

---

Octrooiraad



⑩A **Terinzagelegging** ⑪ **8002369**

Nederland

⑲ NL

---

- ⑤4 **Amiden van acyl-carnitinen, werkwijze ter bereiding ervan en farmaceutische preparaten, die dergelijke amiden bevatten.**
- ⑤1 Int.Cl<sup>3</sup>: C07C103/70, A61K31/16// C07C147/05, C07C149/24.
- ⑦1 Aanvrager: Sigma-Tau Industrie Farmaceutiche Riunite S.p.A. te Rome.
- ⑦4 Gem.: Ir. G.F. van der Beek c.s.  
NEDERLANDSCH OCTROOIBUREAU  
Joh. de Wittlaan 15  
2517 JR 's-Gravenhage.

- 
- ②1 Aanvraag Nr. 8002369.
- ②2 Ingediend 23 april 1980.
- ③2 Voorrang vanaf 23 april 1979.
- ③3 Land van voorrang: Italië (IT).
- ③1 Nummer van de voorrangsaanvraag: 4881679 .
- ②3 --
- ⑥1 --
- ⑥2 --

- 
- ④3 Ter inzage gelegd 27 oktober 1980.

De aan dit blad gehechte stukken zijn een afdruk van de oorspronkelijk ingediende beschrijving met conclusie(s) en eventuele tekening(en).

---

Amiden van acyl-carnitinen, werkwijze ter bereiding ervan en farmaceutische preparaten, die dergelijke amiden bevatten.

De onderhavige uitvinding heeft betrekking op een nieuwe groep amiden van acyl-carnitinen, werkwijze ter bereiding ervan en de farmaceutische preparaten, die dergelijke amiden bevatten.

- 5 Meer in het bijzonder heeft de onderhavige uitvinding betrekking op amiden van acyl-carnitinen met de algemene formule 1, waarin
- $X^-$  een halogeenanion, bij voorkeur  $Cl^-$  voorstelt,
- $R'$  acetyl, met halogeen gesubstitueerd acetyl, bijvoorbeeld
- 10 chlooracetyl, dichlooracetyl, broomacetyl en dergelijke, propionyl, met halogeen gesubstitueerd propionyl, bijvoorbeeld broompropionyl, butyryl, met halogeen gesubstitueerd butyryl, bijvoorbeeld chloorbutyryl, isobutyryl,  $\beta$ -hydroxybutyryl, acetoacetyl, linoleyl en pantothenyl
- 15 voorstelt en
- $R''$  amino, mits  $R'$  geen acetyl is, 2-sulfonylethylamino, (2-hydroxy-3-carbomethoxypropyl) amino, (1-carbomethoxy-2-methylpropyl) amino, (1-carbomethoxy-3-methyl-n-butyl) amino, (1-carbomethoxy-2-methyl-n-butyl) amino,
- 20 (1,2-dicarbomethoxyethyl) amino, (1,3-dicarbomethoxypropyl) amino, ( $\alpha$ -carbomethoxybenzyl) amino, (4-carbomethoxyfenyl) amino, (2-mercapto-1-carbomethoxyethyl) amino, 2-mercaptoethylamino, (5-trimethylammoniumchloride-1-carbomethoxypentyl) amino, (carbomethoxymethyl) amino en
- 25 (carbomethoxyethyl) amino voorstelt.

Gevonden werd, dat de verbindingen van de onderhavige uitvinding belangwekkende farmacologische eigenschappen bezitten en daarom therapeutische toepassingen kunnen hebben.

De amiden met formule 1 blijken te zijn begiftigd met

30 het centrale zenuwstelsel stimulerende activiteit en in staat te zijn de convulsieve drempel te verlagen.

Derhalve omvatten de therapeutische toepassingen:

- a) de behandeling van functionele arrhythmieën of arrhythmieën ondergeschikt aan myocardisch-sclerotische ziekten
- 35 niet vergezeld van onvoldoende myocardische samentrekbaarheid,

b) de behandeling van depressie, als cerebrale psycho-stimulantia en als antagonisten van met barbituraat opgewekte depressie.

Volgens de uitvinding worden de amiden met formule 1  
5 bereid volgens twee verschillende syntheseswegen, afhankelijk van het feit of het acyl derivaat van carnitine gehalogeniseerd is, waardoor het wordt omgezet tot het overeenkomstige zuurhalogenide en deze laatste verbinding wordt vervolgens gecondenseerd met het gewenste amine of aminozuur  
10 (werkwijze A), of het carnitine acyl derivaat wordt direkt gecondenseerd met het amine of aminozuur bij aanwezigheid van een geschikt condensatiemiddel (werkwijze B).

Meer in het bijzonder omvat de werkwijze A de volgende trappen:

15 (a) toevoeging aan een oplossing van carnitine in een oplosmiddel gekozen uit de groep bestaande uit organische zuren en de overeenkomstige anhydriden, van een acylhalogenide met de formule  $R'X$ , waarin  $R'$  de hiervoor vermelde betekenissen heeft en  $X$  een halogeenatoom voorstelt en het  
20 houden van de temperatuur van het aldus verkregen mengsel op ongeveer  $15-60^{\circ}\text{C}$  gedurende ongeveer 4-48 uren, waarbij het overeenkomstige acyl derivaat van carnitine verkregen wordt,

(b) het isoleren van het acyl derivaat van carnitine door  
25 toevoeging aan het mengsel van trap (a) van een precipitatiemiddel en zuivering door herhaalde kristallisaties,

