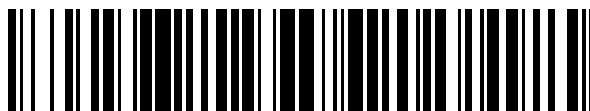


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 394 882**

51 Int. Cl.:

C07K 5/06 (2006.01)
A61K 47/48 (2006.01)
A61K 31/401 (2006.01)
A61K 31/435 (2006.01)
A61K 31/198 (2006.01)
C07K 5/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **15.01.2004 E 04702332 (0)**

97 Fecha y número de publicación de la solicitud europea: **12.10.2005 EP 1583526**

54 Título: **4-amidino- y 4-guanidinobencilaminas aciladas para la inhibición de calicreína de plasma**

30 Prioridad:

15.01.2003 DE 10301300

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

06.02.2013

73 Titular/es:

**THE MEDICINES COMPANY (LEIPZIG) GMBH
(100.0%)
DEUTSCHER PLATZ 5D
04103 LEIPZIG, DE**

72 Inventor/es:

**STÜRZEBECKER, JÖRG;
STEINMETZER, TORSTEN y
SCHWEINITZ, ANDREA**

74 Agente/Representante:

CARVAJAL Y URQUIJO, Isabel

ES 2 394 882 T3

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

DESCRIPCIÓN

4-amidino- y 4-guanidinobencilaminas aciladas para la inhibición de calicreína de plasma

La invención se refiere al empleo de 4-amidino- o 4-guanidinobencilamina aciladas según la fórmula general (V) o (VI), donde P4 es un grupo bencilsulfonylo sustituido una o varias veces o no sustituido, P3 es un α -aminoácido o ácido α -iminoico natural o no natural, sustituido una o varias veces o no sustituido en la configuración D, P2 es un α -aminoácido o ácido α -iminoico natural o no natural, sustituido una o varias veces o no sustituido en la configuración L, y P1 es un grupo 4-amidino- o 4-guanidinobencilamino sustituido una o varias veces o no sustituido, donde la 4-amidino- o 4-guanidinobencilamina aciladas están unidas de modo covalente a una superficie plástica bien sea por una unión amida o sulfonamida, un puente disulfuro o la introducción de un grupo alquilo en un grupo mercapto, para la inhibición de calicreína de plasma (PK). En ello se emplean los nuevos inhibidores PK para impedir la activación de coagulación sobre superficies plásticas y para la administración sistémica como anticoagulantes/antitrombóticos, sobre todo para impedir la activación de coagulación sobre superficies plásticas, para prevenir eventos tromboembólicos.

Además, la presente invención se refiere de por sí a las nuevas 4-amidino- o 4-guanidinobencilaminas aciladas, donde en particular se prefieren aquellas que exhiben un grupo de unión en P2 o P4, donde estos grupos de unión son oligo- o polialquilenglicoles.

Así mismo, la presente invención se refiere también al empleo de las 4-amidino o 4-guanidinobencilaminas aciladas arriba mencionadas para la inhibición de factor XIa y/o factor XIIa. En el marco de la presente invención se describe también el empleo de los compuestos arriba mencionados para la inhibición de trombina y protrombina.

PK es una serinproteasa multifuncional de tipo tripsina para la cual se conocen varios sustratos fisiológicos. De este modo PK puede liberar mediante escisión proteolítica el péptido vasoactivo bradiquinina a partir de quinínogeno de alto peso molecular y activar las proteasas de factor de coagulación XII, pro-uroquinasa, plasminógeno y Pro-MMP 3. Por ello se asume que el sistema PK/quinina posee un papel importante en diferentes enfermedades, así por ejemplo en situaciones tromboembólicas, la coagulación intravascular diseminada, choque séptico, alergias, el síndrome postgastrectomía, artritis y ARDS (síndrome de dificultad respiratoria adulta) (Tada et al., Biol. Pharm. Bull 24, 520-524, 2001).

Mediante la activación del factor de coagulación XII hasta dar factor XIIa, PK juega un papel sobre todo en la activación de la cascada intrínseca de coagulación. Puede tener lugar una activación de la cascada intrínseca de coagulación, cuando la sangre entra en contacto con superficies plásticas en circuitos sanguíneos extracorporales, como por ejemplo en la hemodiálisis o en el empleo de oxigenadores. Mediante la unión de factor XII sobre superficies en particular cargadas negativamente y/o plásticas se inicia la cascada intrínseca de coagulación por la autoactivación o bien mediante trazas de PK (Kaplan, Prog. Hemostasis Thromb. 4, 127-175, 1978). El factor XII activado (F XIIa) cataliza la transformación de precalicreína de plasma hasta dar PK, la cual- en el sentido de una retroalimentación positiva - provoca la formación adicional de factor XIIa (Griffin, Proc. natl. Acad. Sci. USA 75, 1998-2002, 1978). De acuerdo con la importancia del factor XIIa y PK en la fase temprana de la cascada intrínseca de coagulación, los inhibidores deberían también inhibir la coagulación de estas enzimas. En el marco de esta fase temprana, la activación intrínseca de coagulación activa el factor XI-la desde el factor XI hasta factor XIa.

Como inhibidores tanto de la cascada de coagulación intrínseca como también extrínseca y con ello para la profilaxis y terapia de las enfermedades mencionadas arriba, como por ejemplo situaciones tromboembólicas, coagulación intravascular diseminada, choque séptico, alergias, el síndrome de postgastrectomía, artritis y ARDS, se emplean anticoagulantes del tipo heparina, antagonistas de vitamina K o hirudina. Puesto que los anticoagulantes corrientes no satisfacen todos los requerimientos de un antitrombótico "ideal", por ejemplo debido a su baja especificidad, complicaciones hemorrágicas emergentes, reducido tiempo de vida media o insuficiente disponibilidad oral, se prueba desarrollar alternativas de trombina y factor Xa con inhibidores de molécula pequeña de las proteasas de coagulación. También el factor VIIa, la enzima inicial de la vía extrínseca de coagulación, es una enzima objetivo con múltiples investigaciones para el desarrollo de inhibidores (Robinson y Saiah, Ann. Rep. Med. Chem. 37, 85-94, 2002). Sin embargo, un inhibidor de trombina y F Xa o bien un inhibidor de F VIIa como un inhibidor específico de la cascada extrínseca de coagulación no posee ningún efecto inhibitorio sobre la por ejemplo activación de la cascada intrínseca de coagulación, causada por contacto de la sangre con superficies plásticas.

En la búsqueda de inhibidores para las dos enzimas factor XIIa y PK, que desencadenan la coagulación intrínseca después de la activación sobre una superficie cargada, existen sólo pocas aproximaciones. Para el derivado de ácido guanidinoalquilcarboxílico FOY (Isobe, Blood & Vessel 12, 135-138, 1981), leupeptina, el inhibidor de trombinia Na-dansil-L-arginina-4-etilpiperidida (Ratnoff, Blood 57, 55-58, 1981) y diferentes tripéptidos (ésteres, amidas) (Fareed et al. Ann. N. York Acad. Sci. 370, 765-784, 1981; Silverberg y Kaplan, Blood 60, 64-70, 1982) se discutió un cierto efecto inhibitorio respecto al factor XIIa. Se describieron inhibidores eficaces con amidas del ácido 4-

amidinofenil- α -aminobutírico sustituido con Na (Stürzebecher et al., Zentralbl. Pharm. Pharmakother. Lab. Diagn. 122,240-241,1983).

5 Como inhibidores de PK se remite a diferentes bis-benzamidas como pentamidina y compuestos relacionados con valores K_i de 50 μM , como efectivos (Ashgar et al., Biochim. Biophys. Acta 438, 250-264, 1976). También se describieron ésteres de ω -aminoácidos y ácidos ω -guanidinoalquilcarboxílicos como inhibidores de PK con valores micromolares K_i (Muramatu y Fuji, Biochim. Biophys. Acta 242, 203-208, 1971; Muramatu y Fuji, Biochim. Biophys. Acta 268, 221-224, 1972; Ohno et al. Thromb. Res. 19, 579-588, 1980; Muramatu et al. Hoppe-Seiler's Z. Physiol. Chem. 363, 203-211, 1982; Satoh et al. Chem. Pharm. Bull. 33, 647-654, 1985; Teno et al. Chem. Pharm. Bull. 39, 2930-2936, 1991). Los primeros inhibidores competitivos altamente selectivos que se derivan de arginina o bien fenilalanina, fueron desarrollados por Okamoto et al. (Thromb. Res., Suppl. VIII, 131-141, 1988) e inhiben PK con valores K_i de 1 μM . Se publicaron varios trabajos del grupo de Okada para el desarrollo de inhibidores competitivos de PK, donde los compuestos eficaces que se derivan de la trans-4-amino-metilciclohexancarboxil-Phe-4-carboximetilanilida, poseen constantes de inhibición de 0,5 μM (Okada et al., Biopolimers 51, 41-50, 1999; Okada et al., Bioorg. Med. Chem. Lett. 10, 2217-2221; 2000, Tsuda et al., Chem. Pharm. Bull. 49, 1457-1463, 2001). Es común a los mencionados inhibidores de PK su valor relativamente alto de K_i . En WO 00/41531 se describieron potentes inhibidores de PK con constantes de inhibición de 1 nM, que como P1 poseen un radical 4-amidinoanilina. Sin embargo estos inhibidores descritos en WO 00/41531 no son adecuados para ser acoplados de modo covalente sobre superficies plásticas. También se describieron inhibidores de PK en WO 94/29336, los cuales se diferencian esencialmente de los compuestos según la presente invención, en que los compuestos presentes en WO 94/29336 no contienen los radicales decisivos bencil sulfonilo (P4). Además, en WO 94/29336 no se describe ningún acoplamiento de los compuestos, por ejemplo sobre superficies plásticas.

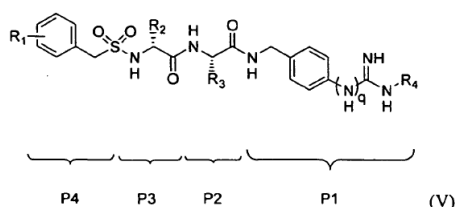
DE 10102878 describe inhibidores de serinproteasas tipo tripsina, que son adecuados para el revestimiento de superficies plásticas, para impedir la coagulación sobre estas superficies plásticas.

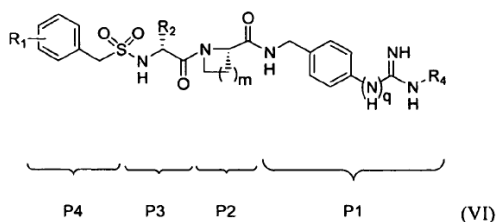
25 Entretanto, se describen también algunos inhibidores análogos al estado de transición de PK, que como radical P1 poseen un arginal (por ejemplo adamantiloxicarbonil-D-Phe-Phe-arginal, K_i 12 nM, Garrett et al., J. Pept. Res. 52, 60-71, 1998) o arginiltrifluorometilcetona (por ejemplo adamantiloxicarbonil-D-tert.butilglicin-Phe-Arg-CF₃, K_i 2 nM, Garrett et al., Bioorg. Med. Chem. Lett. 9, 301-306, 1999). También para el inicialmente desarrollado inhibidor de trombina derivado de boroarginina DuP 714 (Ac-D-Phe-Pro-boroarginina) se encontró una fuerte inhibición de PK (K_i 1,6 nM) (Kettner et al., J. Biol. Chem. 265, 18289-18297). Sin embargo tales inhibidores de proteasa análogos al estado de transición tienen la desventaja de que ellos son accesibles sólo mediante costosas síntesis, tienen tendencia a la formación de mezclas racémicas y son inhibidores muy inespecíficos.

35 También mediante diferentes clorometilcetonas se alcanza una inhibición irreversible de PK. H-Ala-Phe-ArgCH₂Cl y H-Pro-Phe-ArgCH₂Cl fueron descritos como los compuestos más reactivos (Kettner y Shaw, Biochemistry 17, 4778-4784, 1978). Sin embargo las peptidilclorometilcetonas son adecuadas exclusivamente para propósitos de investigación puesto que *in vivo* ellas poseen sólo una estabilidad de pocos minutos (Lawson et al., Folia Haematol. (Leipzig) 109, 52-60, 1982; Collen et al., J. Lab. Clin. Med. 99,76-83, 1982).

40 De allí que la invención basa su objetivo en poner a disposición principios activos adecuados para aplicaciones terapéuticas, que con elevada actividad y especificidad inhiban la calicreína de plasma y que después del acoplamiento sobre una superficie plástica o bien después de la administración parenteral, enteral o tópica, en particular intravenosa o subcutánea, sean eficaces en la inhibición de la coagulación.

Se encontró sorprendentemente que 4-amidino- o 4-guanidinobencilaminas aciladas según las fórmula generales, V o VI





con $m = 1$ a 3 y $q = 0$ o 1 ,

donde R_1 , R_2 , R_3 y/o R_4 son

(a) hidrógeno y/o

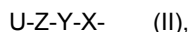
5 (b) un halógeno y/o

(c) un radical alquilo sustituido o no sustituido, ramificado o lineal con 1-6 átomos de C, donde el sustituyente del radical alquilo sustituido, ramificado o lineal es un grupo halógeno, hidroxilo, amino, ciano, amidino, guanidino y/o carboxilo, dado el caso esterificado con un radical alquilo con 1-6 átomos de C y/o

10 (d) un grupo hidroxilo, amino, ciano, amidino, guanidino, metiloxycarbonilo, bencilo, benciloxycarbonilo, aminometilo o glutarilo o succinil-amidometilo y/o es un grupo oxialquilcarbonilo, carboxilo, carboximetilo o carboxietilo, dado el caso esterificado con un radical alquilo con 1-6 átomos de C o un grupo oxialquilcarbonilo, carboxilo, carboximetilo o carboxietilo, que están presentes como amida no sustituida o sustituida con un grupo alquilo o arilo y/o R_1 y/o R_3 son un grupo de unión, donde los grupos de unión son elegidos de entre un sustituyente de (c) un radical alquilo sustituido o no sustituido, ramificado o lineal con 1-6 átomos de C o un radical aralquilo sustituido o no sustituido, ramificado o lineal con 1-10 átomos de C, donde el sustituyente del radical alquilo o radical aralquilo sustituido, ramificado o lineal es un grupo halógeno, hidroxilo, amino, ciano, amidino, guanidino y/o uno carboxilo, dado el caso esterificado con un radical alquilo con 1-6 átomos de C, y/o

20 (d) un grupo hidroxilo, amino, ciano, amidino, guanidino, metiloxycarbonilo, bencilo, benciloxycarbonilo, aminometilo o glutarilo o succinil-amidometilo y/o un grupo oxialquilcarbonilo, carboxilo, carboximetilo o carboxietilo dado el caso esterificado con un radical alquilo con 1-6 átomos de C o un grupo oxialquilcarbonilo, carboxilo, carboximetilo o carboxietilo, que está presente como amida no sustituida o sustituida con un grupo alquilo o arilo,

