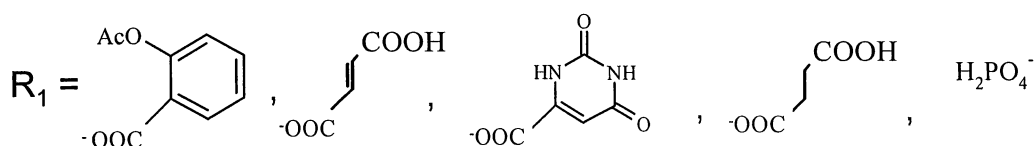
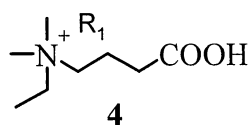
(51)⁷ C07C 55/10; A61K 31/205; A61K 31/513; A61K 31/616; A61P 9/00; C07D 239/557; C07C 229/12; C07C 57/15; C07C 69/86; A61K 31/197; C07C 227/18 (13) B

(21) 1-2013-03729 (22) 27/04/2012
(86) PCT/EP2012/057806 27/04/2012 (87) WO2012/146736 01/11/2012
(30) 11163839.1 27/04/2011 EP; 11163840.9 27/04/2011 EP; 11163872.2 27/04/2011 EP; 11163871.4 27/04/2011 EP; 11163841.7 27/04/2011 EP
(45) 25/06/2020 387 (43) 25/04/2014 313A
(73) GRINDEKS, A JOINT STOCK COMPANY (LV)
53, Krustpils street, LV-1057 Riga, Latvia
(72) Ivars KALVINS (LV); Edgars LIEPINS (LV); Einars LOZA (LV); Maija DAMBROVA (LV); Ilmars STONANS (LV); Daina LOLA (LV); Janis KUKA (LV); Osvalds PUGOVICS (LV); Reinis VILSKERSTS (LV); Solveiga GRINBERGA (LV)
(74) Công ty TNHH Lê & Lê (LE & LE)

(54) MUỐI 3-CARBOXY-N-ETYL-N,N-ĐIMETYLPROPAN-1-AMINI ĐỂ DÙNG TRONG ĐIỀU TRỊ BỆNH TIM MẠCH VÀ QUY TRÌNH ĐIỀU CHẾ NÓ
(57) Sáng chế đề cập đến muối 3-carboxy-N-etyl-N,N-đimetylpropan-1-amini để dùng trong điều trị bệnh tim mạch và quy trình điều chế nó.

Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập

Sáng chế đề cập đến muối 3-carboxy-N-ethyl-N,N-dimethylpropan-1-amini, và quy trình điều chế nó (hợp chất có công thức 4).



Sáng chế cũng mô tả đến muối 3-carboxy-N-ethyl-N,N-dimethylpropan-1-amini dùng để điều trị các bệnh tim mạch.

Tình trạng kỹ thuật của sáng chế

Các bệnh về tim mạch (Cardiovascular diseases - CVDs) là một nhóm các rối loạn về tim và các mạch máu.

Ước tính có khoảng 16,7 triệu, hay 29,2% tổng số người tử vong trên toàn thế giới, là do các biến chứng khác nhau của bệnh tim mạch (CVD). Bệnh nhồi máu cơ tim (con đau tim) là một hậu quả nghiêm trọng của bệnh động mạch vành.

Bệnh nhồi máu cơ tim là sự hoại tử không thể hồi phục được của cơ tim thứ phát do thiếu máu cục bộ kéo dài. Một cơn đau tim hoặc bệnh nhồi máu cơ tim là một trường hợp khẩn cấp y tế trong đó việc cung cấp máu đến tim đột ngột bị giảm rất mạnh hoặc bị cắt đứt, làm cho các cơ bị chết do thiếu oxy. Mỗi năm có hơn 1,1 triệu người trải qua cơn đau tim (bệnh nhồi máu cơ tim), và đối

với nhiều người trong số họ, cơn đau tim là triệu chứng đầu tiên của bệnh động mạch vành. Một cơn đau tim có thể đủ nghiêm trọng để gây tử vong hoặc có thể bị cầm. Cứ năm người, có một người chỉ có những triệu chứng nhẹ hoặc không có biểu hiện gì cả, và cơn đau tim chỉ có thể được phát hiện ra bằng cách điện tâm đồ thông thường được thực hiện sau đó một thời gian.

Cơn đau tim (nhồi máu cơ tim) thường được gây ra bởi một cục máu đông làm tắc động mạch của tim. Động mạch thường bị thu hẹp do các chất béo đông tụ lại trên thành của nó. Các chỗ đông tụ này có thể bị rách hoặc vỡ ra, làm giảm dòng chảy của máu và giải phóng các chất làm cho các tiểu cầu của máu bị dính lại và có nhiều khả năng tạo ra các cục máu đông. Đôi khi một cục máu đông được tạo ra ngay bên trong tim, sau đó thoát ra và bị tắc lại trong một động mạch nuôi tim. Sự co thắt một trong các động mạch này làm cho dòng chảy của máu bị ngừng lại.