(c) het omzetten van het acyl derivaat van carnitine van trap (b) met een overmaat halogeneringsmiddel bij ongeveer  $25-60^{\circ}\text{C}$  gedurende ongeveer 0,3-24 uren en verwijdering van  
30 de overmaat halogeneringsmiddel, waarbij het overeenkomstige zuurhalogenide van het acyl derivaat van carnitine verkregen wordt,

(d) het oplossen van het zuurhalogenide van het acyl derivaat van carnitine van trap (c) in een watervrij inert oplos-  
35 middel,

(e) het condenseren van het zuurhalogenide van het acyl derivaat van carnitine met een organische base gekozen uit de esters van aminozuren met alifatische alcoholen met 1-4 koolstofatomen, en de aminen met formule  $R''H$ , waarin  $R''$

8002369

de hiervoor vermelde betekenissen bezitten, opgelost in een  
watervrij inert oplosmiddel, het onder roeren houden van het  
verkregen mengsel bij omgevingstemperatuur gedurende onge-  
veer 6-48 uren, waarbij het amide met formule 1 verkregen  
5 wordt, en

(f) het isoleren van het amide met formule 1 door concen-  
tratie van het mengsel van trap (e) en het zuiveren door  
herhaalde kristallisaties.

De aminozuurester van trap (e) wordt verkregen door  
10 verestering van het aminozuur bij voorkeur met methanol,  
ethanol of isopropanol bij aanwezigheid van gasvormig  
waterstofchloride. De ester wordt vervolgens geïsoleerd als  
esterhydrochloride. Vervolgens:

1) wordt het esterhydrochloride in water opgelost, wordt  
15 de pH op neutraal gebracht met een verzadigde basische  
oplossing, bijvoorbeeld een  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  oplossing, wordt de  
aldus verkregen oplossing herhaald geëxtraheerd met di-  
chloormethaan, chloroform of diethylether, wordt de or-  
ganische fase geconcentreerd en wordt de aminozuurester  
20 geïsoleerd als vrije base en als zodanig gebruikt voor  
de reactie met het halogenide van het carnitine acyl-  
derivaat, ook

2) wordt het esterhydrochloride gesuspendeerd in diethyl-  
ether en wordt een equimolaire hoeveelheid triethyl-  
amine of pyridine daaraan bij  $0^\circ\text{C}$  toegevoegd, wordt het  
25 aldus gevormde triethylamine of pyridinehydrochloride  
gefiltreerd, wordt de etheroplossing geconcentreerd en  
wordt de aminozuurester geïsoleerd als vrije base als  
zodanig gebruikt voor de reactie met het halogenide van  
30 het carnitineacylderivaat.

Volgens werkwijze B, worden na de hiervoor toegelichte  
trappen (a) en (b) de volgende trappen aangevoerd, bestaan-  
de uit:

(c') condensatie van het acyl derivaat van carnitine van  
35 trap (b) in een water bevattende oplossing met een orga-  
nische base gekozen uit de esters van aminozuren met alco-  
holen met 1-4 koolstofatomen en de aminen met formule  $\text{R}''\text{X}$ ,  
waarin  $\text{R}''$  de hiervoor vermelde betekenissen heeft, in  
oplossing van organische oplosmiddelen bij aanwezigheid

van een oplossing in een organische oplosmiddel van dicyclohexylcarbodiimide, het houden van het aldus verkregen mengsel onder roeren bij omgevingstemperatuur gedurende 2-24 uren, waarbij het amide met formule 1 verkregen wordt  
5 en een neerslag van dicyclohexylureum, en  
(d') het filtreren van het dicyclohexylureumneerslag en het isoleren van het amide met formule 1 door concentratie van het filtraat, drogen en herhaald kristalliseren uit organische oplosmiddelen.

10 Bij trap (d') is het organische oplosmiddel bij voorkeur aceton.

De molverhouding carnitineacylderivaat : amine (of aminozuur) : dicyclohexylcarbodiimide is bij voorkeur 1:1:2.

De werkwijzen A en B voor de bereiding van de amiden  
15 met formule 1 zijn toegelicht in het schema met de figuur van het formuleblad.

Voorbeeld IBereiding van acetylcarnitineamide met taurine (werkwijze A).

Bereiding van zuurchloride van acetylcarnitinehydrochloride:

- 5 Aan een suspensie van acetylcarnitinehydrochloride bereid. zoals hiervoor beschreven (2 gram; 0,01 mol in 30 cm<sup>3</sup> watervrij dichloormethaan) werd PCl<sub>5</sub> (2,1 gram; 0,01 mol) toegevoegd. Het verkregen mengsel werd bij omgevingstemperatuur en onder magnetisch roeren 4 uren onder reactieomstan-
- 10 digheden gehouden (de tijd noodzakelijk voor het oplosbaar maken van het acetylcarnitine). Vervolgens werd het oplosmiddel verdampt en werd het residu drie maal met 30 cm<sup>3</sup> diethylether gewassen en onder een verminderde druk gehouden tot het oplosmiddel volledig was verwijderd. Het re-
- 15 sidu werd als zodanig voor de volgende reactie gebruikt.

Bereiding van acetylcarnitineamide met taurine:

- Aan een tot 0°C-5°C gekoelde oplossing van taurine (2,5 gram; 0,02 mol in water/aceton 100/150 cm<sup>3</sup>, die 5 gram, 0,06 mol NaHCO<sub>3</sub> bevatte) werd druppelsgewijze de oplossing
- 20 toegevoegd in water vrije acetone (10 cm<sup>3</sup>) van het hiervoor verkregen zuurchloride. Het mengsel werd 2 uren bij omgevingstemperatuur onder reactieomstandigheden gehouden. Daarna werd de acetone verdampt. De water bevattende oplossing werd op een pH van 2,5-3 gebracht met verdund zoutzuur en
- 25 onder een verminderde druk tot droog geconcentreerd. Het residu werd met water vrije methanol opgenomen. De onoplosbare produkten werden gefiltreerd en het filtraat werd met acetone neergeslagen. Het neergeslagen produkt bleek het zuivere amide te zijn, dat uit ethanol werd gekristalliseerd
- 30 (opbrengst: 70).