25 están acoplados sobre P4 o directamente sobre un grupo funcional de P2 por un grupo -NH- o -CO-, donde los grupos de unión son un ácido dicarboxílico, un ácido aminocarboxílico, una diamina, un ácido disulfónico, o un ácido aminosulfónico con una estructura básica alquilo, arilo o aralquilo, donde la estructura básica de alquilo exhibe 1 a 12 átomos de C, la estructura básica de arilo exhibe 6-10 átomos de C, la estructura básica de aralquilo exhibe 6-12 átomos de C, o un grupo aminoalquilo o carboxialquilo con 2-12 átomos de C; o donde los grupos de unión sobre P4 o P2 son una cadena de poli- u oligoetilen- o poli- u oligopropilenglicol, donde el poli- o oligoetilen- o poli- u oligopropilenglicol por lo menos en ambos extremos exhibe un grupo amino, carboxilo y/o mercapto sustituido o no sustituido o donde el poli- u oligoetilen- o poli- u oligopropilenglicol en por lo menos un extremo exhibe un grupo amino, carboxilo y/o mercapto sustituido o no sustituido y en el otro extremo está modificado con un grupo alquilo con 1-4 átomos de C y/o R_1 exhibe la fórmula (II)



35 donde

U es igual a un grupo H_2N- , $HOOC-(CH_2)_n-CO-NH-$, $HOOC-$, $H_2N-(CH_2)_n-NH-CO-$ o HS con Z igual a $-(CH_2)_n$ con $n = 1$ a 10 , o Z es igual a un oligo- o polialquilenglicol de la fórmula general $-(CH_2)_d-[OCH_2-CH_2]_vO-(CH_2)_m-(NH-CO-CH_2-O-CH_2)_k-$ o $-(CH_2)_d-[O-CH(CH_3)-CH_2]_vO-(CH_2)_m-(NH-CO-CH_2-O-CH_2)_k$ con $d = 1, 2, 3$ o 4 , $v =$ un número entero de 1 a 1000 , $m = 0, 1, 2, 3$ o 4 y $k = 0$ o 1 o

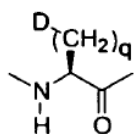
40 U es igual a un grupo CH_3-O- con Z igual a un oligo- o polialquilenglicol de la fórmula general $-(CH_2)_d-[OCH_2-CH_2]_vO-(CH_2)_m-(NH-CO-CH_2-O-CH_2)_k-$ o $-(CH_2)_d-[O-CH(CH_3)-CH_2]_vO-(CH_2)_m-(NH-CO-CH_2-O-CH_2)_k$ con $d = 1, 2, 3$ o 4 , $v =$ un número entero de 1 a 1000 , $m = 0, 1, 2, 3$ o 4 y $k = 0$ o 1 ;

Y es igual a un grupo -CO-NH-, un grupo -NH-CO-, un grupo -SO₂-NH- un grupo -NH-SO₂-, un grupo -S-S- o un grupo -S- o cuando U y Z no están presentes es igual a un grupo H₂N-, HOOC-, HS-, HO- o halogenalquilo;

5 X es igual a un grupo -(CH₂)_n- con n = 0, 1, 2, 3 o 4 o igual a un grupo -(CH₂)_n-O- con enlace al radical bencilo sobre el oxígeno y n = 1, 2, 3 o 4;

y el acoplamiento del grupo de unión sobre el anillo fenilo de radical bencilo proviene de X en caso de que esté presente o proviene de Y, cuando X no esté presente,

y P2 con R₃ exhibe la fórmula (III)



(III),

10 donde q = 0, 1, 2, 3, 4 o 5 y D es igual a la fórmula IV

U-Z-Y- (IV),

donde U, Z y Y poseen el mismo significado que en la fórmula II,

y

15 R4 es hidroxilo, amino y alcocarbonilo, caracterizada porque la 4-amidino- o 4-guanidinobencilamina acilada está unida de modo covalente bien sea mediante un enlace amido o sulfonamido, un puente disulfuro o por la adición de un grupo alquilo a un grupo mercapto a una superficie plástica,

20 donde la superficie plástica consiste en diacetato de celulosa, triacetato de celulosa, poli(etersulfona), poli(ariletersulfona), celulosa regenerada, cuprofan, hemofan, poli(sulfona), poli(acrilonitrilo), poli(vinilalcohol), poli(carbonato), poli(amida), poli(metilmetacrilato), poli(etilen-co-vinilalcohol) u otro material empleado en equipos como dializadores, oxigenadores, catéteres, membranas y/o los sistemas de mangueras pertenecientes a los equipos y/o trampas de aire para las superficies que entran en contacto con sangre, y

25 el material superficial para el acoplamiento covalente de la molécula de la fórmula general (V) o (VI) está modificado sobre el grupo de unión acoplado en P4 o P2, con grupos funcionales elegidos de entre grupos amino, grupos aminoalquilo, grupos carboxilo, grupos carboxialquilo, grupos mercapto, grupos mercaptoalquilo, grupos hidroxilo y grupos hidroxialquilo, inactivan de manera muy efectiva la caliceína de plasma, también son efectivos en la inhibición de la coagulación después del acoplamiento sobre una superficie plástica y pueden ser empleados tanto de modo parenteral, enteral o tópico, en particular intravenoso o subcutáneo.

30 Una ventaja particular del derivado acorde con la invención de la 4-amidino- o bien 4-guanidinobencilamina aciladas es su capacidad de inactivar PK también después del enlace sobre una superficie plástica con elevada actividad. De allí que los compuestos acordes con la invención representan un nuevo grupo de inhibidores de caliceína de plasma altamente activos y en particular que pueden acoplarse.

35 En el sentido de la presente invención, una superficie plástica es una superficie que por ejemplo consiste en diacetato de celulosa, triacetato de celulosa, poli(etersulfona), poli(ariletersulfona), celulosa regenerada, cuprofan, hemofan, poli(sulfona), poli(acrilonitrilo), poli(vinilalcohol), poli(carbonato), poli(amida), poli(metilmetacrilato), poli(etilen-co-vinilalcohol) u otro material empleado en equipos como dializadores, oxigenadores, catéteres, membranas y/o los sistemas de mangueras y/o trampas de aire pertenecientes a los equipos, que en particular entran en contacto con la sangre en circuitos extracorporales, donde para hacer posible un acoplamiento covalente de los inhibidores, los materiales superficiales están modificados dado el caso con grupos funcionales, por ejemplo grupos amino, grupos aminoalquilo, grupos carboxilo, grupos carboxialquilo, grupos mercapto, grupos mercaptoalquilo, grupos hidroxilo, grupos hidroxialquilo.

40 Según una forma preferida de operar, el sustituyente en el P4, P3, P2 y/o P1 sustituido es hidrógeno y/o un halógeno, preferiblemente flúor, cloro y/o bromo y/o un radical alquilo sustituido o no sustituido, ramificado o lineal con 1-6 átomos de C, preferiblemente 1-3 átomos de C, en particular metilo, o un radical aralquilo sustituido o no

5 sustituido, ramificado o lineal con 1-10 átomos de C, donde el sustituyente del radical alquilo o radical aralquilo sustituido lineal o ramificado es preferiblemente un grupo halógeno, hidroxilo, amino, ciano, amidino, guanidino y/o carboxilo, dado el caso esterificado con un radical alquilo pequeño, y/o un grupo hidroxilo amino, ciano, amidino, guanidino, metiloxycarbonilo, bencilo, benciloxycarbonilo, aminometilo o glutarilo o succinil-amidometilo y/o es un grupo oxialquilcarbonilo, carboxilo, carboximetilo o carboxietilo dado el caso esterificado con un radical alquilo pequeño en particular con metilo o etilo o un grupo oxialquilcarbonilo, carboxilo, carboximetilo o carboxietilo, el cual está presente como amida no sustituida o sustituida con un grupo alquilo o arilo.

10 En caso de que no se indique de otro modo, en el sentido de la presente invención se entiende por un radical alquilo siempre un radical alquilo con 1-12 átomos de C, se entiende por un radical arilo un radical arilo con 6 a 10 átomos de C y se entiende por un radical aralquilo un radical aralquilo con 6 a 12 átomos de C.

Adicionalmente puede acoplarse un grupo de unión en P4 o P2, donde el grupo de unión está acoplado sobre un sustituyente descrito arriba en P4 o directamente sobre un grupo funcional de P2, en particular sobre un grupo -NH- o un grupo -CO.

15 En el sentido de la presente invención se define como un grupo de unión a una estructura química, que exhibe por lo menos un grupo funcional para el acoplamiento covalente sobre una 4-amidino- o bien 4-guanidinobencilamina aciladas, en P4 o P2 y además exhibe bien sea por lo menos un segundo grupo funcional para el acoplamiento covalente simultáneo a una superficie plástica o acoplamiento simultáneo a una segunda molécula de la 4-amidino o bien 4-guanidinobencilamina aciladas y/o exhibe un grupo oligo- o polialquilenglicol, que esta en capacidad de acoplarse sobre ésta de modo no covalente mediante interacción con la superficie plástica.

20 De allí que, según la presente invención, un grupo de unión es un ácido dicarboxílico, un ácido aminocarboxílico, una diamina, un ácido disulfónico, o un ácido aminosulfónico con una estructura básica alquilo, arilo o aralquilo, donde la estructura básica alquilo exhibe 1 a 12 átomos de C, en particular 2-6 átomos de C, la estructura básica arilo exhibe 6-10 átomos de C, en particular fenilo, la estructura básica aralquilo exhibe 6-12 átomos de C, en particular bencilo, o un grupo aminoalquilo o carboxialquilo con 2-12 átomos de C, en particular 2-6 átomos de C; o
25 donde los grupos de unión P4 o P2 son una cadena poli- u oligoetilen- o poli- u oligopropilenglicol, donde el poli- u oligoetilen- o poli- u oligopropilenglicol exhiben en los dos extremos por lo menos un grupo funcional, en particular un grupo amino, carboxilo y/o mercapto sustituido o no sustituido o donde el poli- u oligoetilen- o poli u oligopropilenglicol exhiben por lo menos un grupo funcional en un extremo, en particular un grupo amino, carboxilo y/o mercapto sustituido o no sustituido y en el otro extremo está modificado con un grupo CH₃.

30 En el acoplamiento del grupo de unión a P4 el grupo de unión está acoplado en P4 preferiblemente con un grupo -NH-, grupo -NH-alquilo con 1 a 6 Átomos de C, en particular metilo, un grupo -CO-, un grupo -CO-alquilo con 2-6 átomos de C, en particular -CO-metilo, un grupo -CO-O-alquilo con 1-6 átomos de C, en particular metilo, un grupo -S-, un grupo -S-alquilo con 1 a 6 átomos de C, en particular metilo, el grupo -O-alquilo con 1-6 átomos de C, en particular metilo, un grupo -SO₂- o un grupo -SO₂-alquilo con 1-6 átomos de C, en particular metilo.

35 En lugar de P4, el grupo de unión puede estar acoplado también en P2, donde P2 es preferiblemente lisina o su homólogo con 1-5 átomos de C en la cadena lateral, en particular ornitina, homolisina, ácido α-γ-diaminobutírico, ácido α-β-diaminopropiónico, α-diaminoglicina o ácido glutámico o sus homólogos con 1-5 átomos de C en la cadena lateral, en particular ácido asparagínico, ácido glutámico o ácido homoglutámico o cisteína u homocisteína o serina o treonina.

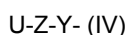
40 Según una forma preferida de operar de la presente invención el grupo de unión acoplado a P4 con los sustituyentes para el acoplamiento en P4 exhibe la fórmula general U-Z-Y-X- (II), donde U es igual a un grupo H₂N-, HOOC-(CH₂)_n-CO-NH-, HOOC-, H₂N-(CH₂)_n-NH-CO- o HS- con Z igual a -(CH₂)_n- con n = 1 a 10, en particular 1-5, o Z igual a un oligo- o polialquilenglicol de la fórmula general- (CH₂)_d-[OCH₂-CH₂]_vO-(CH₂)_m-(NH-CO-CH₂-O-CH₂)_k- o -(CH₂)_d-
45 [O-CH(CH₃)-CH₂]_vO-(CH₂)_m-(NH-CO-CH₂-O-CH₂)_k- con d = 1, 2, 3 o 4, v = número entero de 1 a 1000, preferiblemente 1 a 50, en particular 2 a 10, m = 0, 1, 2, 3 o 4 y k = 0 o 1 o U es igual a un grupo CH₃-O- con Z igual a un oligo- o polialquilenglicol de la fórmula general -(CH₂)_d-[O-CH₂-CH₂]_vO-(CH₂)_m-(NH-CO-CH₂-O-CH₂)_k- o -(CH₂)_d-
50 [O-CH(CH₃)-CH₂]_vO-(CH₂)_m-(NH-CO-CH₂-O-CH₂)_k- con d = 1, 2, 3 o 4, v = un número entero de 1 a 1000, preferiblemente 1 a 50, en particular 2 a 10, m = 0, 1, 2, 3 o 4 y k = 0 o 1; Y es igual a un grupo -CO-NH-, un -NH-CO-, un -SO₂-NH-, un -NH-SO₂-, un -SS- o un -S- o cuando U y Z no están presentes es igual a un grupo H₂N-, HOOC-, HS-, HO- o halogenalquilo; X es igual a un grupo -(CH₂)_n- con n = 0, 1, 2, 3 o 4, en particular n = 1 o es igual a un grupo -(CH₂)_n-O- con unión en el radical bencilo por el oxígeno y n = 1, 2, 3 o 4. El acoplamiento del grupo de unión al radical bencilo proviene de X en caso de que esté presente o de Y, cuando X no esté presente.

Cuando el agente de unión está acoplado a P4, entonces P2 es glicina, alanina, prolina, homoprolina o ácido azetidincarboxílico.

55 Según otra forma preferida de operar, el grupo de unión está acoplado a P2, donde P2 exhibe la fórmula general III

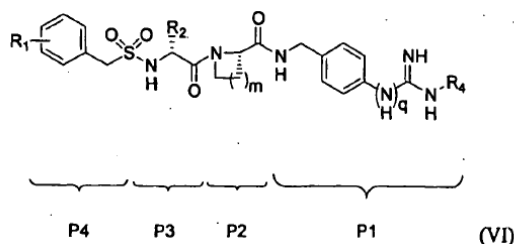
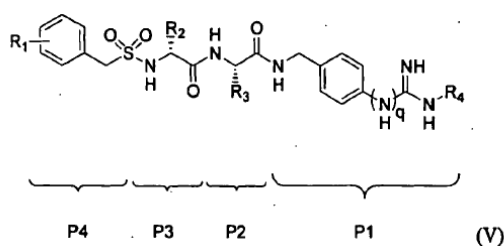


donde q = 0, 1, 2, 3, 4 o 5 y D es igual a la fórmula



donde U, Z y Y poseen los mismos significados que en la fórmula II.