γ -Butyrobetain, là chất mà từ đó cơ thể động vật có vú tổng hợp ra carnitin, được đặc trưng chủ yếu như là một chất độc hại làm tăng tốc độ hô hấp, gây tiết nước bọt và chảy nước mắt, giãn nở đồng tử, co mạch và làm tim ngừng đập trong tâm trương (LINNEWEH, W. Gamma-Butyrobetain, Crotonbetain und Carnitin im tierischen Stoffwechsel. Hoppe-Seylers Zeitschrift für physiologische Chemie. 1929, vol.181, p.42-53). Cùng thời gian này, trong những trang cuối cùng của tài liệu chuyên ngành, các tác giả khác đã làm sáng tỏ rằng γ -butyrobetain có tính độc hại cực kỳ thấp ($LD_{50} > 7000 \text{ mg/kg}$, dưới da) (ROTZSCH, W. über die Toxizität des Carnitins und einiger verwandter Stoffe. Acta biol. med. germ.. 1959, vol.3, p.28-36).

Trong dữ liệu của tài liệu chuyên ngành về γ -butyrobetain không được thể, các hiệu ứng tim mạch được bỏ qua, mặc dù nó đã được thông báo (HOSEIN, E.A. Pharmacological actions of γ -butyrobetain. Nature. 1959, vol.183, p.328-329.) rằng γ -butyrobetain là một chất có tác dụng kéo dài tương

tự axetyl cholin. Tuy nhiên, sau đó các tác giả này đã thông báo là do một lỗi của các thử nghiệm liên quan đến metyl este của nó, thay vì γ -butyrobetain, mà trong thực tế có các tính chất tiết axetylcholin. Trái lại, γ -butyrobetain ở trên được đặc trưng như là một hợp chất có được tính trợ (HOSEIN, E.A. Isolation and probable functions of betaine esters in brain metabolism. Nature. 1960, vol.187, p.321-322).

Các hợp chất có cấu trúc liên quan đến muối 3-carboxy-N-etyl-N,N-dimetylpropan-1-amini được bộc lộ trong:

- GB 1238868 A 14.07.1971 đã bộc lộ các betain, như 4-trimetylamonibutanoat, được sử dụng cho các polyme. Tuy nhiên, không thấy có mặt các tính chất được lý của các betain này;
- US 5973026 A (XEROX CORP) 26.10.1999 bộc lộ 4-trimetylamonibutanoat và 3-[đietyl(metyl)amoni]propionat sử dụng trong các chế phẩm mực in;
- 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 đã bộc lộ 2-[etyl(dimetyl)amoni]axetat được sử dụng như là các chất bảo quản chống đông lạnh cho các hạt mỡ;
- 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 bộc lộ 4-[đialyl(metyl)amoni]butanoat và việc tổng hợp nó bắt đầu từ N,N-điallyl-N-metylamini và etyl 4-bromobutanoat. Các axit tự do có thể thu được từ este ở bước thứ hai bằng cách sử dụng

nhựa trao đổi ion Amberlite. Sản phẩm này được sử dụng làm chất trung gian để tổng hợp các polyme;

- Prelog V. 1930, vol.2, p.712-722 đã bộc lộ quy trình tổng hợp 4-trimetylamonibutanoat bắt đầu từ 4-dimetylamonibutanoat và metyliodua;
- 4-Trimetylamonibutanoat và việc tổng hợp nó bắt đầu từ trimetylamin và etyl 4-bromobutanoat đã được mô tả trong JP 2009096766 A (KONAN GAKUEN) 07.05.2009. Axit tự do thu được từ este ở bước thứ hai bằng cách sử dụng nhựa trao đổi ion Amberlite;
- WO 2008/055843 A (KALVINSH IVARS; CHERNOBROVIJS ALEKSANDRS; VARACHEVA LARISA; PUGOVICH OSVALDS) 15.05.2008 đã mô tả 4-trimetylamoniobutanoat và quy trình tổng hợp, bắt đầu từ este tương ứng và sử dụng dung dịch KOH;
- CA 2508094 A (VIVIER CANADA INC) 20.11.2006 đã bộc lộ các betain, như là 4-trimetylamoniobutanoat, sử dụng làm thuốc chữa bệnh để đẩy mạnh sự tổng hợp collagen;
- US 5965615 A (TAIHO PHARMACEUTICAL CO LTD; VALSTS ZINATNISKA IESTADE BEZP) 12.10.1999 đã bộc lộ 4-trimetylamoniobutanoat dưới dạng thuốc chữa bệnh để điều trị bệnh rối loạn chuyển hóa cơ tim, hợp chất tương tự được bộc lộ trong US 2007191381 A (CONCERT PHARMACEUTICALS INC) 16.08.2007 để điều trị bệnh nhồi máu cơ tim.