Smpt.	290-295°C	C	H	S
Elem.An. C <sub>11</sub> H <sub>2</sub> N <sub>2</sub> O <sub>6</sub> S	berekend:	42,56	7,14	10,53
	gevonden:	42,00	6,79	10,16

- 35 Vanwege de afwezigheid van chloor wordt een structuur van het inwendige zouttype met formule 2 verkregen.

NMR:  $\delta$  8,0 (m, 1H, CONH); 5,5 (M, 1H, CH); 3,7 (d, 2H,  $\xrightarrow{N}$ -CH<sub>2</sub>-)  $\begin{matrix} 3,3 \\ \text{OCO} \end{matrix}$   
 (m, 2H, -NH-CH<sub>2</sub>); 3,1 (s, 9H, N (CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>); 2,9 (m, 2H, -CH<sub>2</sub>-SO<sub>3</sub>);  
 2,5 (d, 2H, -CH<sub>2</sub>CO-); DMSO.

### Voorbeeld II

#### 5 Bereiding van propionylcarnitineamide van leucinemethylester.

Bereiding van propionylcarnitine:

1,98 g (0,01 mol) carnitinehydrochloride werden opgelost in 5 cm<sup>3</sup> trifluorazijnzuur en aan de oplossing werd 1 cm<sup>3</sup> (0,01 mol) propionylchloride toegevoegd. De verkregen  
 10 oplossing werd een nacht op 40-45°C gehouden. De oplossing werd vervolgens tot omgevingstemperatuur gekoeld en 50 cm<sup>3</sup> aceton werden daaraan onder roeren gedurende 2 uren toegevoegd. Het vaste neerslag, dat ontstond (carnitine) werd gefiltreerd, 30 cm<sup>3</sup> diethylether werden aan het filtraat  
 15 toegevoegd en het verkregen mengsel werd bij 0°C onder roeren gehouden. Het gevormde vaste neerslag werd gefiltreerd en met ethanol-aceton-diethylether gekristalliseerd.

Smpt. 158-160°C

	C	H	N	Cl
Elem.An. C <sub>10</sub> H <sub>20</sub> ClNO <sub>4</sub> berekend:	47,34	7,94	5,52	13,97
20 gevonden:	47,22	8,09	5,50	13,71

NMR:  $\delta$  5,69 (m, 1H, -CH); 3,78 (d, 2H,  $\xrightarrow{N}$ -CH<sub>2</sub>); 3,27 (s, 9H, N  
 (CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>);  
 2,92 (d, 2H, -CH<sub>2</sub>-CO); 2,71 (q, 2H, OCOCH<sub>2</sub>); 1,11 (t, 3H, -CH<sub>2</sub>-  
 -CH<sub>3</sub>)D<sub>2</sub>O.

#### 25 Bereiding van propionylcarnitineamide van leucinemethylester:

Aan 1,82 gram (0,01 mol) methyllleucinaathydrochloride werd 0,8 cm<sup>3</sup> (0,01 mol) pyridine in 15 cm<sup>3</sup> aceton toegevoegd. Pyridinehydrochloride sloeg neer en werd gefiltreerd. Aan  
 30 de methylester van de vrije leucinebase werd een water bevattende oplossing toegevoegd van 2,54 gram (0,01 mol) propionylcarnitine in 3,5 cm<sup>3</sup>. Vervolgens werden 4,12 gram dicyclohexylcarbodiimide opgelost in 5 cm<sup>3</sup> aceton langzaam

8002369

onder roeren aan de oplossing toegevoegd. Er ontstond een neerslag van gevormd dicyclohexylureum, dat na 16 uren werd gefiltreerd. De moederlogen werden onder verminderde druk geconcentreerd. Het aldus verkregen onzuivere produkt werd  
 5 gekristalliseerd uit methanol-aceton en verschaftte een vast, zeer hygroscoopisch produkt (opbrengst: 75%).

	C	H	N	Cl
Elem.An. $C_{17}H_{33}O_5N_2Cl$	berekend: 53,59%	8,75%	7,37%	9,31%
	gevonden: 63,63%	8,71%	7,33%	9,36%

10 NMR:  $\delta$  5,69 (m,  $-\underset{\underset{O}{|}}{CH}-$ ); 3,78 (d,  $-\overset{+}{N}-CH_2-$ ); 3,78 (s,  $-COOCH_3$ ); 3,27

(s,  $\overset{+}{N}(CH_3)_3$ ); 2,92 (d,  $-CH_2CO$ ); 2,71 (d,  $-OCOCH_2-$ );

1,52 (m,  $-CH_2-CH$ ) 1,11 (t,  $-CH_3$ ); 0,95 (d,  $C \begin{matrix} \swarrow CH_3 \\ \searrow CH_3 \end{matrix}$ );

4,52 (m,  $N-CH-$ );  $D_2O$ .