5 De acuerdo con la invención, la amidino- o guanidinobencilamina aciladas exhibe las fórmulas generales V o VI

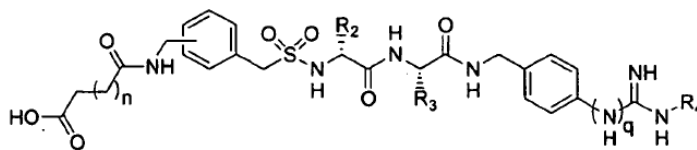


10 donde m = 1 a 3 y q es igual a 0 o 1, en particular es 0 y donde R1, R2, R3 y/o R4 es hidrógeno y/o un halógeno, preferiblemente flúor, cloro y/o bromo y/o un radical alquilo sustituido o no sustituido, ramificado o lineal con 1-6 átomos de C, preferiblemente 1-3 átomos de C, en particular metilo, donde el sustituyente del radical alquilo sustituido lineal o ramificado es preferiblemente un grupo halógeno, hidroxilo, amino, ciano, amidino, guanidino y/o carboxilo, dado el caso esterificado con un radical alquilo pequeño, en particular con metilo o etilo y/o un grupo hidroxilo, amino, ciano, amidino, guanidino, metiloxycarbonilo, bencilo, benciloxycarbonilo, aminometilo o glutarilo o succinil-amidometilo y/o es un grupo oxialquilcarbonilo, carboxilo, carboximetilo o carboxietilo dado el caso esterificado con un radical alquilo pequeño en particular con metilo o etilo o está presente como amida no sustituida o sustituida con un grupo alquilo o arilo.

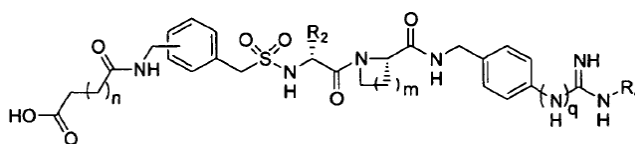
En el marco de la presente invención, se prefieren particularmente como radicales R4 el radical hidroxilo, un radical amino y un radical alcóxicarbonilo, en particular un radical alcóxicarbonilo con 2 a 10 átomos de C.

20 R1 y/o R3 pueden ser adicionalmente un grupo de unión, donde el grupo de unión está acoplado a uno de los sustituyentes arriba descritos en P4 o directamente a un grupo funcional de P2, en un grupo -NH- o -CO-, donde los grupos de unión son un ácido dicarboxílico, un ácido aminocarboxílico, una diamina, un ácido disulfónico, o un ácido aminosulfónico con una estructura básica alquilo, arilo o aralquilo, donde la estructura básica alquilo exhibe 1 a 12 átomos de C, en particular 2-6 átomos de C, la estructura básica arilo exhibe 6-10 átomos de C, en particular fenilo, la estructura básica aralquilo exhibe 6-12 átomos de C, en particular bencilo, un grupo aminoalquilo o carboxialquilo con 2-12 átomos de C, en particular 2-6 átomos de C; o donde los grupos de unión P4 o P2 son una cadena poli- u oligoetilen- o poli- u oligopropilenglicol, donde el poli- u oligoetilen- o poli- u oligopropilenglicol exhibe en los dos extremos por lo menos un grupo funcional, en particular un grupo amino, carboxilo y/o mercapto sustituido o no sustituido o donde el poli- u oligoetilen- o poli u oligopropilenglicol exhibe por lo menos un grupo funcional en un extremo, en particular un grupo amino, carboxilo y/o mercapto sustituido o no sustituido y en el otro extremo está modificado con un grupo alquilo con 1-4 átomos de C, en particular grupo CH₃ y/o R1 adicionalmente exhibe la fórmula (II) como se describió arriba y P2 con R3 adicionalmente exhibe las fórmulas (III) y (IV), como se describió arriba.

Los ejemplos preferidos de operación para las amidino- y/o guanidinobencilaminas aciladas según las fórmulas generales (V) o (VI) con un grupo de unión en P4 exhiben preferiblemente una de las siguientes estructuras:

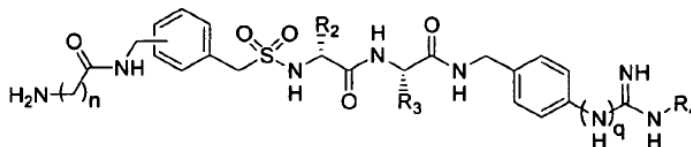


o

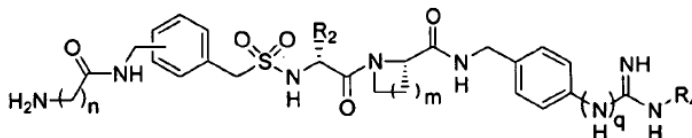


5

o

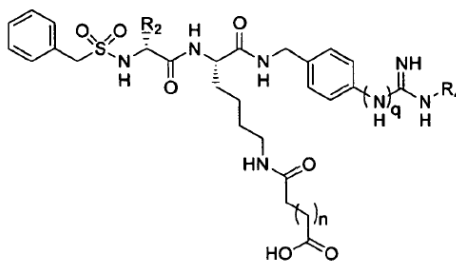


o



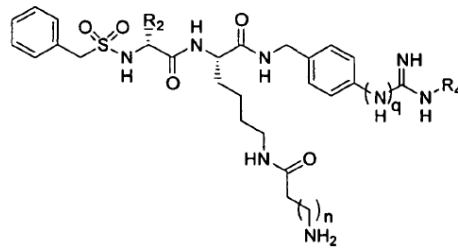
- 10 con $n = 1$ a 10 , $m = 1$ a 3 y $q = 0$ o 1 , en particular 0 , donde R_2 y R_3 tienen los significados arriba mencionados. Mediante la presencia de un segundo grupo funcional como por ejemplo H_2N- o $HOOC-$, simultáneamente con el acoplamiento en P4, pueden acoplarse de modo covalente sobre superficies plásticas las sustancias citadas.

Ejemplos preferidos de operación para amidinobencilaminas aciladas según la fórmula general (V) con un grupo de unión en P2 exhiben preferiblemente una de las siguientes estructuras:

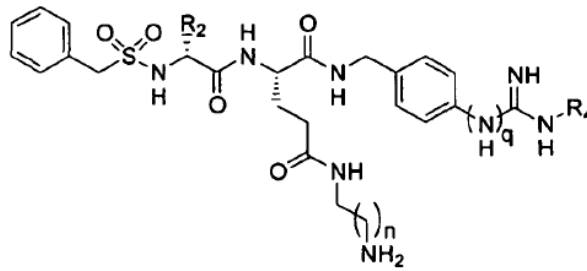


15

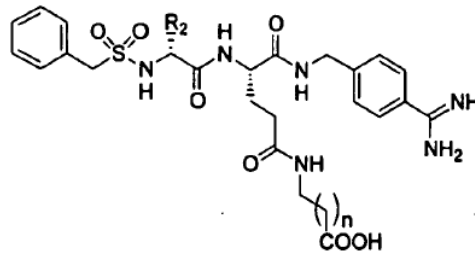
con $n = 0$ a 5 , preferiblemente 1 o 2 o



con n = 0 a 11 o

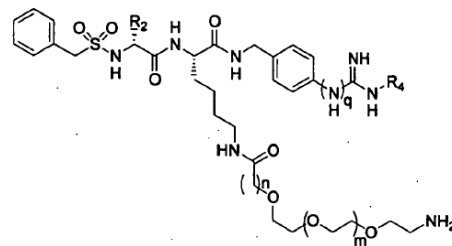


con n = 1 a 6 o



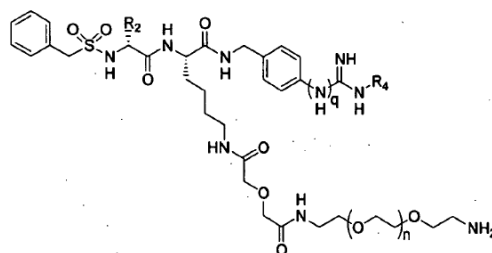
5

o



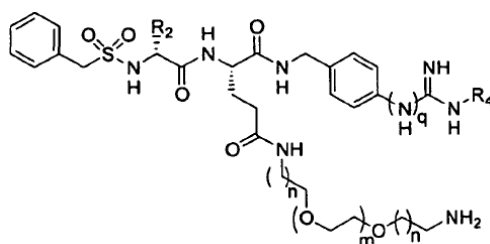
con n = 0 a 3 y m = 0 a 1000

o



10

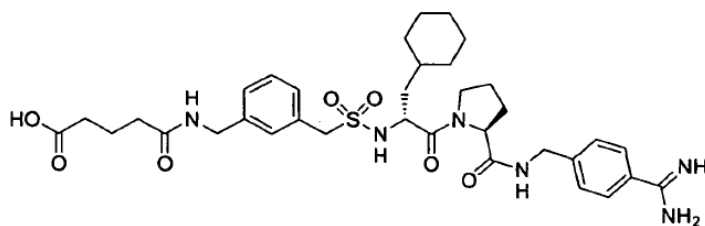
con $n = 1$ a 1000 o



- 5 con $n = 1$ a 3 y $m=1$ a 1000, donde q es en cada caso igual a 0 o 1, en particular es 0 y R_2 tiene en cada caso los significados arriba mencionados. Mediante la presencia de un segundo grupo funcional las sustancias arriba citadas pueden, simultáneamente con el acoplamiento en P2, acoplarse de modo covalente a una superficie plástica o a una segunda molécula de la fórmula general I.

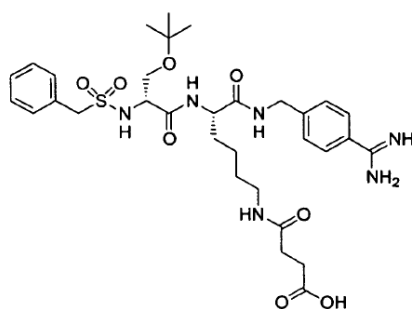
Cuando ocurre el acoplamiento sobre superficies plásticas en P2, el sustituyente en P4 es en particular H, un halógeno, un grupo amino, un grupo hidroxilo o un grupo alquilo lineal o ramificado con 1 a 6 átomos de carbono.

- 10 Una forma particularmente preferida de operar de una amidinobencilamina acilada según la fórmula general (VI) con un grupo de unión en P4 exhibe preferiblemente la siguiente estructura:



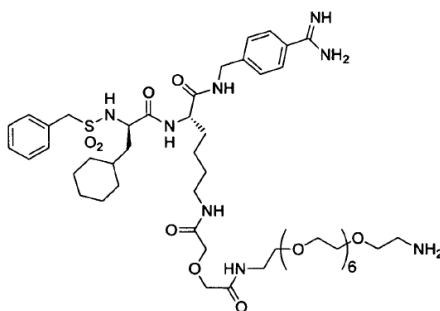
donde D-Cha en posición P3 en particular puede ser también D-Phe o D-Ser(tBu) y glutarilo en P4 puede ser también succinilo. Estos compuestos son adecuados para el acoplamiento simultáneo covalente a una superficie plástica.

- 15 Otra forma particularmente preferida de operar de una amidinobencilamina acilada según la fórmula general (V) con un grupo de unión en P2 exhibe preferiblemente weist la siguiente estructura:

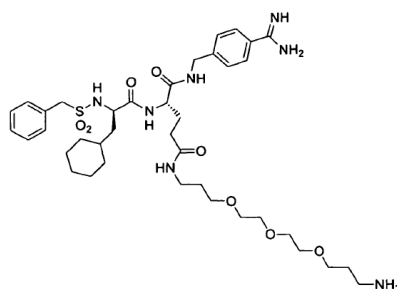


- 20 donde D-Ser(tBu) en posición P3 en particular puede ser también D-Cha o D-Phe y succinilo en P2 puede ser también glutarilo. Estos compuestos son adecuados para el acoplamiento covalente simultáneo a una superficie plástica.

Otra forma particularmente preferida de operar de una amidinobencilamina acilada según la fórmula general (V) con un grupo de unión en P2 exhibe preferiblemente una de las siguientes estructuras:



o



5 donde D-Cha en posición P3 en particular puede ser también D-Phe o D-Ser(tBu). Estos compuestos son adecuados para el acoplamiento covalente simultáneo a una superficie plástica o para el acoplamiento covalente a una segunda molécula de la fórmula general (V) o (VI).

10 Otros ejemplos posibles de operación para aminobencilaminas aciladas, que inhiben PK con elevadas actividad y especificidad son compuestos según la fórmula (V) o (VI), donde P3 significa D-Ser, D-Ser(tBu), D-Phe o D-Cha y P2 significa un aminoácido natural o no natural Aaa en la configuración L, donde R1 es igual a H-, 4-, 3- o 2-, preferiblemente 4- o 3-COOH, 4-, 3- o 2-, preferiblemente 4- o 3-COOMe, 4-, 3- o 2-, preferiblemente 4- o 3-AMe, 4-, 3- o 2-, preferiblemente 4- o 3-Glutaril-AMe o 4-, 3- o 2-, preferiblemente 4- o 3-CN y Aaa es igual a Gli, Ala, Pro, Asp, Glu, Gln, hGlu, Dap, Dap(Z), Lys, Lys(Z), Arg, Thr, Thr(Bzl), Ser, Ser(Bzl), hSer, hSer(Bzl), Phe o hPhe.

15 En ello son particularmente preferidas las aminobencilaminas aciladas donde para P3 igual a D-Ser, Aaa es preferiblemente Gln, Dap, Dap(Z), Lys, Lys(Z), Ser(Bzl), hSer, Phe o hPhe, en particular Lys(Z) y R1 es igual a H o para Aaa igual a Ala o Ser, R1 es igual a HOOC;

o para P3 igual a D-Ser(tBu), Aaa es igual a Pro, Gln, Dap, Dap(Z), Lys, Lys(Z), Arg, Thr, Thr(Bzl), Ser(Bzl), hSer(Bzl), Phe o hPhe, en particular Pro, Gln, Lys, Lys(Z), hSer(Bzl), Phe o hPhe y R1 es igual a H o para Aaa igual a Gli o Ala, R1 es igual al HOOC- o para Aaa igual a Pro R1 es igual a CN-;

20 o para P3 igual a D-Cha Aaa es igual a Lys o Glu y R1 es igual a H o para Aaa igual a Pro R1 es igual a Glutaril-AMe, en particular para Aaa igual a -NH-CH-[CH₂-CH₂-CO-NH-(CH₂)₃-[O-(CH₂)₂]₃-CH₂-NH₂]-CO-, R1 es igual a H.

Los derivados acordes con la invención de la 4-amidino- o bien 4-guanidinobencilamina aciladas están presentes por regla general en forma de una sal, en particular de un ácido mineral por ejemplo ácido sulfúrico o ácido clorhídrico o un ácido orgánico adecuado por ejemplo ácido acético, ácido fórmico, ácido metilsulfónico, ácido succínico, ácido málico o ácido trifluoroacético, en particular como clorhidrato, sulfato o acetato.