3- (2,2,2-trimetylhydrazini) propionat dihydrat được biết đến như là hợp chất có các đặc tính bảo vệ tim (hợp chất này được biết đến dưới tên chung quốc tế là meldonin). 3- (2,2,2-trimetylhydrazini) propionat được bộc lộ trong US

4481218 (INST ORGANICHESKOGO SINTEZA) 06.11.1984 cũng như trong US 4451485 A (INSTITU ORCH SINTEZA AKADEMII) 29.05.1984.

Cũng biết được rằng 3-(2,2,2-trimetylhydrazini) propionat ở dạng dihydrat được sử dụng rộng rãi để kiểm soát tỉ lệ nồng độ carnitin và gamma-butyrobetain và tiếp theo là sự oxy hóa beta axit béo trong cơ thể (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).

Nhờ có các đặc tính này, melđoni được ứng dụng rộng rãi trong y tế làm thuốc chống thiếu máu cục bộ, phòng ngừa căng thẳng và bảo vệ tim mạch trong điều trị các bệnh tim mạch và các bệnh lý khác liên quan tới thiếu máu cục bộ ở mô (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). Trong điều trị các bệnh về tim mạch, cơ chế hoạt động của 3-(2,2,2-trimetylhydrazini)propionat dựa trên việc giới hạn tốc độ sinh tổng hợp carnitin và giới hạn chuyển hóa axit béo mạch dài có liên quan thông qua các màng ty lạp thể (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,-trimetylhydrazini)propionat (THP) – một chất ức chế mới gamma-butyrobetain hydroxylaza với các đặc tính bảo vệ tim mạch (Biochemical Pharmacology. 1988, vol.37, p.195-202., KIRIMOTO T., ASAKA N., NAKANO M., TAJIMA K., MIYAKE H., MATSUURA N.). Các tác dụng có lợi của MET-88, một chất ức chế γ -butyrobetain hydroxylaza ở loài chuột bị suy

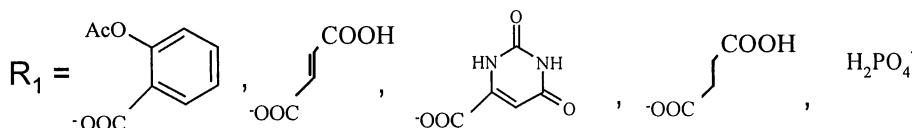
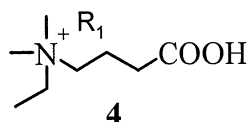
tim tiếp theo sự nhồi máu cơ tim (European Journal of Pharmacology. 2000, vol.395, no.3, p.217-224).

Bản chất kỹ thuật của sáng chế

Như đã biết rằng meldonin dihydrat có tác dụng bảo vệ tim mạch; tuy nhiên không có dữ liệu cho rằng chính γ -butyrobetain có tác dụng bảo vệ tim mạch rõ rệt. Patent châu Âu số EP 0845986 B (KALVINSH IVARS, VEVERIS MARIS), công bố ngày 02.04.2003, bộc lộ được phẩm chứa meldonin dihydrat và γ -butyrobetain để sử dụng trong điều trị các bệnh về tim mạch.

Một mục đích của sáng chế là đề xuất hợp chất có tác dụng bảo vệ tim mạch rõ rệt.

Để đạt được mục đích nêu trên, sáng chế đề xuất muối 3-carboxy-N-ethyl-N,N-dimethylpropan-1-amini (hợp chất có công thức 4), có cấu trúc tương tự với meldonin hoặc γ -butyrobetain.



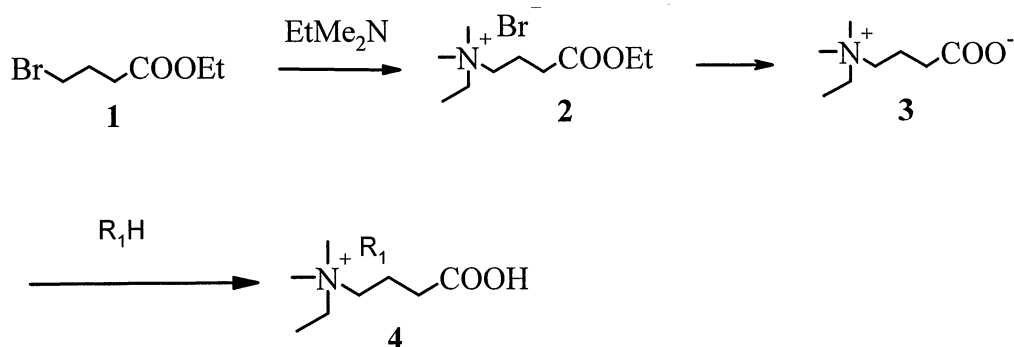
Mục đích nữa của sáng chế là quy trình điều chế hợp chất có công thức 4 nêu trên.