### Voorbeeld III

#### 15 Bereiding van acetylcarnitineamide van fenylglycineethylester (werkwijze A)

10 gram fenylglycine werden toegevoegd aan 150 ml absolute ethanol. Door het verkregen mengsel werd een stroom gasvormig waterstofchloride geborreld bij omgevings-  
 20 temperatuur onder roeren tot al het fenylglycine was opgelost. De verkregen oplossing werd een nacht geroerd en vervolgens gekoeld en onder een verminderde druk verdampt. Het residu werd opnieuw in water opgelost en geneutraliseerd met  $NaHCO_3$ . Fenylglycineethylester vrije base werd geëx-  
 25 traheerd met dichloormethaan.

Aan een oplossing van 1,8 g (10 mmol) fenylglycineethylester vrije base opgelost in 10 ml dichloormethaan werd een oplossing toegevoegd van acetylcarnitinechloride (10 mmol) in dichloormethaan. Het mengsel werd een nacht bij  
 30  $50^\circ C$  geroerd en vervolgens gekoeld. Na toevoeging van 50 ml diethylether aan deze oplossing ontstond een olie. De aldus gevormde olie werd opgelost in een mengsel van ethanol: aceton (5:1) en opnieuw met diethylether neergeslagen.

**8002369**



NMR (DMSO) $\delta$  = 1,1 (t,  $-\underline{\text{CH}_2}-\underline{\text{CH}_3}$ ); 2,0 (2,  $-\text{CO}-\underline{\text{CH}_3}$ ); 2,8

(d,  $-\underline{\text{CH}_2}-\text{COO}-$ );

3,2 (s,  $-(\underline{\text{CH}_3})_3-\text{N}$ ); 3,5 (d,  $-\text{N}-\underline{\text{CH}_2}$ ); 4,0

(q,  $-\underline{\text{CH}_2}-\underline{\text{CH}_3}$ );

5

5,4 (s,  $-\underline{\text{CH}}-\text{C}_6\text{H}_5$ ); 5,5 (m,  $-\text{CH}_2-\text{CH}-\text{CH}_2-$ );

7,5 (s,  $\text{C}_6\text{H}_5$ ) 9,2 (d,  $\text{CO}-\underline{\text{NH}}-$ )

Elem. An.	berekend:	C	H	N	Cl
		56,92	7,29	6,99	8,84
	gevonden	56,84	7,31	6,89	8,72.

#### Voorbeeld IV

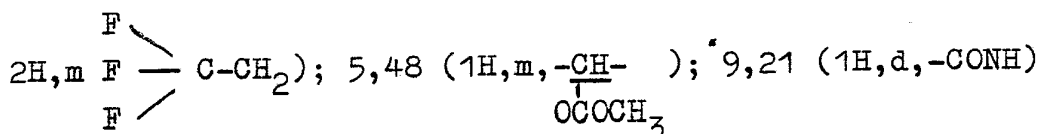
10 Bereiding van acetylcarnitinetrifluorethylamide (werkwijze B)  
(Verbinding met formule 3).

Aan een oplossing van 2,7 g (0,02 mol) 2.2.2-trifluor-ethylaminehydrochloride in 150 ml tetrahydrofuran en 2,8 ml (0,02 mol) triethylamine werden 4,8 g (0,02 mol) acetyl-  
15 carnitinechloride in 10 ml water en tenslotte 4,2 g (0,02 mol) N.N'-dicyclohexylcarbodiimide opgelost in 50 ml tetrahydrofuran toegevoegd. Het reactiemengsel werd een gehele dag bij omgevingstemperatuur geroerd. Er ontstond een neerslag. Het neerslag, bestaande uit dicyclohexylureum, werd  
20 gefiltreerd en het filtraat werd geconcentreerd tot volledige verwijdering van tetrahydrofuran. De achtergebleven water bevattende oplossing werd met 2x50 ml chloroform gewassen en vervolgens tot droog ingedampt. De onzuivere vaste stof werd met 30 ml acetonitrile opgenomen en het  
25 verkregen mengsel werd 2 uren op 0-5°C gehouden. Na filtreren van eventueel niet omgezet acetylcarnitine kristalliseerde na toevoeging van ethylacetaat-diethylether aan het filtraat een produkt als een meer hygroscopische vaste stof, die onder een stikstofatmosfeer onder watervrije omstandig-  
30 heden werd opgeslagen.

NMR ( $\text{D}_2$ ): 2,06 (3H, s  $-\text{OCOCH}_3$ ); 2,66 (2H, d  $\text{CH}_2$ , d,  $-\underline{\text{CH}_2}-\text{CONH}-$ );

3,16 (9H, s,  $(\text{CH}_3)_3\text{N}$ ); 3,61-4,18 (2H, m,  $(\text{CH}_3)_3\text{N}-\underline{\text{CH}_2}$ );

8002369



Elem.An.  $\text{C}_{11}\text{H}_{20}\text{ClF}_3\text{N}_2\text{O}_3$  berekend: 

C%	H%	Cl%	F%	N%
41,36	6,70	11,12	17,68	8,65

  
gevonden: 41,19 6,59 11,05 17,77 8,73

#### Farmacologische effecten.

5 De farmacologische effecten van de verbindingen, die het onderwerp van de uitvinding vormen, werden onderzocht door middel van de volgende technieken:

a) Acute toxiciteit (LD<sub>50</sub>)

10 De toegepaste methode was die beschreven door C.S. Weil in "Tables for convenient calculation of median-effect dose (LD<sub>50</sub> of ED<sub>50</sub>) and instructions on their use", Biometrics, 249-263, 1952.

De tolerantie van de verbindingen onder onderzoek  
15 werden bestudeerd na intraperitoneale of orale toediening aan ratten. De resultaten laten zien, dat de verbindingen onder onderzoek uitstekend getol<sup>er</sup>leerd worden (zie tabel A).

b) Inotrop effect.