25 Otra forma preferida de operar de la presente invención es la reacción de un grupo H₂N- de un grupo de unión acoplado a la 4-amidino- o 4-guanidinobencilamina aciladas con un anhídrido dicarboxílico, preferiblemente el anhídrido de ácido succínico o el ácido glutárico con formación de un grupo HOOC- o la reacción de un grupo HOOC- de un grupo de unión acoplado a la 4-amidino- o 4-guanidinobencilamina aciladas con una diamina con formación de un grupo H₂N-. Estas reacciones ocurren de acuerdo con métodos estándares conocidos por los expertos.

30 La transformación que hace posible estas reacciones de un grupo H₂N- en un grupo HOOC- y un grupo HOOC- en un grupo H₂N- expanden las posibilidades de acoplamiento de los compuestos de las fórmulas generales (V) o (VI) sobre superficies plásticas o sobre una segunda molécula de las fórmulas generales (V) o (VI).

5 En una forma particularmente preferida de aplicación de la presente invención, por presencia de un segundo grupo funcional, en particular un grupo amino, carboxilo y/o mercaptano sustituido o no sustituido, el grupo de unión acoplado de modo covalente a P4 o P2 puede estar acoplado de modo covalente simultáneamente a superficies plásticas o, en tanto el grupo de unión sea un poli- u oligoetilen- o poli- u oligopropilenglicol, estar acoplado de modo covalente a una segunda molécula de las fórmulas generales (V) o (VI), con formación de un denominado poli u oligoetilen- o poli- u oligopropilenglicol con dos grupos funcionales inhibidores.

10 De acuerdo con la presente invención, las superficies plásticas sobre las cuales pueden acoplarse los derivados de la 4- amidino- o bien 4-guanidinobencilamina aciladas, consisten en diacetato de celulosa, triacetato de celulosa, poli (etersulfona), poli(ariletersulfona), celulosa regenerada, cuprofan, hemofan, poli(sulfona), poli(acrilonitrilo), poli (vinilalcohol), poli(carbonato), poli(amida), poli(metilmacrilato), poli(etilenco-vinilalcohol) u otro material empleado en equipos como dializadores, oxigenadores, catéteres, membranas y/o los sistemas de mangueras pertenecientes a los equipos y/o trampas de aire para las superficies que entran en contacto con sangre

15 donde el material superficial para el acoplamiento covalente de la molécula de las fórmulas generales (V) o (VI) con el grupo de unión acoplado en P4 o P2 está modificado con grupos funcionales, por ejemplo grupos amino, grupos aminoalquilo, grupos carboxilo, grupos carboxialquilo, grupos mercapto, grupos mercaptoalquilo, grupos hidroxilo, grupos hidroxialquilo, donde el radical alquilo exhibe 1-10, en particular 1-6 átomos de C.

20 Según otra forma preferida de operar de la presente invención, los derivados de la 4-amidino- o bien 4-guanidinobencilamina aciladas se acoplan sobre superficies plásticas de por ejemplo equipos como dializadores, oxigenadores, catéteres y/o membranas, para prevenir la coagulación de la sangre sobre la superficie de estos equipos.

El acoplamiento de los derivados de la 4-amidino- o bien 4-guanidinobencilamina aciladas ocurre mediante revestimiento covalente de la(s) superficie(s) plástica(s) sobre uno de los grupos de unión arriba descritos, que están enlazados a un sustituyente en P4 y/o dado el caso directamente sobre una cadena lateral de P2 de la fórmula general (V) o (VI).

25 En el sentido de la presente invención, un equipo es todo dispositivo que entra en contacto con la sangre y sus componentes.

30 Otra forma preferida de operar de la presente invención es el empleo de uno o varios de los derivados acordes con la invención de la 4-amidino- o bien 4-guanidinobencilamina aciladas, para la producción de un medicamento para el empleo como anticoagulante y/o antitrombótico para prevenir y/o tratar el infarto del corazón, derrame cerebral, embolias, trombosis venosa profunda por ejemplo después de operaciones de articulación de la cadera y/o reemplazo del rodilla, angina pectoris inestable, complicaciones como consecuencia de angioplastias, en particular angioplastia coronaria transluminal percutánea (PTCA).

35 En el sentido de la presente invención, se entiende como anticoagulante toda sustancia que inhibe la coagulación de la sangre. En el sentido de la presente invención se entienden por antitrombóticos sustancias para el uso en la profilaxis de trombosis. En el sentido de la presente invención se entiende por angioplastia una dilatación de vasos, en particular con ayuda de catéteres como por ejemplo catéteres de balón.

40 Otra forma de operar es el empleo de una o varias de las arriba descritas 4-amidino- o bien 4-guanidinobencilamina aciladas para la producción de un medicamento para la aplicación como anticoagulante y/o antitrombótico para prevenir y hacer terapia de la coagulación intravascular diseminada, choque séptico, alergias, el síndrome de postgastrectomía, artritis y ARDS (síndrome de dificultad respiratoria en adultos).

45 Según una forma preferida de operar de la presente invención, se emplean los derivados de la 4-amidino- o bien 4-guanidinobencilamina aciladas para la producción de un medicamento para la inhibición de calicreína de plasma y/o factor XIa y/o factor XIIa en forma de aplicación parenteral, en particular en forma intraarterial, intravenosa, intramuscular o subcutánea, en forma de aplicación enteral, en particular para la aplicación oral o rectal o en forma tópica de aplicación, en particular como agente dermatico. En ello se prefieren las formas de aplicación intravenosa o subcutánea. Por ejemplo se prefiere la inhibición de calicreína de plasma.

50 Los derivados acordes con la invención de la 4-amidino- o bien 4-guanidinobencilamina aciladas pueden ser empleados en particular para la producción de un medicamento para la inhibición de calicreína de plasma en forma de una tableta, una gragea, una cápsula, una pella, supositorio, una solución, en particular una solución para inyección o infusión, gotas para los ojos, nariz y oídos, un jarabe, una cápsula, una emulsión o suspensión, unos lóbulos, estilos, aerosoles, polvos, una pasta, crema o pomada.

5 Aparte del inhibidor acorde con la invención, el medicamento puede contener otras sustancias auxiliares y/o aditivos farmacéuticamente adecuados. Sustancias auxiliares y/o aditivos adecuados, que sirven por ejemplo para la estabilización y/o conservación del medicamento son familiares en general para los expertos (por ejemplo Sucker H. et al., (1991) Pharmazeutische Technologie, 2ª edición, editorial Georg Thieme, Stuttgart). Para eso se cuentan por ejemplo soluciones fisiológicas de sal de cocina, dextrosa de Ringer, lactato de Ringer, agua desmineralizada, estabilizantes, antioxidantes, formadores de complejos, compuestos antimicrobianos, inhibidores de proteína y/o gases inertes.

10 Otra forma de operar de la presente invención es el empleo de amidinobencilamina acilada de las fórmulas generales V o VI con R4 en particular igual a HO- y R1 y R3 sin grupos oligo- o polialquileno para la producción de un medicamento para la aplicación como anticoagulante y/o antitrombótico para las indicaciones arriba citadas, donde el principio activo está presente en forma de una prodroga para la administración oral.

15 En el sentido de la presente invención, una prodroga es una amidino- o guanidinobencilamina aciladas según las fórmulas generales (V) o (VI), que está presente como derivado farmacéuticamente inactivo de la correspondiente sustancia farmacéuticamente eficaz y después de la administración oral se transforma espontánea o enzimáticamente con liberación de la sustancia farmacéuticamente eficaz.

Aparte del aplicación preferida de las amidino- o guanidinobencilaminas aciladas descritas para la inhibición de calicreína de plasma, estas pueden emplearse también para la inhibición de otras serinproteasas de tipo tripsina como por ejemplo trombina, factor XIIa, factor Factor XIa, Xa, factor IXa, factor VIIa, uroquinasa, triptasa y plasmina así como serinproteasas del tipo tripsina del sistema de complemento.

20 Otro objetivo de la presente invención es 4-amidino- o 4-guanidinobencilamina aciladas según las fórmulas generales (V) o (VI), donde la sustancia está enlazada de modo covalente a alguna superficie plástica en uno de los grupos de unión arriba descritos, en P4 y/o en P2, y la sustancia está unida mediante un enlace amido de modo covalente a una superficie plástica.

25 Otro objetivo de la presente invención es también un equipo, por ejemplo un dializador, oxigenador, catéter o una membrana con los sistemas de manguera y/o trampas de aire relacionados, que contiene una superficie plástica revestida de modo covalente con una 4-amidino- o 4-guanidinobencilamina aciladas acorde con la invención.

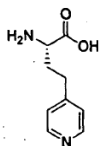
30 La síntesis del derivado de la 4-amidino- o 4-guanidinobencilamina aciladas acorde con la invención ocurre según el método conocido por los expertos. Por ejemplo se obtiene la 4-(acetiloxamidino) bencilamina protegida con Boc, a partir de la 4-cianobencilamina obtenible comercialmente (Showa Denko, Japón) según métodos conocidos por los expertos. Otra posibilidad consiste en acoplar directamente 4-cianobencilamina con el aminoácido P2 protegido con Boc o Z y en este paso transformar el grupo ciano en la acetiloxamidina. Después de la escisión del grupo protector Boc ocurre del acoplamiento del otro aminoácido por medio de métodos estándar de acoplamiento con Boc como grupo protector N-terminal. El aminoácido P3 puede ser acoplado también directamente como aminoácido protegido con N-arilo o bien N-aralquilo. La mayoría de productos intermedios cristalizan bien y con ello se purifican fácilmente.

35 La purificación final de los inhibidores ocurre en la última etapa, preferiblemente mediante HPLC preparativa de fase reversa. La invención debería ser ilustrada en más detalle mediante los ejemplos de operación y tablas que se adjuntan a continuación, sin limitarla.

Abreviaturas empleadas

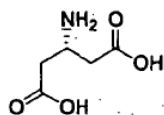
	Aaa	Aminoácido
40	Ac	Acetilo
	AcOH	Ácido acético
	ACN	Acetonitrilo
	Amba	Amidinobencilamina
	AMe	Aminometilo
45	ARDS	Síndrome de dificultad respiratoria en adultos
	Boc	tert.-Butiloxicarbonilo
	Bzl	Bencilo

	Bzls	Bencilsulfonilo
	Can	Canavanina
	Cha	Ciclohexilalanina
	CKIBE	Isobutiléster de ácido clorocarbónico
5	CNBzls	Cianobencilsulfonilo
	Dab	Ácido α,γ -diaminobutírico
	Dap	Ácido α,β -diaminopropiónico
	Dap(Z)	Ácido benciloxycarbonil- α,γ -diaminobutírico
	DCM	Diclorometano
10	DIEA	Diisopropiletilamina
	DMF	N,N-dimetilformamida
	D-Ser	D-serina, correspondiente a otros aminoácidos
	D-Ser(tBu)	D-(tert.-butilserina)
	F XIa	Factor XIa
15	F XIIa	Factor XIIa
	Glut	Glutarilo
	GuMe	Guanidinometileno
	hAla(4-Pyr)	Homo-4-piridil-alanina

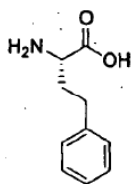


20

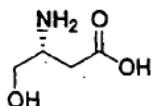
hGlu Ácido beta-homoglutámico



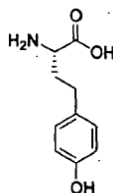
hPhe Homofenilalanina



hSer Beta-homoserina



hTyr Homotirosina



5

n.b. No determinado

PEG Polietilenglicol

Phe Fenilalanina

PK Calicreína de plasma

10 Pro-MMP 3 Pro-matrizmetaloproteasa 3

PyBop Benzotriazol-1-il-N-oxi-tris(pirrolidino)fosfoniohexafluorofosfato

RT Temperatura ambiente

Ser(Bzl) Serin(bencilo)

Suc Succinilo

15 TFA Ácido trifluoroacético

Tfa Trifluoracetilo

Z Benciloxicarbonilo

Métodos analíticos:

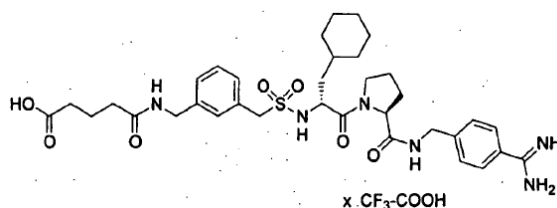
20 HPLC analítica: sistema Shimadzu LC-10A, columna: Phenomenex Luna C₁₈, 5 μm (250 x 4 mm), solvente A: 0,1 % TFA en agua; B: 0,1 % B en ACN, gradiente: 10 % B a 70 % B en 60 min, tasa de flujo 1 ml/min, detección a 220 nm.

HPLC preparativa: sistema Shimadzu LC-8A, columna: Phenomenex Luna C₁₈, 5 μm (250 x 30 mm), solvente A: 0,1 % TFA en agua; B: 0,1 % B en ACN, gradiente: 10 % B a 55 % B en 120 min, tasa de flujo 10 ml/min, detección a 220 nm.

Espectroscopia de masas: los espectros de masas fueron medidos bien sea en una muestra compacta de la compañía Kratos (Manchester, Reino Unido) con un detector de medición de tiempo de vuelo y ácido α -ciano-hidroxicinámico como matriz o determinados con un ESI-MS LCQ de la compañía Finnigan (Bremen, Alemania).

Ejemplos de operación 1:

- 5 Síntesis de 3 (glutaril-amidometil) bencilsulfonil-D-Cha-Pro-4-amidinobencilamida x TFA



- 1a) ácido 3-(ciano) bencilsulfónico sal sódica

10 Se suspendieron 30 g (153 mmol) de bromuro de 3-cianobencilo (Aldrich) en 150 ml de agua y después de la adición de 21,2 g (168,3 mmol) de Na_2SO_3 se calentó bajo reflujo por 8 h. Se filtró la fórmula en caliente y se retiró algo de agua al vacío. Se guardó la fórmula para la cristalización durante la noche en la nevera, después se succionaron los cristales y se realizó cristalización nuevamente a partir de agua. Se succionaron los cristales y se secaron al vacío.

Rendimiento: 17,1 g (78 mmol), HPLC: 18,2 % B

- 1b) 3-(ciano) cloruro de bencilsulfonilo

15 Se humedecieron 5 g (22,83 mmol) de sal sódica de ácido 3-ciano-bencilsulfónico con aproximadamente 20 ml de cloruro de fosforilo y se añadieron 5,2 g (25,11 mmol) de PCl_5 y se agitó por 15 min bajo enfriamiento con hielo. A continuación se calentó la fórmula por 4 h a 80 °C. Después se colocó la fórmula sobre hielo y se agitó vigorosamente por 30 min, se separó del hielo el producto como sólido blanco. Después de que el hielo descongeló parcialmente, se filtró la fórmula a través de una frita y se lavó con agua varias veces la mezcla remanente de producto-hielo. Se secaron al vacío los cristales remanentes y se emplearon directamente para la siguiente etapa de síntesis.