Mô tả chi tiết sáng chế

Ngạc nhiên là muối 3-carboxy-N-ethyl-N,N-dimethylpropan-1-amini có tác dụng bảo vệ tim rõ rệt và có hiệu quả hơn dưới dạng meldonin dihydrat trong các

mô hình nhồi máu cơ tim in vivo, nhờ đặc tính này mà muối 3-carboxy-N-ethyl-N,N-dimethylpropan-1-amini có thể được sử dụng trong y học. Muối 3-Carboxy-N-ethyl-N,N-dimethylpropan-1-amini có thể sử dụng dưới dạng dung dịch để tiêm.

Có một quy trình đã được bộc lộ mà có thể dùng để điều chế hợp chất mong muốn là muối 3-carboxy-N-ethyl-N,N-dimethylpropan-1-amini có công thức 4, xem sơ đồ sau.



Quy trình điều chế muối 3-carboxy-N-ethyl-N,N-dimethylpropan-1-amini có công thức 4 bao gồm những bước sau:

- bổ sung N,N-dimethyletylamin vào etyl 4-bromobutanoat (1) trong dung môi thích hợp để thu được 4-etoxy-N-ethyl-N,N-dimethyl-4-oxo-1-butanamini bromua (2);
- cho 4-etoxy-N-ethyl-N,N-dimethyl-4-oxo-1-butanamini bromua (2) qua cột nhựa trao đổi ion để thu được 4-[etyl(dimethyl)amoni] butanoat (3);
- bổ sung axit được lựa chọn từ axit 2-(axetyloxy)benzoic (4 a) hoặc axit (E)-butendioic (4 b) hoặc axit succinic (4 c) hoặc axit monohydrat 2,6-đioxo-1,2,3,6-tetrahydropyrimidin-4-carboxylic (4 d) hoặc axit phosphoric (4 e) vào 4-[etyl(dimethyl)amoni] butanoat (3) trong dung môi thích hợp để thu được muối 3-carboxy-N-ethyl-N,N-dimethylpropan-1-amini (4).

Ví dụ thực hiện sáng chế

Sáng chế sẽ được mô tả chi tiết hơn bằng cách dựa vào các ví dụ không giới hạn phạm vi của sáng chế nêu dưới đây.

Điều chế 4-etoxy-N-etyl-N,N-đimetyl-4-oxo-1-butanamini bromua (2)

Quy trình A

Bổ sung N,N-đimetyletylamin (15ml, 139mmol) vào dung dịch etyl 4-bromobutanoat (1) (20,0g, 102,5mmol) trong axetonitril (70ml) và khuấy ở nhiệt độ môi trường trong 3 ngày. Hỗn hợp phản ứng được làm bay hơi, phần dư được nghiền nhỏ với axeton (50ml), lọc, rửa với ete, và được sấy khô để thu 26,051g (94,8%) 4-etoxy-N-etyl-N,N-đimetyl-4-oxo-1-butanamini bromua. LCMS (ESI⁺, m/z): [M-Br]⁺ 188, độ tinh khiết 98,9%.

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).

Quy trình B

Bổ sung N,N-đimetyletylamin (15ml, 139mmol) vào dung dịch etyl 4-bromobutanoat (1) (19,5g, 100mmol) trong axeton (70ml) và khuấy ở nhiệt độ môi trường trong 3 ngày. Hỗn hợp phản ứng được lọc; chất rắn được rửa với axeton, ete, và làm khô để thu được 24,19g (90,2%) hợp chất 2 được nêu ở đề mục. Dịch lọc được làm bay hơi; phần dư (2,147g) được nghiền nhỏ với ete và được sấy khô để thu được một lượng bổ sung (0,962 g, 3,6%) của sản phẩm 2 có cùng chất lượng như phần chính. Làm bay hơi dung dịch rửa ete cho phép thu được 0,956g (4.9mmol, 4,9%) nguyên liệu ban đầu 1. 4-etoxy-N-etyl-N,N-đimetyl-4-oxo-1-butanamini bromua: LCMS (ESI⁺, m/z): [M-Br]⁺ 188, độ tinh khiết 98,4%.

^1H NMR (CDCl_3 , 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).

Điều chế 4-[etyl(đimetyl)amoni]butanoat (3)

Dung dịch 4-etoxy-N-etyl-N,N-đimetyl-4-oxo-1-butanamini bromua (2) (12,00g, 44,7mmol) trong nước (10ml) được cho qua cột nhựa trao đổi ion Amberlite[®] IRA-410 (OH) (250ml) rửa giải chậm (khoảng 10 giọt/phút) bằng etanol (kiểm tra TLC). Dung dịch rửa giải được làm bay hơi và phần dư (12g) được hòa tan trong nước (50ml). Bỏ sung nhựa trao đổi ion DOWEX[®] 50WX8 (5g) vào dung dịch này và khuấy ở nhiệt độ môi trường trong 0,5 giờ. Hỗn hợp phản ứng được lọc qua xelit (1cm) và dung dịch rửa giải được làm bay hơi. Phần dư được làm khô đẳng phí bằng isopropanol, axetonitril, và axeton. Chất rắn thu được được nghiền nhỏ với axeton (10ml) và hỗn hợp được giữ ở 0°C trong 2 giờ. Chất kết tủa được lọc và làm khô trong chân không với P_2O_5 để tạo ra 4,65g (65%) 4-[etyl(đimetyl)amoni]butanoat (3).