Konijnenharten geïsoleerd volgens de methode van  
20 Langendorff werden bij 38,2°C overgoten in een zuurstof bevattende Ringer-oplossing. De isometrische concentraties, ECG en coronaire stroming werden geregistreerd onder toepassing van een "Battaglia-Rangoni" polygraaf.

Metabolische beschadiging in de hartspier werd ge-  
25 induceerd door verwijdering van de zuurstof uit de perfusievloeistof tot de contraherende kracht met 80% was verminderd.

Onder deze omstandigheden van voortgezette anoxie werd de myocardische aerobe glycolyse verminderd, vergezeld door accumulatie van catabolische zuren ten gevolge van  
30 de opslag van pyrodruivenzuur en de omzetting ervan tot melkzuur, die niet kan worden gebruikt ten gevolge van de verlaging van de pyridineachtige enzymen, zoals lactico-dehydrogenase. Dit beïnvloedt de anaerobe glycolyse, die een steeds toenemend aantal enzymen betreft, met een pro-  
35 gressieve en toenemend meer kritische uitputting van het myocardium.

8002369

Er is dus een gehele reeks cardiale spiermoeheidsniveaus, geregistreerd door het patroon van de parameters, die in aanmerking genomen worden, d.w.z. contraherende kracht, coronaire uitvoering, harttempo en hartritme.

5 Zodra het contraherend vermogen verminderd was met 80%, werd de perfusievloeistof opnieuw geoxygeneerd zonder toevoeging van andere verbindingen (controle) of met toevoeging van de verbindingen onder onderzoek bij verschillende concentraties.

10 Het contraherend vermogen van het hart werd onderzocht en vertoonde een positief inotroop effect na 10 minuten volgend op de onderbreking van de anoxieperiode (herstel van het myocardium).

De resultaten van de "t" proef van Student liet zien, 15 dat de verbindingen onder onderzoek een statistisch duidelijk positief inotroop effect ten opzichte van controleproeven opwekken. Tabel A illustreert de verhoogde procentagewaarden ten opzichte van controlewaarden.

c) Anti-arrytmisch effect.

20 Teneinde door middel van een in vivo proef het anti-arrytmische effect uitgeoefend door de verschillende carnitinederivaten naast en tegenover de gebruikelijke in vitro proeven te waarderen, werd de methode beschreven door Nwangwu et al. (Arch. Int. Pharmacodyn., 229 (1977) 219) 25 toegepast.

Deze methode wordt uitgevoerd door een aconitine-oplossing te injecteren in de staartslagader en de tijd van verschijnen van arrytmie en tachycardie van 2 tot 60 30 minuten volgend op de toediening van de verbindingen onder onderzoek te registreren.

Tabel A laat het anti-arrytmische effect zien berekend door toegenomen latentheidstijd voor de aanvang van arrytmieën bij behandelde dieren ten opzichte van controledieren.

d) Effect van antagonistiserend adrenaline

35 Mannelijke muizen van de Albino Swiss stam met een gewicht van 12-22 g, verdeeld in groepen van 10, werden behandeld met de verbindingen onder onderzoek of met zoutoplossing (controledieren) op intraperitoneale wijze en

vervolgens 30 minuten later met adrenaline behandeld met een dosering, die in staat is de dood te veroorzaken bij 100% van de controledieren tengevolge van venticulaire fibrillering en hartstoornissen voortkomend uit toegenomen harttempo, druk en zuurstofverbruik door het myocardium. De mortaliteit werd 36 uren geregistreerd en het effect van de verbindingen werd uitgedrukt in een percentage overlevenden ten opzichte van behandelde dieren. Zie tabel A.

e) Antagonisme ten opzichte van cardiazol.

10 Vrouwelijke ratten van het Albino Wistar type met een gewicht van 120-150 g ontvingen in afzonderlijke kooien de verbindingen onder onderzoek (mg/kg langs orale weg) en 100 mg/2 ml/kg cardiazol 30 minuten later.

Tabel B laat het percentage tegen dood door convulsies 15 beschermde dieren zien ten opzichte van controledieren gedurende de 5 uren volgende op de toediening.

f) Wisselwerking met barbituraten.

20 Mannelijke muizen van het Albino Swiss type met een gewicht van 18-22 g, verdeeld in groepen van 10, ontvingen de verbindingen onder onderzoek (mg/kg langs orale weg) of de drager (controle groep) en 75 mg/kg EVIPAN 30 minuten later.

De duur van de afwezigheid van de herstelreflex werd gemeten en het verschil ten opzichte van de controlegroep 25 werd berekend in percentagewaarden. Zie Tabel B.

g) Effekt op spontane motiliteit.

30 Mannelijke muizen van het Albino Swiss type met een gewicht van 18-22 g werden verdeeld in twee groepen van 5 en ten minste 1 week gekooid. Een groep ontving de verbindingen onder onderzoek en de andere groep (controlegroep) ontving de drager. De dieren bleven in hun kooien en werden op een ANIMEX (Farad-Sweden) apparaat geplaatst, die de bewegingen registreerde gedurende twee intervallen van 30 minuten beginnende vanaf 5 minuten na de toediening 35 van de verbindingen.

Tabel B geeft de resultaten uitgedrukt als percentagevariatie in het aantal spontane bewegingen van de behandelde dieren ten opzichte van die van de controledieren.

TABEL A

Farmacologische activiteit van enkele carnitine-amiden.  
 LD<sub>50</sub>, i.p. en oraal bij de muis, antifibrillerings-effect bij de muis, antagoniserend adrenaline effect bij de muis  
 en inotroop effect bij het geïsoleerde konijnhart.