- 1c) 3-(ciano) bencilsulfonil-D-Cha-OH

25 Se suspendieron 3,775 g (22 mmol) de H-D-Cha-OH en 100 ml de DCM seco y se añadieron 6,316 ml (50 mmol) de cloruro de trimetilsililo y 8,7 ml (50 mmol) de DIEA. Se calentó la fórmula por 1 h bajo reflujo y se enfrió en un baño de hielo. A continuación se añadieron 5 g (23,18 mmol) de 3-ciano-cloruro de bencilsulfonilo y 5 ml (28,75 mmol) de DIEA en un periodo de 30 min. Se agitó la fórmula por otros 30 min bajo enfriamiento con hielo y subsiguientemente por otras 3 h a temperatura ambiente. Se eliminó el solvente al vacío, se disolvió el residuo en agua (con NaOH 1 N se llevó el pH a 8,5-9) y se realizó extracción 2 veces con éster acético. A continuación se hizo extracción de la fase de éster acético una vez más con agua básica (pH 9, NaOH). Se acidificaron a continuación las fases combinadas de agua básica con solución de HCl concentrado (pH de aproximadamente 3) y se realizó extracción por 3 veces con éster acético. Las fases combinadas de éster acético fueron lavadas en cada caso 3 veces con solución al 5 % de KHSO_4 y solución saturada de NaCl y se secaron sobre Na_2SO_4 . El solvente fue eliminado al vacío.

Rendimiento: 6,99 g de aceite que cristalizó lentamente en el refrigerador, HPLC: 53,9 % B

- 1d) H-Pro-4(acetiloxamidino) bencilamida x HBr

35 A 5 g de Z-Pro-4(acetiloxamidino) bencilamida (sintetizada como se describe en WO 02/059065) se añadieron 75 ml de solución de HBr (ácido acético al 33 %) a temperatura ambiente. Se dejó reposar la fórmula por una hora y se sacudió ocasionalmente. Después se añadió éter a la fórmula y se aspiró el producto precipitado y se lavó varias veces con éter sobre una frita. El producto fue secado al vacío.

Rendimiento: 4,3 g (11,16 mmol), HPLC 18,3 % B

- 1e) 3-(ciano) bencilsulfonil-D-Cha-Pro-4(acetiloxamidino) bencilamida

- 5 Se disolvieron 2,5 g (7,13 mmol) de 3-ciano-bencilsulfonyl-D-Cha-OH y 2,74 g (7,13 g) de H-Pro-4-(acetil-oxamidino) bencilamida x HBr en 50 ml de DMF. Bajo enfriamiento con hielo se añadieron 3,71 g (7,13 mmol) de PyBop y 3,7 ml de DIEA. La fórmula fue agitada por 30 min bajo enfriamiento con hielo y a continuación por 3 h a temperatura ambiente. Se eliminó el solvente al vacío, se recogió la fórmula con éster acético y se lavó en cada caso 3 veces con KHSO₄ al 5 %, agua saturada con NaCl, solución saturada de NaHCO₃ y una vez más con agua saturada con NaCl. Se secó la fase de éster acético con Na₂SO₄ y a continuación se eliminó el solvente al vacío. Se empleó del producto crudo sin purificación adicional para la siguiente etapa de síntesis.

Rendimiento: 3,3 g de aceite, HPLC a 53,77 % B

MS: calculado 578,27 (monoisotópico), hallado 579,4 [M+H]⁺

- 10 1f) 3-(aminometil) bencilsulfonyl-D-Cha-Pro-4(amidino) bencilamida x 2 HCl

- 15 Se disolvió 1 g de producto crudo de 3-ciano-bencilsulfonyl-D-Cha-Pro-4-(acetiloxamidino) bencilamida en 500 ml de ácido acético y se añadieron 150 ml de HCl 1N. Después se agregaron 200 mg de catalizador (paladio al 10 % sobre carbón activado) y se hidrogenó la fórmula a 50 °C por 15 h con hidrógeno. Se separó por filtración el catalizador y se eliminó el solvente al vacío. Se añadió tolueno al residuo y se eliminó el solvente al vacío, se repitió el procedimiento otras 2 veces. Se disolvió el residuo en poco metanol y se precipitó el producto mediante adición de éter y se succionó. Se lavó el producto con éter y se seco al vacío. El producto fue empleado sin purificación adicional para la siguiente etapa de síntesis.

Rendimiento: 0,8 g, HPLC a 34,28 % B

MS: calculado 582,30 (monoisotópico), hallado 583,5 [M+H]⁺

- 20 1g) 3-(Glutarilamidometil) bencilsulfonyl-D-Cha-Pro-4(Amidino) bencilamida x TFA

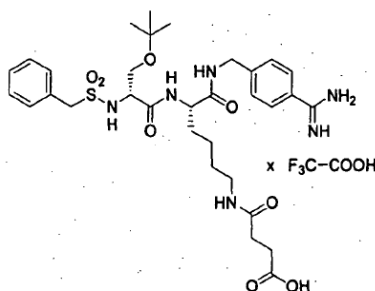
- 25 A 200 mg (aproximadamente 0,3 mmol) de producto crudo de 3-(aminometil) bencilsulfonyl-D-Cha-Pro-4(amidino) bencilamida x 2 HCl se añadieron 38 mg (0,33 mmol) de anhídrido glutárico y 115 µl (0,66 mmol) de DIEA en 5 ml de DMF bajo enfriamiento con hielo. Se agitó la fórmula por 30 min bajo enfriamiento con hielo y otras 3 h a temperatura ambiente. Se eliminó el solvente bajo vacío y se purificó el producto crudo por medio de HPLC preparativa de fase reversa.

Rendimiento: 125 mg, HPLC a 40,1 % B

MS: calculado 696,33 (monoisotópico), hallado 697,8 [M+H]⁺

Ejemplo de operación 2:

Síntesis de Bencilsulfonyl-D-Ser(tBu)-Lys(Succinil)-4-Amba x TFA



30

2a) Boc-Lys(Tfa)-4-(acetiloxamidino) bencilamida

- 35 Se disolvieron 5 g (14,61 mmol) de Boc-Lys(Tfa)-OH en 100 ml de THF y a -15°C se añadieron 1,767 ml (16,10 mmol) de NMM y 1,899 ml (14,61 mmol) de CKIBE. Se agitó la fórmula por 10 min a -15°C, después se agregaron 3,74 g (15,33 mmol) de 4-(acetiloxamidino) bencilamina x HCl (producida como se describe en WO 01/96286 A2) y nuevamente 1,767 ml (16,10 mmol) de NMM. Se agitó la fórmula por otra hora a -15 °C y durante la noche a temperatura ambiente. Se eliminó el solvente al vacío, se recogió la fórmula en éster acético y se lavó en cada caso 3 veces con 5 % KHSO₄, agua saturada con NaCl, solución saturada de NaHCO₃ y una vez más con agua saturada

con NaCl y se secó con Na₂SO₄. Se eliminó el solvente al vacío y el producto fue cristalizado a partir de éster acético.

Rendimiento: 6,82 g (12,83 mmol) de cristales blancos, HPLC: 43,87 % B

2b) H-Lys(Tfa)-4-(Acetiloxamidino) bencilamida x HCl

- 5 Se disolvieron 5 g (9,41 mmol) de Boc-Lys(Tfa)-4-(acetiloxamidino) bencilamida en poco ácido acético glacial y a continuación se añadieron de 100 ml HCl 1 N en ácido acético glacial. Después de un reposo de 45 min a temperatura ambiente se concentró parcialmente el solvente y se precipitó el producto mediante adición de dietiléter, se succionó y se lavó una vez más con dietiléter. El producto fue secado al vacío.

Rendimiento: 4,65 g (10,78 mmol) de sólido blanco, HPLC: 25,52 % B

- 10 2c) Bzls-D-Ser(tBu)-Lys(Tfa)-4-(acetiloxamidino) bencilamida

Se disolvieron 1,93 g (6,107 mmol) de Bzls-D-Ser(tBu)-OH y 3 g (6,412 mmol) de H-Lys(Tfa)-4-(acetiloxamidino) bencilamida x HCl en 30 ml de acetonitrilo y a 0 °C se añadieron 3,337 g (6,412 mmol) de PyBop y 3,187 ml (18,32 mmol) de DIEA. La fórmula fue agitada por 30 min a 0 °C y otras 4 h a temperatura ambiente. Se eliminó el solvente al vacío, se recogió el residuo en éster acético y se lavó en cada caso 3 veces con KHSO₄ 5 %, agua saturada con NaCl, solución saturada de NaHCO₃ y se lavó una vez más con agua saturada con NaCl y a continuación se secó con Na₂SO₄. Se eliminó el solvente al vacío. Quedó un producto crudo amorfo, ligeramente amarillo, el cual fue empleado sin purificación adicional directamente en la siguiente etapa de síntesis.

- 15

Rendimiento: 5,88 g (producto crudo), HPLC: 52,93 % B

2d) Bzls-D-Ser(tBu)-Lys(Tfa)-4-(amidino) bencilamida x acetato

- 20 Se disolvieron 5,88 g (producto crudo) de Bzls-D-Ser(tBu)-Lys(Tfa)-4-(acetiloxamidino) bencilamida en 150 ml de ácido acético al 90 %, después se añadieron 500 mg de catalizador (Pd/C 10 %). Se hidrogenó la fórmula por 6 h a temperatura ambiente y presión normal con hidrógeno. A continuación se separó el catalizador mediante filtración, se concentró parcialmente el solvente y se precipitó el producto mediante adición de dietiléter, se succionó y se lavó una vez más con dietiléter. El precipitado blanco cristalino fue secado al vacío.

- 25 Rendimiento: 4,36 g (5,962 mmol), HPLC: 43,50 % B.

2e) Bzls-D-Ser(tBu)-Lys-4-(amidino) bencilamida x 2 TFA

A 0,2 g del producto crudo de acetato de Bzls-D-Ser(tBu)-Lys(Tfa)-4-(amidino) bencilamida y bajo enfriamiento con hielo se añadieron 5 ml de solución acuosa 1M de piperidina y se agitó por 3 h. Después se concentró el solvente al vacío y se purificó el residuo remanente con HPLC preparativa en fase reversa.

- 30 Rendimiento: 72 mg, HPLC: 30,9 % B

MS: calculado 574,29 (monoisotópico), hallado 575,7 [M+H]⁺

2f) Bzls-D-Ser(tBu)-Lys(Succinil)-4-(Amidino) bencilamida x TFA

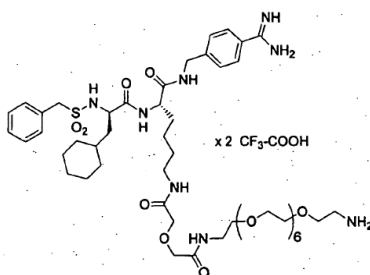
- 35 A 60 mg (0,075 mmol) de Bzls-D-Ser(tBu)-Lys-4-(amidino) bencilamida x 2 TFA se añadieron bajo enfriamiento con hielo 2 ml de DMF, 7,8 mg (0,078 mmol) de anhídrido succínico y 27,1 µl (0,156 mmol) de DIEA. La fórmula fue agitada bajo enfriamiento con hielo por otros 30 min y a continuación fue agitada por 3 h a temperatura ambiente. El solvente fue eliminado al vacío y el producto fue purificado con HPLC preparativa en fase reversa.

Rendimiento: 41 mg, HPLC: 35,8 % B

MS: calculado 674,31 (monoisotópico), hallado 675,9 [M+H]⁺

Ejemplo de operación 3:

- 40 Síntesis de bencilsulfonyl-D-Cha-Lys(CO-CH₂-O-CH₂-CO-NH-CH₂-CH₂-hexaetilenglicol-CH₂-CH₂-NH₂)-4-Amba x 2 TFA



3a) Bencilsulfonil-D-Cha-OH

Se suspendieron 6 g (35,1 mmol) de H-D-Cha-OH en 120 ml de DCM seco, se añadieron 9,75 ml (77,2 mmol) de cloruro de trimetilsililo y 13,4 ml (77,2 mmol) de DIEA. Se calentó la fórmula durante 1 h bajo reflujo y se enfrió en un baño de hielo. A continuación se añadieron 7,02 g (36,85 mmol) de cloruro de bencilsulfonilo y 7,83 ml (45 mmol) de DIEA en un periodo de 30 min. Se agitó la fórmula por otros 30 min bajo enfriamiento con hielo y después por otras 3 h a temperatura ambiente. Se eliminó el solvente bajo vacío, se disolvió el residuo en agua (con NaOH 1 N se llevó el pH a 8,5-9) y se realizó extracción por 2 veces con éster acético. La fase acuosa básica fue acidificada a continuación con solución concentrada de HCl (pH aproximado de 3) y se realizó extracción por 3 veces con éster acético. Las fases combinadas de éster acético fueron lavadas en cada caso 3 veces con solución al 5 % de KHSO₄ y solución saturada de NaCl y se secaron con Na₂SO₄. Se eliminó el solvente al vacío.

Rendimiento: 9,2 g de aceite (cristaliza lentamente en el refrigerador), HPLC: 55,8 % B

3b) Boc-Lys(Z)-4-(acetiloxamidino) bencilamida

Se disolvieron 4,41 g (11,59 mmol) de Boc-Lys(Z)-OH en 125 ml de DMF y a -15 °C se añadieron 1,275 ml (11,59 mmol) de NMM y 1,506 ml (11,59 mmol) de CKIBE. Se agitó la fórmula por 10 min a -15 °C, entonces se agregaron 2,97 g (12,17 mmol) de 4-(acetiloxamidino) bencilamina x HCl (producida como se describe en WO 01/96286 A2) y se añadieron una vez más 1,34 ml (12,17 mmol) de NMM. Se agitó la fórmula por una hora adicional a -15 °C y se agitó durante la noche a temperatura ambiente. Se eliminó el solvente al vacío, se recogió la fórmula en éster acético y se lavó en cada caso 3 veces con KHSO₄ 5 %, agua saturada con NaCl, solución saturada de NaHCO₃ y una vez más con agua saturada con NaCl y se secó con Na₂SO₄. El solvente fue eliminado en vacío, la sustancia amorfa remanente fue secada al vacío.

Rendimiento: 5,2 g, HPLC: 51,12 % B

3c) H-Lys(Z)-4-(acetiloxamidino) bencilamida x HCl

A 5 g de Boc-Lys(Z)-4-(acetiloxamidino) bencilamida se añadieron 100 ml HCl 1 N en ácido acético glacial. Después de 45 min de reposo a temperatura ambiente se concentró parcialmente el solvente y se precipitó el producto mediante adición de dietiléter, se succionó y se lavó una vez más con dietiléter. Se secó el producto al vacío.