(DMSO- d_6 , 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^+ , m/z): 160 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

Phân tích tính toán cho $\text{C}_8\text{H}_{17}\text{NO}_2 \cdot 1,55 \text{H}_2\text{O}$: C 51,34; H 10,82; N 7,48.

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

Điều chế 3-carboxy-N-etyl-N,N-đimetylpropan-1-amini 2-(axetyloxy)benzoat (4a)

3-Carboxy-N-etyl-N,N-đimetylpropan-1-amini 2-(axetyloxy)benzoat được điều chế dưới dạng một hỗn hợp chứa nước. Do đó, khoảng 90% 4-[etyl(đimetyl)amoni]butanoat (3) (2,20g, 12,44mmol) và axit 2-(axetyloxy)-benzoic

(2,266g, 12,57mmol) được chuyển vào một bình định mức và pha loãng với nước đến 100ml. Thành phần của hỗn hợp được hòa tan bởi nhiệt và kết tủa bằng cách hạ nhiệt độ. Theo phổ $^1\text{H-NMR}$, chất rắn kết tủa chứa axit 2-(axetyloxy)-benzoic gần như tinh khiết.

Điều chế 3-carboxy-N-etyl-N,N-đimetylpropan-1-amini (2E)-3-carboxyacrylat (4b)

Bổ sung dung dịch nóng (60°C) của axit (E)-butendioic (1,46g, 12,56mmol) trong etanol (50ml) vào dung dịch 4-[etyl(đimetyl)amoni]butanoat (3) (2,0g, 12,56mmol) trong etanol khan (10ml). Hỗn hợp phản ứng được giữ ở nhiệt độ môi trường trong 2 giờ, các tinh thể kết tủa được lọc và làm khô với P_2O_5 để tạo ra 2,98g (85%) 3-carboxy-N-etyl-N,N-đimetylpropan-1-amini (2E)-3-carboxyacrylat. Nhiệt độ nóng chảy $122-123^\circ\text{C}$.

$^1\text{H-NMR}$ (D_2O , 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, $\text{CH}=\text{CH}$). LCMS ESI $^+$ (m/z): 160 $[\text{M}+\text{H}]^+$. Phân tích chuẩn độ: hàm lượng nước (Fisher) 0,13%, hàm lượng betain (HClO_4) 93,0%, hàm lượng axit (E)-butendioic 46,1%.

Tính toán cho $\text{C}_8\text{H}_{17}\text{NO}_2 \cdot 1,2 \text{ C}_4\text{H}_4\text{O}_4$ (46,7%): C 51,50, H 7,36, N 4,69.

Thực nghiệm: C 51,52, H 7,35, N 4,61.

Điều chế 3-carboxy-N-etyl-N,N-đimetylpropan-1-amini 3-carboxypropanoat (4c)

3-Carboxy-N-etyl-N,N-đimetylpropan-1-amini 3-carboxypropanoat được điều chế dưới dạng một dung dịch chứa nước. Do đó, khoảng 90% 4-[etyl(đimetyl)amoni]butanoat (3) (2,20g, 12,44mmol) và axit suxinic (1,49g,

12,62mmol) được chuyển vào một bình định mức, được hòa tan và pha loãng với nước đến 100ml.

Điều chế 3-carboxy-N-etyl-N,N-đimetylpropan-1-amini 2,6-đioxo-1,2,3,6-tetrahydropyrimidin-4-carboxylat (4d)

Bổ sung axit monohydrat 2,6-đioxo-1,2,3,6-tetrahydropyrimidin-4-carboxylic (2,187g, 12,56mmol) vào dung dịch 4-[etyl(đimetyl)amoni]butanoat (3) (2,0g, 12,56mmol) trong isopropanol (100ml) và hỗn hợp phản ứng được đun hồi lưu cho đến khi tất cả axit carboxylic được hòa tan. Hỗn hợp phản ứng được làm mát đến nhiệt độ môi trường, các tinh thể kết tủa được lọc, rửa với isopropanol (5ml) và dietyl ete (20ml), và được làm khô bằng P_2O_5 để tạo ra 3,238g (97,4%) 3-carboxy-N-etyl-N,N-đimetylpropan-1-amini 2,6-đioxo-1,2,3,6-tetrahydropyrimidin-4-carboxylat. Nhiệt độ nóng chảy 150,7°C.

1H -NMR (D_2O , 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, 1H, C=CH).

LCMS ESI⁺ (m/z): 160 $[M+H]^+$.