8002369

(CH <sub>3</sub> ) N-CH <sub>2</sub> -CH-CH <sub>2</sub> -COOR'   OR'	LD <sub>50</sub> mg/kg i.p. oraal	Antifibrillerings-effect (mg/kg i.p. dosering) % vermindering	Antiadrenaline effect (mg/kg i.p. dosering) % mortaliteitsvermin- dering	Inotroop effect 10 <sup>-5</sup> gl. <sup>-1</sup> dosering % controle
R' = COCH <sub>3</sub>	1500 4000	70 (300)	65 (450)	+62
R'' = 2-sulfonyl-ethyl-amino	450 1300	65 (50)	60 (70)	+53
R'' = 2-hydroxy-3-carbomethoxy-propyl-amino	600 2400	100 (50)	80 (50)	+70
1-carbomethoxy-2 methyl "	1000 3500	70 (50)	75 (50)	+45
1- " -3 " butyl "	500 1200	65 (40)	50 (100)	+48
1- " -2 " "	1500 4200	80 (75)	55 (300)	+40
1- (1,2-dicarbomethoxy-ethyl) amino	1000 3600	65 (20)	40 (150)	+40
(1,3-dicarbomethoxy-propyl) amino				
R' = O-CO-CH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>	1500 4000	95 (150)	70 (300)	+50
R'' = 2-sulfonyl-ethyl-amino	500 1350	60 (35)	40 (50)	+65
1-carbomethoxy-2-methyl-propyl-amino	600 2350	75 (50)	70 (100)	+45
" 3 " butyl "	750 2500	65 (50)	50 (100)	+65
" 2 " "	590 1800	70 (40)	70 (100)	+50
1,2-dicarbomethoxy-ethyl-amino	400 1200	60 (10)	40 (70)	+45
1,3- " propyl "				
R' = O-CO-CH <sub>2</sub> -CH <sub>2</sub> -CH <sub>3</sub>	1500 4000	60 (50)	50 (300)	+40
R'' = 2-sulfonyl-ethyl-amino				

TABEL B

Farmacologische activiteit van enkele carnitine-amiden.

Antagonisme t.o.v. cardiazool bij de rat; wisselwerking met barbituraten bij de muis; effect op de spontane motiliteit bij de muis.

(CH <sub>3</sub> ) N-CH <sub>2</sub> -CH <sub>2</sub> -CH <sub>2</sub> -COOR'   OR'	Antagonisme t.o.v. cardiazool mg/kg i.p. dosering % bescherming tegen de dood	Barbituurwisselwerking mg/kg i.p. dosering % vermindering vax/verlies RR	Spontane motiliteit (mg/kg i.p. dosering) % toename t.o.v. controle (
R' = COCH <sub>3</sub>			
R'' = 2-sulfonyl-ethyl-amino	65 (150)	30 (100)	+25 (50)
2-hydroxy-3-carbomethoxy-propyl-amino	70 (150)	25 (50)	+30 (50)
1-carbomethoxy-2 methyl "	84 (100)	40 (50)	+50 (35)
1- " -3 " butyl "	60 (150)	35 (50)	+28 (25)
1- " -2 " " "	53 (100)	35 (40)	+34 (25)
(1,2-dicarbomethoxy-ethyl) amino	75 (50)	20 (75)	+60 (50)
(1,3-dicarbomethoxy propyl) amino	70 (50)	40 (20)	+19 (25)
R' = O-CO-CH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>			
R'' = 2-sulfonyl-ethyl-amino	40 (150)	60 (100)	+40 (50)
1-carbomethoxy-2-methyl-propyl-amino	38 (35)	58 (50)	+75 (25)
" " 3 " butyl "	32 (50)	31 (100)	+62 (50)
" " 2 " " "	39 (50)	27 (100)	+35 (100)
1,2-dicarbomethoxy-ethyl amino	51 (40)	25 (100)	+59 (25)
1,3- " propyl "	47 (50)	50 (50)	+25 (50)
R' = O-CO-CH <sub>2</sub> -CH <sub>2</sub> -CH <sub>3</sub>			
R'' = 2-sulfonyl-ethyl-amino	58 (50)	70 (50)	+43 (50)

RR = herstelreflex; gem. registratieduur = 48 min.

(a) = controlewaarde: 850<sup>±</sup>65 in 30 min. proefduur (5 muizen per kooi)

8002369

De verbindingen van de onderhavige uitvinding worden oraal of parenteraal toegediend, in elk van de gebruikelijke farmaceutische vormen, die bereid worden volgens de gebruikelijke methoden, die voor de deskundigen in de farmaceutische technologie bekend zijn. Tot deze vormen behoren vaste en vloeibare orale eenheidsdoseringsvormen zoals tabletten, capsules, oplossingen, siroop en dergelijke, alsmede injecteerbare vormen, zoals steriele oplossingen voor ampullen en flesjes.

Voor deze farmaceutische vormen worden de gebruikelijke oplosmiddelen, verdunningsmiddelen en versnijdingsmiddelen gebruikt. Desgewenst kunnen zoetstoffen, smaakstoffen en conserveringsmiddelen eveneens aanwezig zijn. Niet beperkende voorbeelden van dergelijke middelen zijn natriumcarboxymethylcellulose, polysorbaat, mannitol, sorbitol, zetmeel, avicel, talk en andere middelen, die voor de deskundigen in de farmaceutische technologie duidelijk zijn.