Rendimiento: 4,2 g (8,3 mmol) de materia sólida blanca, HPLC: 33,81 % B

3d) Bzls-D-Cha-Lys(Z)-4-(acetiloxamidino) bencilamida

Se disolvieron 2 g (6,146 mmol) de Bzls-D-Cha-OH y 3,13 g (6,146 mmol) de H-Lys(Z)-4-(acetiloxamidino) bencilamida x HCl en 50 ml DMF y a 0 °C se añadieron 3,198 g (6,146 mmol) de PyBop y 3,2 ml (18,43 mmol) de DIEA. La fórmula fue agitada por 30 min a 0 °C y por otras 5 h a temperatura ambiente. El solvente fue eliminado al vacío, se recibió el residuo en éster acético y se lavó en cada caso por 3 veces con KHSO₄ al 5%, agua saturada con NaCl, solución saturada de NaHCO₃ y se lavó una vez más con agua saturada con NaCl y a continuación se secó con Na₂SO₄. El solvente fue eliminado al vacío. Sin purificación adicional, el producto crudo fue empleado directamente en la siguiente etapa de síntesis.

Rendimiento: 3,7 g (producto crudo), HPLC: 61,84 % B

3e) Bzls-D-Cha-Lys-4-(amidino) bencilamida x 2 HBr

Se disolvieron 3,5 g (producto crudo) de Bzls-D-Cha-Lys(Z)-4-(acetiloxamidino) bencilamida en 175 ml de ácido acético al 90 %, y a ello se le añadieron 400 mg de catalizador (Pd/C 10 %). La fórmula fue hidrogenada por 6 h a

temperatura ambiente y presión normal con hidrógeno. A continuación se separó por filtración el catalizador, se concentró el solvente, se añadió tolueno al residuo y se concentró nuevamente el solvente al vacío. Al residuo se añadieron 50 ml de bromuro de hidrógeno (al 33 % en ácido acético), se agitó ocasionalmente la fórmula. Después de una hora se precipitó el producto mediante adición de dietiléter, se succionó y se lavó varias veces con dietiléter.

- 5 El sólido obtenido (débilmente amarillento) fue secado al vacío. El producto crudo fue empleado en la siguiente etapa de síntesis.

Rendimiento: 2,3 g de producto crudo, HPLC: 34,77 % B.

Una parte del producto crudo fue purificada con HPLC preparativa de fase reversa.

MS: calculado 584,31 (monoisotópico), hallado 585,4 [M+H]⁺

- 10 3f) BzIs-D-Cha-Lys(CO-CH₂-O-CH₂-CO-N H-CH₂-CH₂-hexaetilenglicol-CH₂-CH₂-NH-Boc)-4- (amidino) bencilamida x HBr

Se disolvieron 0,318 g (aproximadamente 0,427 mmol) de producto crudo de Bzis-D-Cha-Lys-4-(amidino) bencilamida x 2 HBr y 250 mg (0,4275 mmol) de O-(N-Boc-2-aminoetil)-O'-(N-diglicolil)-2-aminoetil-hexaetilenglicol (Novabiochem, número de orden: 01-63-0102) en 10 ml de DMF. Bajo enfriamiento con hielo se agregaron 0,222 g (0,4275 mmol) de PyBop y 149 PI (0,855 mmol) de DIEA. Se agitó la fórmula por 15 min bajo enfriamiento con hielo y se agitó por otras 4 h a temperatura ambiente. Después se concentró al vacío el solvente y se recogió el residuo en aproximadamente 350 ml de éster acético y 7.5 ml de solución saturada de NaHCO₃. Se lavó la fase de éster acético por una vez con solución saturada de NaHCO₃ y 2 veces con solución saturada de NaCl y se secó con Na₂SO₄. Se eliminó el solvente al vacío, se obtuvo un aceite amarillo, el cual fue empleado sin purificación adicional para la siguiente etapa de síntesis.

- 15
20

Rendimiento: 446 mg, HPLC: 47,03 % B.

Se purificó una parte del compuesto con HPLC preparativa.

3g) BzIs-D-Cha-Lys(CO-CH₂-O-CH₂-CO-NH-CH₂-CH₂-hexaetilenglicol-CH₂-CH₂-NH₂)-4-(amidino) bencilamida x 2 TFA

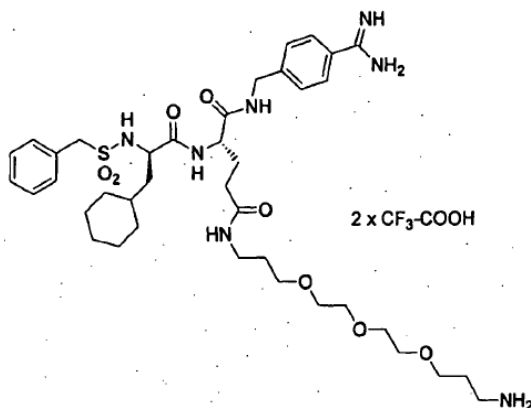
- 25 A 400 mg del compuesto 3f (producto crudo de BzIs-D-Cha-Lys(CO-CH₂-O-CH₂-CO-NH-CH₂-CH₂-hexaetilenglicol-CH₂-CH₂-NH-Boc)-4-(amidino) bencilamida x HBr) se añadieron 10 ml de HCl 1 N en ácido acético. Después de una hora a temperatura ambiente se precipitó el producto mediante adición de dietiléter, se succionó y se purificó por medio de HPLC preparativa.

Rendimiento: 210 mg, HPLC: 37,2 % B

- 30 MS: calculado 1050,57 (monoisotópico), hallado 1051,6 [M+H]⁺

Ejemplo de operación 4:

Síntesis de bencilsulfonil-D-Cha-Glu(NH-[CH₂]₃-[O-CH₂-CH₂]₂-O-[CH₂]₃-NH₂)-4-Amba x 2 TFA



4a) Boc-Glu(OBzl)-4-(acetiloxamidino) bencilamida

Se disolvieron 3,37 g (10 mmol) de Boc-Glu(OBzl)-OH en 100 ml de DMF y a -15°C se añadieron 1,1 ml (10 mmol) de NMM y 1,3 ml (10 mmol) de CKIBE. Se agitó la fórmula por 8 min a -15°C, después se añadieron 2,44 g (10 mmol) de 4-(acetiloxamidino) bencilamina x HCl (producido como se describe en WO 01/96286 A2) y se añadieron una vez más 1,1 ml (10 mmol) de NMM. Se agitó la fórmula por otra hora a -15°C y se agitó durante la noche a temperatura ambiente. Se eliminó el solvente al vacío, se recogió la fórmula en éster acético y se lavó en cada caso por 3 veces con KHSO₄ al 5%, con agua saturada con NaCl, solución saturada de NaHCO₃ y una vez más con agua saturada con NaCl y se secó con Na₂SO₄. Se eliminó el solvente al vacío y el compuesto fue cristalizado partir de éster acético.

10 Rendimiento: 3,8 g (7,2 mmol), HPLC: 52,34 % B

4b) H-Glu(OBzl)-4-(acetiloxamidino) bencilamida x HCl

A 3 g (6 mmol) de Boc-Glu(OBzl)-4-(acetiloxamidino) bencilamida se añadieron 80 ml de HCl 1 N en ácido acético glacial. Después de 45 min de reposo a temperatura ambiente se concentró parcialmente el solvente y se precipitó el producto mediante adición de dietiléter, se succionó y se lavó una vez más con dietiléter. El producto fue secado al vacío.

15 Rendimiento: 2,5 g (5,4 mmol) sólido blanco, HPLC: 31,07 % B

4c) BzIs-D-Cha-Glu(OBzl)-4-(acetiloxamidino) bencilamida

Se disolvieron 0,84 g (2,59 mmol) de BzIs-D-Cha-OH y 1,2 g (2,59 mmol) de H-Glu(OBzl)-4-(acetiloxamidino) bencilamida x HCl en 40 ml de DMF y a 0°C se añadieron 1,35 g (2,59 mmol) de PyBop y 1,35 ml (7,77 mmol) de DIEA. Se agitó la fórmula por 30 min a 0 °C y se agitó por otras 4 h a temperatura ambiente. Se eliminó el solvente al vacío, se recibió el residuo en éster acético y se lavó en cada caso 3 veces con KHSO₄ al 5%, agua saturada con NaCl, solución saturada de NaHCO₃ y se lavó una vez más con agua saturada con NaCl y a continuación se secó con Na₂SO₄.

El solvente fue eliminado al vacío.

25 Rendimiento: 1,35 g (aceite), HPLC: 63,16 % B

4d) BzIs-D-Cha-Glu-4-(amidino) bencilamida x HCl

Se disolvieron 1,2 g de BzIs-D-Cha-Glu(OBzl)-4-(acetiloxamidino) bencilamida en 200 ml de ácido acético 90 %, después se añadieron 200 mg de catalizador (Pd/C 10 %). La fórmula fue hidrogenada por 24 h a 45 °C y presión normal con hidrógeno. A continuación se separó por filtración el catalizador, se concentró el solvente, se añadió tolueno al residuo y se retiró nuevamente al vacío el solvente. Se disolvió el residuo en 25 ml de solución de HCl 1 N/ácido acético glacial y se precipitó el producto mediante adición de dietiléter, se succionó y se lavó varias veces con dietiléter. El sólido obtenido fue secado al vacío.

Rendimiento: 0,82 g, HPLC: 40,55 % B.

Una parte del producto crudo fue purificada con HPLC preparativa de fase reversa

35 MS: calculado 585,26 (monoisotópico), hallado 586,5 [M+H]⁺

4e) BzIs-D-Cha-Glu(NH-[CH₂]₃-[O-CH₂-CH₂]₂-O-[CH₂]₃-NH-Boc)-4-(amidino) bencilamida x HCl

Se disolvieron 0,4 g (0,643 mmol) de BzIs-D-Cha-Glu-4-(amidino) bencilamida x HCl y 0,216 g (0,675 mmol) de Boc-NH-(CH₂)₃-(O-CH₂-CH₂)₂-O-(CH₂)₃-NH₂ (obtenible de Quanta Biodesign, Powell, Ohio) en 10 ml de DMF y a 0 °C se añadieron 0,335 g (0,643 mmol) de PyBop y 224 µl (1,29 mmol) de DIEA. Se agitó la fórmula por 30 min a 0 °C y por otras 6 h a temperatura ambiente. Se eliminó el solvente al vacío y se recibió el residuo en una mezcla de éster acético y solución saturada de NaHCO₃. Se agitó la mezcla en un embudo de separación y se separó la fase básica. Se lavó una vez más la fase de éster acético con solución saturada de NaHCO₃. Se eliminó al vacío el éster acético y el residuo remanente fue empleado sin otra purificación para la siguiente etapa de síntesis.

40 Rendimiento: 0,35 g (aceite), HPLC: 49,17 % B

4f) Bzls-D-Cha-Glu(NH-[CH₂]₃-[O-CH-CH₂]₂-O-[CH₂]₃-NH₂)-4-(amidino) bencilamida x 2 TFA

Al producto crudo del compuesto 4e (Bzls-D-Cha-Glu(NH-[CH₂]₃-[O-CH₂-CH₂]₂-O-[CH₂]₃-NH-Boc)-4-(amidino) bencilamida x HCl) se añadieron 20 ml de HCl 1 N en ácido acético glacial. Se dejó reposar la fórmula por 45 min y después se precipitó el producto mediante adición de dietiléter y se succionó. El sólido obtenido fue purificado por medio de HPLC preparativa de fase reversa y se liofilizó el producto.

Rendimiento: 0,21 g de liofilizado, HPLC: 36,33 % B

MS: calculado 787,43 (monoisotópico), hallado 788,5. [M+H]⁺

Ejemplo de operación 5:

Determinación de las constantes de inhibición (valores Ki en PM)

- 10 La determinación del efecto inhibitorio para las enzimas individuales fue ejecutada de modo análogo a un método ya descrito anteriormente (Stürzebecher et al., J. Med. Chem. 40, 3091-3099, 1997). Especialmente para la determinación de la inhibición de PK se incubaron 200 µl de tampón Tris (0,05 M, NaCl 0,154 M, 5 % etanol, pH 8,0; contiene el inhibidor), 50 µl de sustrato (Bzl-Pro-Phe-Arg-pNA en H₂O) y 25 µl de PK a 25 °C. Después de 3 min se interrumpió la reacción mediante adición de 25 µl de ácido acético (50%) y se determinó la absorción a 405 nm por medio de un lector Microplate (Labsystems iEMS Reader MF). Los valores Ki fueron determinados según Dixon (Biochem. J. 55, 170-171, 1953) mediante regresión lineal de un programa de computador. Los valores Ki son el promedio de por lo menos tres determinaciones. La determinación de la inhibición del factor XIa y factor XIIa ocurrió según modo y forma análogos. En el caso de la determinación de las constantes para factor XIa humano (Haemochrom Diagnostica GmbH, Essen, Alemania) se empleó como sustrato H-D-Lys(Z)-Pro-Arg-pNA (Chromozym PCa, Roche Diagnostics GmbH, Mannheim, Alemania).

Para la medición de las constantes de inhibición del factor XIIa humano (Haemochrom Diagnostica GmbH, Essen, Alemania) se empleó como sustrato H-D-HHT-Gli-Arg-pNA (Chromozym XII, Roche Diagnostics GmbH, Mannheim, Alemania).