Tính toán cho $C_8H_{17}NO_2 \cdot C_5H_4N_2O_4$ (49,5%): C 49,52, H 6,71, N 13,33.

Thực nghiệm: C 49,59, H 6,69, N 13,26.

Điều chế 3-carboxy-N-etyl-N,N-đimetylpropan-1-amini đihydro phosphat (4 e)

Bổ sung dung dịch H_3PO_4 trong nước 85% (4,73g, 40mmol) trong axeton (10ml) vào dung dịch 4-[etyl(đimetyl)amoni]butanoat (3) (6,4g, 40mmol) trong nước (10ml) và khuấy dung dịch thu được ở nhiệt độ môi trường trong 10 phút. Hỗn hợp phản ứng được làm bay hơi và làm khô đẳng phí vài lần với axeton bằng máy cô quay chân không ở nhiệt độ 45°C. Tinh thể trắng thu được được

làm khô với P_2O_5 để tạo ra 9,82g (95%) 3-carboxy-N-etyl-N,N-dimetylpropan-1-amini dihydro phosphat. Nhiệt độ nóng chảy 110-135°C.

1H -NMR (D_2O , 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⁺ (m/z): 160 $[M+H]^+$. Phân tích chuẩn độ: hàm lượng nước (Fisher) 0,356%, hàm lượng betain ($HClO_4$) – 95,682%.

Tính toán cho $C_8H_{17}NO_2 \cdot 0,052 H_2O$ (0,356%) $\cdot 1,07 H_3PO_4$ (39,6%): C 36,26; H 7,73; N 5,29.

Thực nghiệm: C 36,20, H 7,72, N 5,11.

Độ tinh khiết của 3-carboxy-N-etyl-N,N-dimetylpropan-1-amini dihydro phosphat thu được được tăng lên bằng cách kết tinh ra khỏi metanol. Do đó, 3-carboxy-N-etyl-N,N-dimetylpropan-1-amini dihydro phosphat (6,9g) được kết tinh ra khỏi metanol (40ml) để thu được 5,326g (77%) của 3-carboxy-N-etyl-N,N-dimetylpropan-1-amini dihydro phosphat tinh chế có nhiệt độ nóng chảy 139°C.

Tính toán cho $C_8H_{17}NO_2 \cdot H_3PO_4$ (38,1%): C 37,36; H 7,84; N 5,45.

Thực nghiệm: C 37,52, H 7,85, N 5,39

Hoạt tính bảo vệ tim

Năm mươi con chuột đực Wistar 10 tuần tuổi nặng từ 200-250g được nuôi dưỡng ở điều kiện chuẩn (nhiệt độ 21-23°C, 12 giờ chu kì sáng-tối) và không hạn chế tiếp cận thức ăn (chế độ ăn uống R3, Lactamin AB, Thụy Điển) và nước.

Chuột được thích nghi với điều kiện tại chỗ trong hai tuần trước khi bắt đầu điều trị. Meldoni dihydrat ở liều lượng 20mg/kg, gamma-butyrobetain ở liều

lượng 20 mg/kg và muối 3-carboxy-N-etyl-N,N-đimetylpropan-1-amini ở liều lượng 20mg/kg được tiếp nhận qua đường miệng hàng ngày trong 8 tuần. Chuột làm đối chứng được tiếp nhận nước.

Nghiên cứu chuột nhồi máu cơ tim được cách li

Thí nghiệm tim chuột được cách li được thực hiện gần giống như đã được mô tả trước đó (Liepinsh et al., J. Cardiovasc. Pharmacol. 2006; 48(6):314-9). Hai tư giờ sau lần tiếp nhận thuốc cuối cùng, tim được cắt và tưới máu qua động mạch chủ ở áp suất không đổi với đệm Krebs-Henseleit được oxi hóa ở nhiệt độ 37°C. Nhịp tim, áp lực tâm thất trái cuối thời kì tâm trương và áp lực tâm thất trái phát triển được ghi liên tục. Lưu lượng động mạch vành được đo bằng cách sử dụng một đầu dò lưu lượng siêu âm (HSE) và hệ thống PowerLab 8 /30 từ ADInstruments. Tim được tưới máu trong 20 phút để ổn định chức năng huyết động và sau đó thực hiện tắc nghẽn mạch trong 60 phút bằng cách thắt mạch bằng một ống nhựa. Sự tắc nghẽn mạch thành công được xác nhận bằng sự giảm 40 phần trăm lưu lượng động mạch vành. Tái tưới máu đạt được bằng cách giải phóng mạch. Ở cuối chu kì tái tưới máu dài 150-phút, vùng rủi ro được mô tả bằng metylen xanh 0,1%. Sau đó tim được cắt ngang từ đỉnh đến đáy thành năm phần dày 2mm và được ủ trong triphenyltetrazoli clorua 1% trong đệm phosphat (pH 7,4, 37°C) trong 10 phút để nhuộm mô có thể sống được màu đỏ và mô hoại tử màu trắng. Phép phân tích diện tích máy tính hóa của ảnh Sony A900 được thực hiện sử dụng phần mềm Image-Pro Plus 6.3 để xác định diện tích rủi ro và diện tích hoại tử biểu diễn dưới dạng % của tâm thất trái. Các giá trị thu được sau đó được sử dụng để tính toán kích thước vùng nhồi máu (infarct size - IS) dưới dạng % của diện tích rủi ro theo công thức sau:

$$\text{Kích thước vùng nhồi máu} = \text{Diện tích hoại tử} / \text{Diện tích rủi ro} \times 100\%.$$