De dosering die zal worden toegediend, zal bepaald worden door de behandelende arts met het oog op de leeftijd, het gewicht en de algemene toestand van de patient, onder toepassing van een gedegen professionele beoordeling. Hoewel effectieve resultaten kunnen worden opgemerkt bij doseringen van 5-8 mg/kg lichaamsgewicht per dag, verdient een dosering van ongeveer 10 tot ongeveer 50 mg/kg lichaamsgewicht de voorkeur. Indien noodzakelijk kunnen grotere doseringen veilig worden toegediend met het oog op de geringe toxiciteit van de verbindingen volgens de uitvinding.

Als niet-beperkende voorbeelden en afhankelijk van de specifiek farmaceutische toedieningsvorm kunnen de volgende doseringen worden aangegeven:

voor de flesjes	: 5 - 500 mg
voor de capsules	: 15 - 50 mg
voor de tabletten	: 15 - 500 mg
voor de orale oplossingen	: 15 - 50 mg

CONCLUSIES

1. Amiden van acyl-carnitinen met de algemene formule 1, waarin
- X<sup>-</sup> een halogeenanion, bij voorkeur Cl<sup>-</sup> voorstelt,
- R' acetyl, met halogeen gesubstitueerd acetyl, bijvoorbeeld
- 5 chlooracetyl, dichlooracetyl, broomacetyl en dergelijke, propionyl, met halogeen gesubstitueerd propionyl, bijvoorbeeld broompropionyl, butyryl, met halogeen gesubstitueerd butyryl, bijvoorbeeld chloorbutyryl, isobutyryl, β-hydroxybutyryl, acetoacetyl, linoleyl en
- 10 pantothenyl voorstelt, en
- R'' amino (mits R' geen acetyl is), 2-sulfonylethylamino, (2-hydroxy-3-carbomethoxypropyl) amino, (1-carbomethoxy-2-methylpropyl) amino, (1-carbomethoxy-3-methyl-n-butyl) amino, (1-carbomethoxy-2-methyl-n-butyl) amino,
- 15 (1.2-dicarbomethoxyethyl) amino, (1.3-dicarbomethoxypropyl) amino, (α-carbomethoxybenzyl) amino, (4-carbomethoxyfenyl) amino, (2-mercapto-1-carbomethoxyethyl) amino, 2-mercaptoethylamino, (5-trimethylammoniumchloride-1-carbomethoxypentyl) amino, (carbomethoxymethyl) amino en
- 20 (carbomethoxyethyl) amino voorstelt.

2. Amiden volgens conclusie 1, met het kenmerk, dat het met halogeen gesubstitueerde acetyl **chloor-**acetyl, dichlooracetyl of broomacetyl is, het met halogeen gesubstitueerde propionyl broompropionyl is en het met

25 halogeen gesubstitueerde butyryl chloorbutyryl is.

3. Werkwijze ter bereiding van carnitine derivaten, met het kenmerk, dat men de verbindingen met formule 1, waarin de symbolen de bij conclusie 1 vermelde betekenissen bezitten, op een op zichzelf bekende

30 wijze bereidt.

4. Werkwijze ter bereiding van carnitine derivaten, met het kenmerk, dat men verbindingen met formule 1, waarin de symbolen de bij conclusie 1 vermelde betekenissen bezitten, bereidt, doordat men

35(a) aan een oplossing van carnitine in een oplosmiddel zoals een organische zuur of een anhydride ervan, een acyl-



- halogenide met formule R'X toevoegt, waarin R' de hiervoor  
vermelde betekenissen bezit en X een halogeenatoom voor-  
stelt, en de temperatuur van het aldus verkregen mengsel  
ongeveer 4-48 uren op ongeveer 15-60°C houdt, waardoor het  
5 overeenkomstige acylderivaat van carnitine verkregen wordt,  
(b) het acylderivaat van carnitine isoleert door toevoeging  
aan het mengsel van trap (a) van een precipitatiemiddel en  
door herhaalde kristallisaties zuivert,  
(c) het acylderivaat van carnitine van trap (b) met een  
10 overmaat van een halogeneringsmiddel bij ongeveer 25-60°C  
gedurende ongeveer 0,3 - 24 uren omzet en de overmaat halo-  
generingsmiddel verwijdert, waardoor het overeenkomstige  
zuurhalogenide van het acylderivaat van carnitine verkregen  
wordt,  
15 (d) het zuurhalogenide van het acylderivaat van carnitine  
van trap (c) oplost in een watervrij inert oplosmiddel,  
(e) het zuurhalogenide van het acylderivaat van carnitine  
condenseert met een organische base zoals een ester van  
een aminozuur met een alifatische alcohol met 1-4 koolstof-  
20 atomen of een amine met formule R"H, waarin R" de hiervoor  
vermelde betekenissen bezit, opgelost in een watervrij in-  
ert oplosmiddel, het verkregen mengsel bij omgevingstempe-  
ratuur ongeveer 6-48 uren roert, waarbij het amide met  
formule 1 verkregen wordt, en  
25 (f) het amide met formule 1 isoleert door concentratie van  
het mengsel van trap (e) en door herhaalde kristallisaties  
zuivert.

5. Werkwijze volgens conclusie 4, m e t h e t  
k e n m e r k, dat men bij trap (e) als alifatische al-  
30 cohol methanol, ethanol of isopropanol toepast.