Tabla 1: Inhibición de PK, factor XIIa, factor XIa y trombina mediante compuestos del tipo (R)-Bencilsulfonil- D-Ser-Aaa-4-Amba

Nr.	Aaa	R	Ki, PM			
			PK	FXIIa	F XIa	Trombina
1	Gly	H	1,7	16	2,2	13
2	Ala	H	0,070	9,2	0,11	0,11
3	Pro	H	0,054	5,1	0,10	0,012
4	Asp	H	3,7	> 1000	n. b.	> 1000
5	Glu	H	1,1	> 1000	n. b.	38
6	Gln	H	0,047	25	0,13	0,49
7	hGlu	H	20	> 1000	11	> 1000
8	Dap	H	0,050	15	0,39	0,65
9	Dap(Z)	H	0,042	13	0,28	6,9
10	Lys	H	0,016	21	0,89	4,3
11	Lys(Z)	H	0,0035	15	0,3	0,18
12	Arg	H	0,079	16	0,77	4,7
13	Thr	H	0,24	51	0,25	4,0
14	Thr(Bzl)	H	0,091	23	0,33	0,30
15	Ser	H	0,16	80	0,30	14

(continuación)

Nr.	Aaa	R	K _i , PM			
			PK	FXIIa	F XIa	Trombina
16	Ser(Bzl)	H	0,025	9,8	0,30	0,48
17	hser	H	0,020	> 1000	n. b.	8,5
18	Phe	H	0,021	0,97	0,92	1,6
19	hPhe	H	0,048	2,8	0,084	1,2
20	Gly	4-COOH	0,70	> 1000	0,60	170
21	Gly	4-COOMe	4,2	42	8,1	9,4
22	Ala	4-COOH	0,016	17	0,015	2,3
23	Ser	4-COOH	0,029	> 1000	0,17	120
24	Ser	4-COOMe	0,16	19	0,87	4,2
25	Gly	4-AMe	6,3	17	6,0	8,0

Tabla 2: Inhibición de PK, factor XIIa, factor XIa y trombina mediante compuestos del tipo (R)-bencilsulfonil- D-Ser(tBu)-Aaa-4-Amba

Nr.	Aaa	R	K _i , PM			
			PK	F XIIa	F XIa	Trombina
26	Gly	H	0,34	2,6	1,4	0,22
27	Ala	H	0,061	2,0	0,030	0,0021
28	Pro	H	0,0065	0,49	0,036	0,0020
29	Asp	H	0,91	> 1000	0,39	6,0
30	Glu	H	0,36	19	0,079	2,6
31	Gln	H	0,0092	6,3	0,067	0,021
32	hGlu	H	8,0	> 1000	8,2	> 1000
33	Dap	H	0,022	4,0	0,19	0,0094
34	Dap(Z)	H	0,025	0,93	0,31	0,37
35	Lys	H	0,0036	4,4	0,51	0,055
36	Lys(Z)	H	0,0094	5,4	0,48	0,024
37	Arg	H	0,040	2,6	0,34	0,065
38	Thr	H	0,032	14	n. b.	0,044
39	Thr(Bzl)	H	0,044	17	0,40	0,019
40	Ser	H	0,052	6,0	0,20	0,047
41	Ser(Bzl)	H	0,012	1,4	0,20	0,012
42	Hser	H	0,21	> 1000	0,74	13
43	hSer(Bzl)	H	0,0082	80	0,61	0,50
44	Phe	H	0,0055	4,6	0,26	0,16
45	hPhe	H	0,0045	1,3	0,083	0,048

(continuación)

Nr.	Aaa	R	K _i , PM			
			PK	F XIIa	F XIa	Trombina
46	Gly	4-COOH	0,029	7,5	n. b.	2,2
47	Gly	4COOMe	1,1	4,8	1,6	0,36
48	Ala	4-COOH	0,0062	9,5	0,0069	0,044
49	Ala	4COOMe	0,054	4,7	0,079	0,0043
50	Gly	4-AMe	4,0	1,8	2,9	0,12
51	Pro	4-CN	0,0094	1,6	0,0091	0,000064

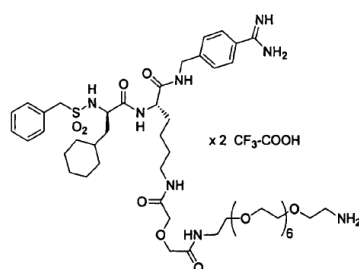
Tabla 3: Inhibición de PK, factor XIIa, factor XIa y trombina mediante compuestos del tipo (R)-bencilsulfonil-D-Cha-Aaa-4-Amba

Nr.	R	Aaa	K _i , PM			
			PK	F XIIa	F XIa	Trombina
52	3-CN	Pro	0,086	13	n. b.	< 0,0010
53	H	Lys	0,0023	0,83	0,15	0,010
54	H	Lys(Z)	0,020	4,0	0,34	0,015
55	3-Ame	Pro	0,090	0,47	0,17	0,0032
56	3-(Glut-NHCH ₂)	Pro	0,044	5,6	0,052	< 0,0010
57	H	Glu	0,030	4,0	0,020	0,081

5

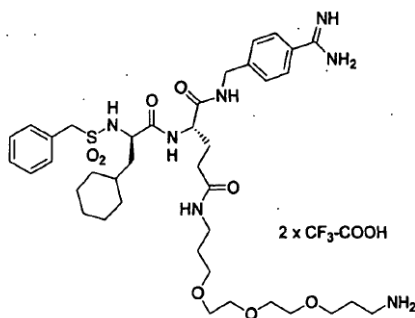
Constantes de inhibición para compuestos acoplados con PEG en PM:

Inhibidor Nr. 58:



PK 0,059; F XIIa 2,0, F XIa 0,23, trombina 0,0080

10 Inhibidor Nr. 59:



PK 0,015 ; F XIIa 0,98, F XIa 0,040, trombina 0,015

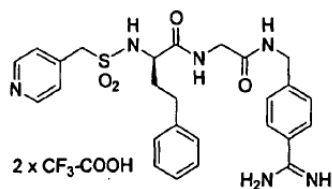
Tabla 4: Inhibición de PK, factor XIIa, factor XIa y trombina mediante compuestos del tipo (4- R)-bencilsulfonil-P3-Aaa-4-Amba ((4-R) define la posición 4 de radical R en la tabla 4 en el anillo fenilo del radical bencilsulfonilo)

Nr.	R	P3	Aaa	K _i , PM			
				PK	F XIIa	F XIa	Trombina
60	H	D-hAla(4-Pyr)	Glu(OBzl)	0,0055	0,094	0,031	0,17
61	COOH	D-Ser	Pro	0,0091	29	0,014	0,24
62	H	D-Ser(tBu)	Lys(Tfa)	0,011	6,1	n. b.	0,0029
63	H	D-Cha	Gly	0,011	0,70	25	0,0090
64	H	D-Ser(tBu)	His	0,014	61	n. b.	0,12
65	COOH	D-Ser(tBu)	Ser	0,015	17	0,030	2,0
66	CH ₂ COO H	D-Ser(tBu)	Pro	0,016	4	n. b.	0,0018
67	H	D-hPhe	Ser	0,019	0,63	3,0	0,55
68	H	D-Ser(tBu)	Can	0,019	6,8	n. b.	0,038
69	H	D-hAla(4-Pyr)	Ser	0,020	1,6	n. b.	0,91
70	COOH	D-Ser(tBu)	Pro	0,025	2,4	n. b.	0,0023
71	H	D-Cha	Lys(Suc)	0,029	11	n. b.	0,0021
72	H	D-hTyr	Glu	0,22	0,36	0,028	19
73	H	D-hTyr	Ser	0,13	0,28	0,078	1,4
74	NO ₂	D-hPhe	Gly	0,051	0,39	0,093	0,71
75	H	D-hTyr	Gly	0,12	0,78	0,61	1,5
76	H	D-hPhe	Gly	0,39	0,15	0,27	0,047
77	H	D-Phe(3-Amidino)	Gly	0,082	0,19	0,25	0,085
78	NH ₂	D-hPhe	Gly	0,045	0,26	0,12	0,26
79	H	D-Phe(3-GuMe)	Gly	0,075	0,31	0,22	0,059
80	H	D-Norarginina	Gly	0,068	0,34	0,49	2,1

(continuación)

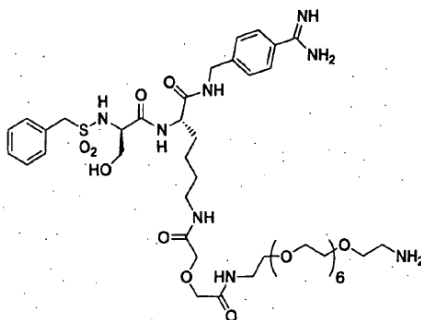
Nr.	R	P3	Aaa	K _i , PM			
				PK	F XIIa	F XIa	Trombina
81	H	D-Arg	Gly	0,074	0,35	0,70	1,4
82	H	D-Cha	Gly	0,10	1,4	0,33	0,023
83	H	D- Indanilglicina	Gly	0,075	0,37	n. b.	0,14
84	COOCH ₃	D-Phe(3-amidino)	Gly	0,14	0,38	0,70	0,53
85	H	D/L-hAla(4- Pyr)	Gly	0,13	0,40	1,1	2,0
86	H	D-Ser	Lys(Glut)	0,39	n. B.	n. b.	2,8

Inhibidor 87:



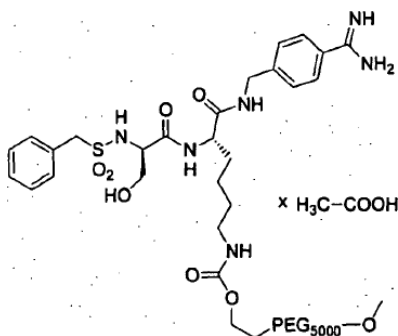
5 Valores Ki en PM: PK 0,42; F XIIa 0,16; F XIa 0,33, trombina 3,6

Inhibidor 88



Valores Ki en PM: PK 0,22; F XIIa 21; F XIa 0,4, trombina 1,2

Inhibidor 89



Valores K_i en PM: PK 0,19; F XIIa 79; trombina 1,72. PEG5000 define un polietilenglicol con un peso molecular promedio de 5000 Dalton.

Ejemplo de operación 6:

- 5 Prevención de la activación de protrombina en plasma anticoagulado con hirudina

Se mezcló sangre de venas de donantes voluntarios saludables inmediatamente después de la toma, con solución de hirudina (2000 ATE/ml solución al 0,9 % de NaCl) en la relación 10:1 y se sometió a centrifugación por 10 min a 250 g. Se mezclaron 950 μ l de plasma con 20 μ l de solución de inhibidor (5 o bien 0,5 mM) y se incubó por 5 h en tubitos de polipropileno a 37 °C. Para el fortalecimiento de la activación sobre la superficie plástica se añadieron 30 μ l de caolín (reactivo PTT, diluido 1:1000; Roche Diagnostics, Penzberg, A).

10

Para la determinación del fragmento de protrombina F 1+2 se empleó un inmunoensayo enzimático (Enzygnost-F 1+2, Dade-Behring GmbH, Marburg, Alemania) según el principio del sandwich. El fragmento de protrombina se enlaza a un anticuerpo fijo respecto a F 1+2. En una segunda etapa se enlazan anticuerpos conjugados de peroxidasa respecto a protrombina y se determina por vía cromogénica la actividad enzimática asociada. Se determinó la concentración de fragmento de protrombina F 1+2 a partir de una curva de calibración.

15

Tabla 5: influencia de diferentes compuestos sobre la activación de protrombina en plasma anticoagulado con hirudina en recipientes de polipropileno con adición de caolín. La cantidad de fragmento de protrombina F 1+2 (en nM) determinado después de 5 h en presencia de caolín fue ajustada como 100 %.

Fragmento de protrombina F 1+2 %					
Inhibidor Nr.	+ Caolín	- Caolín	Caolín + Inhibidor		
			100 PM	10 PM	1 PM
45	100	0,64	0,11	0,59	n.b
11	100	0,49	0,15	110,9	n.b
53	100	0,46	0,08	0,09	0,59
59	100	0,46	0,03	0,20	59,3
75	100	0,14	n.b	0,01	0,07
73	100	0,14	n.b	0,04	0,07

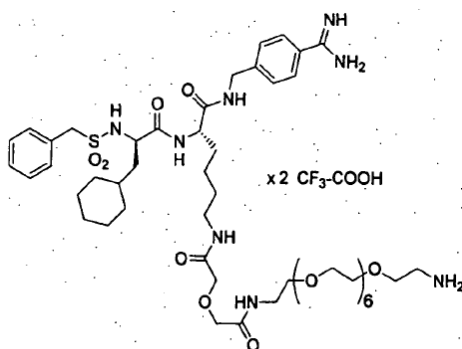
20

Ejemplo de operación 7:

Empleo de un inhibidor PK para cromatografía de afinidad como un modelo para la modificación de una superficie plástica

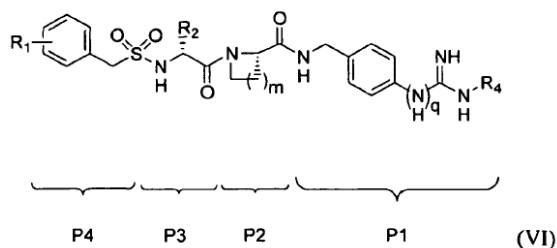
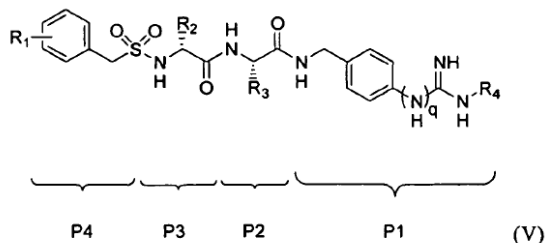
- 5 Mediante el acoplamiento del inhibidor bencilsulfonil-D-Ser-Lys-4-Amba sobre CH-Sepharosa 4B (Pharmacia) se produjo el material para una cromatografía de afinidad. Para ello se suspendieron primero 16 g de CH-Sepharosa 4B hinchada en 65 ml de tampón MES (0,1 M pH 4,75), a continuación se añadió el inhibidor (50 mg en 2 ml de tampón). A la mezcla se añadieron 2,837 g de N-ciclohexil-N'-(2-morfolinoetil)-carbodiimid-meto-p-toluensulfonato (Acros Organics) (corresponde a 0,1 M en la fórmula) y se incubó por 24 h a temperatura ambiente. A continuación se lavó con tampón MES y agua y se llevó al equilibrio con tampón Tris (0,05 M, contiene 0,75 M NaCl, pH 7,5).
- 10 Después de empacar y dejar equilibrar la columna (1,4 x 19 cm) se aplicaron 140 µg de PK (Haemochrom Diagnostics, Essen, Alemania) en 1 ml de tampón. Después se lavó la columna primero con tampón Tris y a continuación con solución 3 M de NaCl, en ello no eluyó nada de PK. Mediante un gradiente subsiguiente de benzamidina (0,1 - 2,5 M) eluyó 41 % de PK activo.

- 15 Puede obtenerse un resultado comparable mediante el empleo de una columna de cromatografía de afinidad, en la cual se acople de modo covalente el inhibidor mostrado a continuación.