Tác dụng trong vật mẫu chuột nhồi máu cơ tim được cách li

Tác dụng chống nhồi máu của các chất được kiểm tra trong một vật mẫu chuột nhồi máu cơ tim được cách li. Trong quá trình tắc động mạch vành trái, lưu lượng động mạch vành trong tất cả các nhóm thí nghiệm giảm 40% (từ 11ml/phút xuống 7ml/phút). Ngoài ra, sự giảm 50% áp lực tâm thất trái phát triển đã được quan sát. Nhịp tim trong quá trình tắc nghẽn không thay đổi đáng kể. Trong giai đoạn tái tưới máu, lưu lượng động mạch vành, áp lực tâm thất trái phát triển, các giá trị $\pm dp/dt$ được thu hồi đến khoảng 80% của mức đối chứng. Không có sự khác biệt đáng kể giữa nhóm đối chứng và nhóm điều trị.

Tác dụng của meldonin dihydrat (20mg/kg), gamma-butyrobetain (20mg/kg) và muối 3-carboxy-N-etyl-N,N-dimetylpropan-1-amini (20mg/kg) sau 2 tuần điều trị đến kích thước vùng nhồi máu trong thí nghiệm chuột nhồi máu cơ tim được cách li được biểu diễn trong Bảng 1, Bảng 2, Bảng 3, Bảng 4, Bảng 5, và Bảng 6.

Bảng 1

Tác dụng của meldonin dihydrat, gamma-butyrobetain và 3-carboxy-N-etyl-N,N-dimetylpropan-1-amini 2-(axetyloxy)benzoat đến kích thước vùng nhồi máu

	Kích thước vùng nhồi máu, % đối chứng
Đối chứng	100,0 $\pm$ 5,9
Meldonin dihydrat 20mg/kg	117,9 $\pm$ 7,9
Gamma-butyrobetain 20mg/kg	87,6 $\pm$ 11,4
3-Carboxy-N-etyl-N,N-dimetylpropan-1-amini 2-(axetyloxy)benzoat 20mg/kg	61,6 $\pm$ 6,7*#,\$

Bảng 2

Tác dụng của meldoni đihydrat, gamma-butyrobetain và 3-carboxy-N-etyl-N,N-dimetylpropan-1-amini (2E)-3-carboxyacrylat đến kích thước vùng nhồi máu

	Kích thước vùng nhồi máu, % đối chứng
Đối chứng	100,0 ±5,9
Meldoni đihydrat 20mg/kg	117,9 ±7,9
Gamma-butyrobetain 20mg/kg	87,6 ±11,4
3-carboxy-N-etyl-N,N-dimetylpropan-1-amini (2E)-3-carboxyacrylat 20mg/kg	46,5 ±7,0*#,\$

Bảng 3

Tác dụng của meldoni đihydrat, gamma-butyrobetain và 3-carboxy-N-etyl-N,N-dimetylpropan-1-amini 2,6-đioxo-1,2,3,6-tetrahydropyrimidin-4-carboxylat đến kích thước vùng nhồi máu

	Kích thước vùng nhồi máu, % đối chứng
Đối chứng	100,0 ±5,9
Meldoni đihydrat 20mg/kg	117,9 ±7,9
Gamma-butyrobetain 20mg/kg	87,6 ±11,4
3-carboxy-N-etyl-N,N-dimetylpropan-1-amini 2,6-đioxo-1,2,3,6-tetrahydropyrimidin-4-carboxylat 20mg/kg	60,6 ±6,7*#,\$

Bảng 4

Tác dụng của meldoni đihydrat, gamma-butyrobetain và 3-carboxy-N-etyl-N,N-dimetylpropan-1-amini đihydro phosphat đến kích thước vùng nhồi máu

	Kích thước vùng nhồi máu, % đối chứng
Đối chứng	100,0 ±5,9
Meldoni đihydrat 20mg/kg	117,9 ±7,9
Gamma-butyrobetain 20mg/kg	87,6 ±11,4
3-carboxy-N-etyl-N,N-dimetylpropan-1-amini đihydro phosphat 20mg/kg	56,1 ±4,4 ^{*,#,\$}

Bảng 5

Tác dụng của meldoni đihydrat, gamma-butyrobetain và 3-carboxy-N-etyl-N,N-dimetylpropan-1-amini 3-carboxypropanoat đến kích thước vùng nhồi máu

	Kích thước vùng nhồi máu, % đối chứng
Đối chứng	100,0 ±5,9
Meldoni đihydrat 20mg/kg	117,9 ±7,9
Gamma-butyrobetain 20mg/kg	87,6 ±11,4
3-carboxy-N-etyl-N,N-dimetylpropan-1-amini 3-carboxypropanoat 20mg/kg	62,9 ±4,7 ^{*,#,\$}

Mỗi giá trị trong Bảng từ 1-5 đề cập ở trên biểu diễn trung bình ± sai số chuẩn của 9-10 vật mẫu.