6. Werkwijze ter bereiding van carnitinederivaten,  
m e t h e t k e n m e r k, dat men verbindingen met  
formule 1, waarin de symbolen de bij conclusie 1 vermelde  
betekenissen bezitten bereidt, doordat men  
35 (a') aan een oplossing van carnitine in een oplosmiddel  
zoals een organisch zuur of een anhydride ervan, een acyl-  
halogenide met formule R'X toevoegt, waarin R' de hiervoor  
vermelde betekenissen heeft en X een halogeenatoom voor-  
stelt, en de temperatuur van het aldus verkregen mengsel

8002369

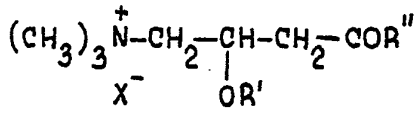
ongeveer 4-48 uren op ongeveer 15-60°C houdt, waarbij het  
 overeenkomstige acylderivaat van carnitine verkregen wordt,  
 (b') het acylderivaat van carnitine isoleert door toevoeging  
 aan het mengsel van trap (a') van een precipitatiemiddel en  
 5 door herhaalde kristallisaties zuivert,  
 (c') het acylderivaat van carnitine van trap (b') in een  
 water bevattende oplossing condenseert met een organische  
 base zoals een ester van een aminozuur met een alifatische  
 alcohol met 1-4 koolstofatomen of een amine met formule R<sup>n</sup>X,  
 10 waarin R<sup>n</sup> de hiervoor vermelde betekenissen bezit, in op-  
 lossing van organische oplosmiddelen bij aanwezigheid van  
 een oplossing in een organisch oplosmiddel van dicyclo-  
 hexylcarbodiimide, het aldus verkregen mengsel 2-24 uren  
 bij omgevingstemperatuur roert, waarbij het amide met formule  
 15 1 en een precipitaat van dicyclohexylureum verkregen worden,  
 en  
 (d') het precipitaat van dicyclohexylureum filtreert en het  
 amide met formule 1 isoleert door concentratie van het fil-  
 traat, drogen en herhaald kristalliseren uit organische  
 20 oplosmiddelen.

7. Farmaceutisch preparaat g e e k e n m e r k t d o o r  
 de aanwezigheid van een therapeutisch werkzame hoeveelheid  
 van een amide met formule 1 en/of een farmacologisch aan-  
 vaardbaar versnijdingsmiddel. een

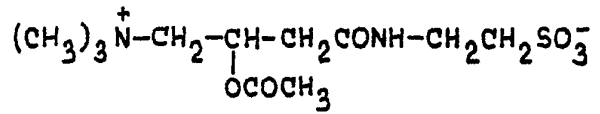
25 8. Werkwijze ter bereiding van/farmaceutisch preparaat,  
 m e t h e t k e n m e r k, dat men een of meer verbin-  
 dingen met formule 1, waarin de symbolen de bij conclusie 1  
 vermelde betekenissen bezitten, in een voor een dergelijke  
 toepassing geschikte vorm brengt.

---

1.



2.



3.

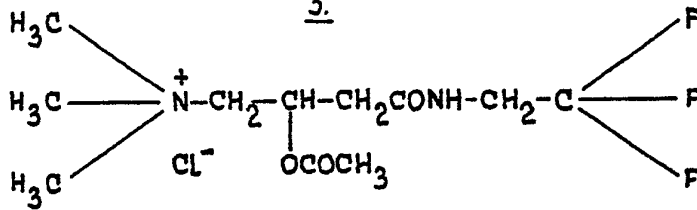
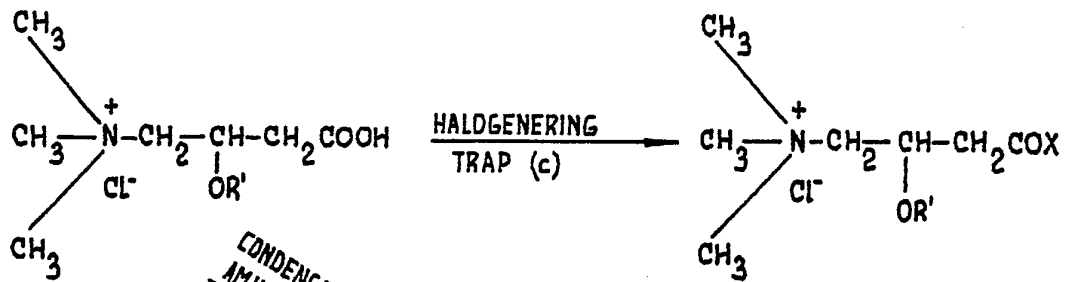
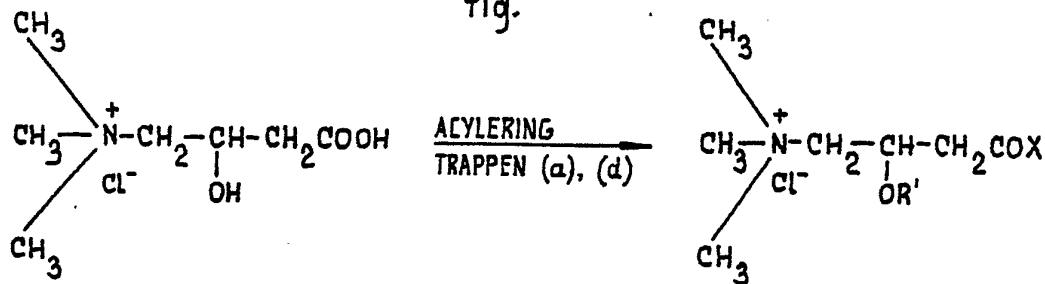


fig.



CONDENSATIE MET AMINOZUURESTER (OF AMINE) + DICYCLHEXYLCARBODIIMIDE EN ISDLERING  
TRAPPEN (c') EN (d')

CONDENSATIE MET AMINOZUURESTER (OF AMINE) EN ISDLERING