*p<0,05 so sánh với nhóm đối chứng; #p<0,05 so sánh với nhóm Gamma-butyrobetain, \$p<0,05 so sánh với nhóm Meldoni đihydrat.

Như được trình bày trong các Bảng 1-5, việc điều trị bằng meldonidihydrat ở liều lượng 20mg/kg không có tác dụng trị liệu; gamma-butyrobetain làm giảm kích thước vùng nhồi máu 12,4%.

3-Carboxy-N-ethyl-N,N-dimethylpropan-1-amini 2-(axetyloxy)benzoat ở liều lượng 20mg/kg làm giảm kích thước vùng nhồi máu 38,4%.

Carboxy-N-ethyl-N,N-dimethylpropan-1-amini (2E)-3-carboxyacrylat ở liều lượng 20mg/kg làm giảm kích thước vùng nhồi máu 53,5%.

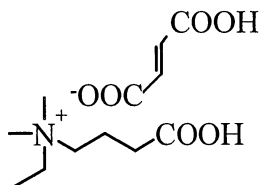
3-Carboxy-N-ethyl-N,N-dimethylpropan-1-amini 2,6-dioxo-1,2,3,6-tetrahydropyrimidin-4-carboxylat ở liều lượng 20mg/kg làm giảm kích thước vùng nhồi máu 39,4%.

3-Carboxy-N-ethyl-N,N-dimethylpropan-1-amini dihydro phosphat ở liều lượng 20mg/kg làm giảm kích thước vùng nhồi máu 43,9%.

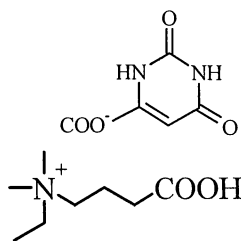
3-Carboxy-N-ethyl-N,N-dimethylpropan-1-amini 3-carboxypropanoat ở liều lượng 20mg/kg làm giảm kích thước vùng nhồi máu 37,1%.

YÊU CẦU BẢO HỘ

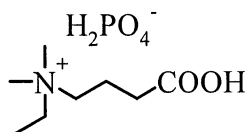
1. Muối 3-carboxy-N-etyl-N,N-đimetylpropan-1-amini (2E)-3-carboxyacrylat có công thức:



2. Muối 3-carboxy-N-etyl-N,N-đimetylpropan-1-amini 2,6-đioxo-1,2,3,6-tetrahydropyrimidin-4-carboxylat có công thức:



3. Muối 3-carboxy-N-etyl-N,N-đimetylpropan-1-amini đihydro phosphat có công thức:



4. Quy trình điều chế muối 3-carboxy-N-etyl-N,N-đimetylpropan-1-amini bao gồm các bước:

- a) bổ sung N,N-đimetyletylamin vào etyl 4-brombutanoat trong dung môi thích hợp để thu được 4-etoxy-N-etyl-N,N-đimetyl-4-oxo-1-butanamini bromua;

- b) cho 4-etoxy-N-etyl-N,N-đimetyl-4-oxo-1-butanamini bromua đi qua cột nhựa trao đổi ion để thu được 4-[etyl(đimetyl)amoni] butanoat;
- c) bổ sung axit chọn từ nhóm, bao gồm axit fumaric, axit orotic và axit phosphoric trong dung môi thích hợp để thu được muối 3-carboxy-N-etyl-N,N-đimetylpropan-1-amini tương ứng.

5. Quy trình theo điểm 4, trong đó ở bước a) dung môi thích hợp là axetonitril hoặc axeton.

6. Muối 3-carboxy-N-etyl-N,N-đimetylpropan-1-amini, trong đó muối này được chọn từ nhóm bao gồm 3-carboxy-N-etyl-N,N-đimetylpropan-1-amini (2E)-3-carboxyacrylat, 2,6-đioxo-1,2,3,6-tetrahydropyrimidin-4-carboxylat và đihydrophosphat để sử dụng làm thuốc.

7. Muối 3-carboxy-N-etyl-N,N-đimetylpropan-1-amini, trong đó muối này được chọn từ nhóm bao gồm 3-carboxy-N-etyl-N,N-đimetylpropan-1-amini, (2E)-3-carboxyacrylat và 2,6-đioxo-1,2,3,6-tetrahydropyrimidin-4-carboxylat và đihydrophosphat dùng trong điều trị các bệnh tim mạch.