REIVINDICACIONES

1. 4-amidino- o 4-guanidinobencilamina aciladas, de las fórmulas generales V o VI



con $m = 1$ a 3 y $q = 0$ o 1 ,

5 donde R_1 , R_2 , R_3 y/o R_4 son

(a) hidrógeno y/o

(b) un halógeno y/o

10 (c) un radical alquilo sustituido o no sustituido, ramificado o lineal con 1-6 átomos de C, donde el sustituyente del radical alquilo sustituido, ramificado o lineal es un grupo halógeno, hidroxilo, amino, ciano, amidino, guanidino y/o carboxilo, dado el caso esterificado con un radical alquilo con 1-6 átomos de C y/o

15 (d) un grupo hidroxilo, amino, ciano, amidino, guanidino, metiloxycarbonilo, bencilo, benciloxycarbonilo, aminometilo o glutarilo o succinil-amidometilo y/o un grupo oxialquilcarbonilo, carboxilo, carboximetilo o carboxietilo, dado el caso esterificado con un radical alquilo con 1-6 átomos de C o un grupo oxialquilcarbonilo, carboxilo, carboximetilo o carboxietilo, que están presentes como amida no sustituida o sustituida con un grupo alquilo o arilo y/o

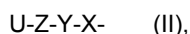
R_1 y/o R_3 son un grupo de unión, donde los grupos de unión son elegidos de entre un sustituyente de

20 (c) un radical alquilo sustituido o no sustituido, ramificado o lineal con 1-6 átomos de C o un radical aralquilo sustituido o no sustituido, ramificado o lineal con 1-10 átomos de C, donde el sustituyente del radical alquilo o radical aralquilo sustituido, ramificado o lineal es un grupo halógeno, hidroxilo, amino, ciano, amidino, guanidino y/o uno carboxilo, dado el caso esterificado con un radical alquilo con 1-6 átomos de C, y/o

25 (d) un grupo hidroxilo, amino, ciano, amidino, guanidino, metiloxycarbonilo, bencilo, benciloxycarbonilo, aminometilo o glutarilo o succinil-amidometilo y/o un grupo oxialquilcarbonilo, carboxilo, carboximetilo o carboxietilo dado el caso esterificado con un radical alquilo con 1-6 átomos de C o un grupo oxialquilcarbonilo, carboxilo, carboximetilo o carboxietilo, que está presente como amida no sustituida o sustituida con un grupo alquilo o arilo,

30 están acoplados sobre P4 o directamente sobre un grupo funcional de P2 por un grupo -NH- o -CO-, donde el grupo de unión es un ácido dicarboxílico, un ácido aminocarboxílico, una diamina, un ácido disulfónico, o un ácido aminosulfónico con una estructura básica alquilo, arilo o aralquilo, donde la estructura básica de alquilo exhibe 1 a 12 átomos de C, la estructura básica de arilo exhibe 6-10 átomos de C, la estructura básica de aralquilo exhibe 6-12 átomos de C, o un grupo aminoalquilo o carboxialquilo con 2-12 átomos de C; o donde el grupo de unión sobre P4 o P2 es una cadena de poli- u oligoetilen- o poli- u oligopropilenglicol, donde el poli- o oligoetilen- o poli- u oligopropilenglicol en por lo menos en ambos extremos exhibe un grupo amino, carboxilo y/o mercapto sustituido o no sustituido o donde el poli- u oligoetilen- o poli- u oligopropilenglicol en por lo menos un extremo exhibe un grupo

amino, carboxilo y/o mercapto sustituido o no sustituido y en el otro extremo está modificado con un grupo alquilo con 1-4 átomos de C y/o R₁ exhibe la fórmula (II)



donde

5 U es igual a un grupo H₂N-, HOOC-(CH₂)_n-CO-NH-, HOOC-, H₂N-(CH₂)_n-NH-CO- o HS con Z igual a -(CH₂)_n con n = 1 a 10, o Z es igual a un oligo- o polialquilenglicol de la fórmula general -(CH₂)_d-[OCH₂-CH₂]_vO-(CH₂)_m-(NH-CO-CH₂-O-CH₂)_k- o -(CH₂)_d-[O-CH(CH₃)-CH₂]_vO--(CH₂)_m-(NH-CO-CH₂-O-CH₂)_k con d = 1, 2, 3 o 4, v = un número entero de 1 a 1000, m = 0, 1, 2, 3 o 4 y k = 0 o 1 o

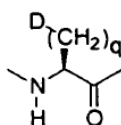
10 U es igual a un grupo CH₃-O- con Z igual a un oligo- o polialquilenglicol de la fórmula general -(CH₂)_d-[OCH₂-CH₂]_vO-(CH₂)_m-(NH-CO-CH₂-O-CH₂)_k- o -(CH₂)_d-[O-CH(CH₃)-CH₂]_vO-(CH₂)_m-(NH-CO-CH₂-O-CH₂)_k con d = 1, 2, 3 o 4, v = un número entero de 1 a 1000, m = 0, 1, 2, 3 o 4 y k = 0 o 1;

Y es igual a un grupo -CO-NH-, un grupo -NH-CO-, un grupo -SO₂-NH- un grupo -NH-SO₂-, un grupo -S-S- o un grupo -S- o cuando U y Z no están presentes es igual a un grupo H₂N-, HOOC-, HS-, HO- o halogenalquilo;

15 X es igual a un grupo -(CH₂)_n- con n = 0, 1, 2, 3 o 4 o igual a un grupo -(CH₂)_n-O- con enlace al radical bencilo sobre el oxígeno y n = 1, 2, 3 o 4;

y el acoplamiento del grupo de unión sobre el anillo fenilo de radical bencilo proviene de X en caso de que esté presente o proviene de Y, cuando X no esté presente,

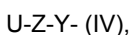
y P2 con R₃ exhibe la fórmula (III)



(III),

20

donde q = 0, 1, 2, 3, 4 o 5 y D es igual a la fórmula IV



donde U, Z y Y poseen el mismo significado que en la fórmula II,

25 y

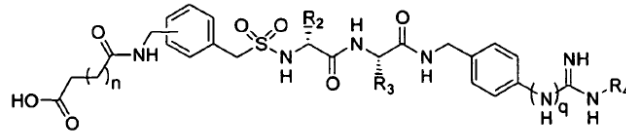
R₄ es hidroxilo, amino y alcóxicarbonilo,

caracterizada porque la 4-amidino- o 4-guanidinobencilamina aciladas están unidas a una superficie plástica de modo covalente bien sea mediante un enlace amido o sulfonamido, un puente disulfuro o por la adición de un grupo alquilo a un grupo mercapto,

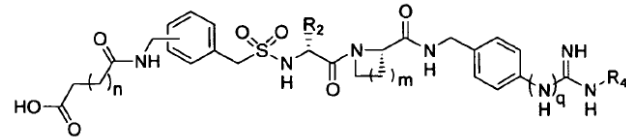
30 donde la superficie plástica consiste en diacetato de celulosa, triacetato de celulosa, poli(etersulfona), poli(ariletersulfona), celulosa regenerada, cuprofan, hemofan, poli(sulfona), poli(acrilonitrilo), poli(vinilalcohol), poli(carbonato), poli(amida), poli(metilmacrilato), poli(etilen-co-vinilalcohol) u otro material empleado en equipos como dializadores, oxigenadores, catéteres, membranas y/o los sistemas de mangueras pertenecientes a los equipos y/o trampas de aire para las superficies que entran en contacto con sangre, y

35 el material superficial para el acoplamiento covalente de la molécula de la fórmula general (V) o (VI) está modificado sobre el grupo de unión acoplado en P4 o P2, con grupos funcionales elegidos de entre grupos amino, grupos aminoalquilo, grupos carboxilo, grupos carboxialquilo, grupos mercapto, grupos mercaptoalquilo, grupos hidroxilo y grupos hidroxialquilo.

2. 4-amidino- o 4-guanidinobencilamina aciladas según la reivindicación 1, **caracterizada porque** la amidino- o guanidinobencilamina aciladas exhiben una de las siguientes estructuras:

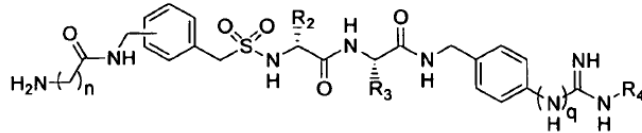


o

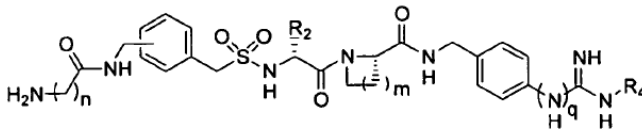


5

o

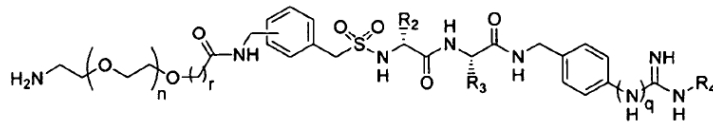


o

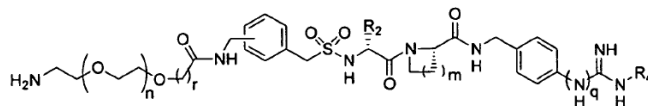


10 con $n = 1$ a 10 , $m = 1$ a 3 y $q = 0$ o 1 , donde R_2 , R_3 y R_4 tienen los significados mencionados en la reivindicación 1.

3. 4-amidino- o 4-guanidinobencilamina aciladas según la reivindicación 1, **caracterizadas porque** la 4-amidino- o 4-guanidinobencilamina aciladas exhiben una de las siguientes estructuras :

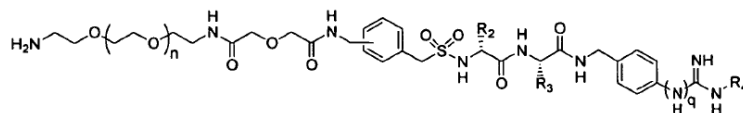


o

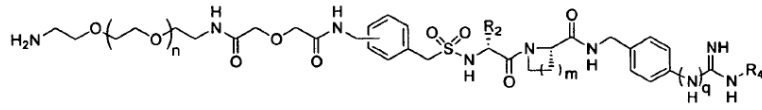


15

o

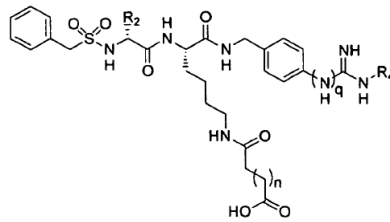


o



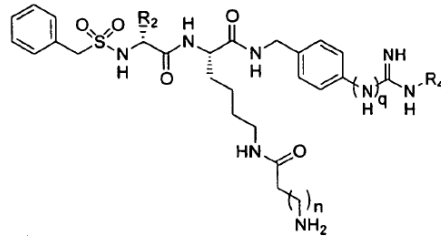
con $n = 1$ a 1000, $m = 1$ a 3, $r = 0$ a 3 y $q = 0$ o 1, donde R_2 , R_3 y R_4 tienen el significado mencionado en la reivindicación 1.

- 5 4. 4-amidino- o 4-guanidinobencilamina aciladas según la reivindicación 1, **caracterizadas porque** la 4-amidino- o 4-guanidinobencilamina aciladas exhiben una de las siguientes estructuras:



con $n = 0$ a 5, preferiblemente 1 o 2

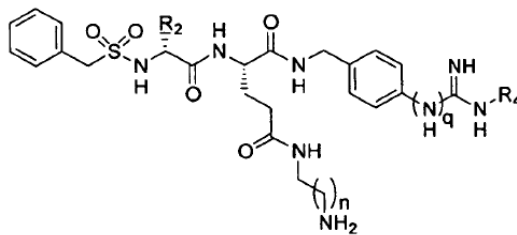
o



10

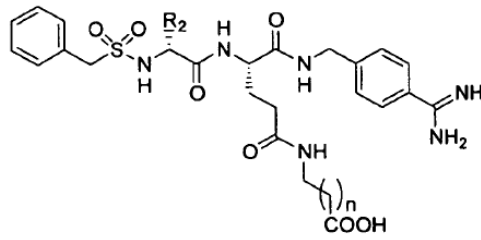
con $n = 0$ a 11,

o

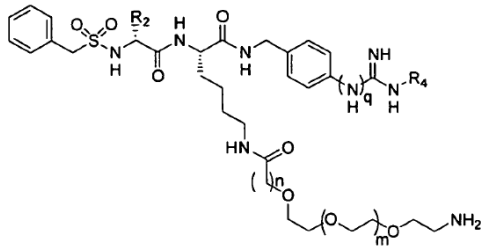


con $n = 1$ a 6

15 o

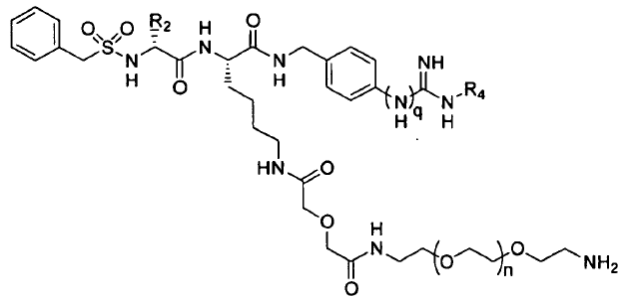


o



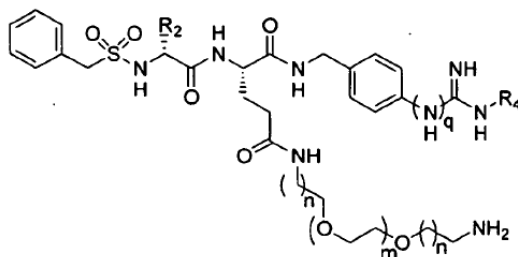
con $n = 0$ a 3 y $m = 0$ a 1000

5 o



con $n = 1$ a 1000

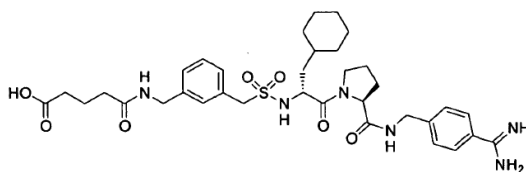
o



10 con $n = 1$ a 3 y $m = 1$ a 1000 , donde q en cada caso es igual a 0 o 1 , y R_2 y R_4 poseen en cada caso los significados mencionados en la reivindicación 1.

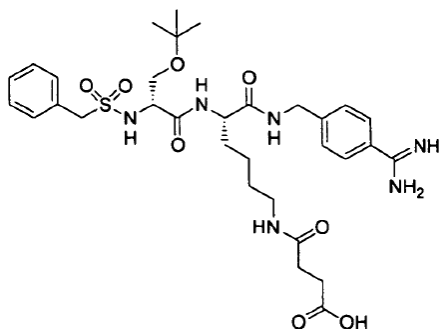
5. 4-amidino- o 4-guanidinobencilamina aciladas según la reivindicación 1, **caracterizadas porque** el sustituyente en P4 es en particular H, un halógeno, un grupo amino, un grupo hidroxilo o un grupo alquilo lineal o ramificado con 1 a 6 átomos de carbono y el acoplamiento en la superficie plástica ocurre sobre P2 como se define en la reivindicación 1.

15 6. 4-amidino- o 4-guanidinobencilamina aciladas según la reivindicación 1, **caracterizadas porque** la 4-amidino- o 4-guanidinobencilamina aciladas exhiben la siguiente estructura:



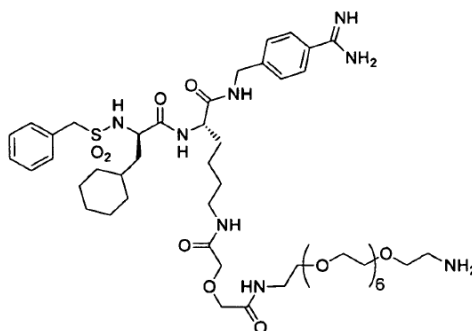
donde D-Cha en posición P3 en particular también puede ser D-Phe o D-Ser(tBu) y glutarilo en P4 también puede ser succinilo.

- 5 7. 4-amidino- o 4-guanidinobencilamina aciladas según la reivindicación1, **caracterizadas porque** la 4-amidino- o 4-guanidinobencilamina aciladas exhibe una de las siguientes estructuras:

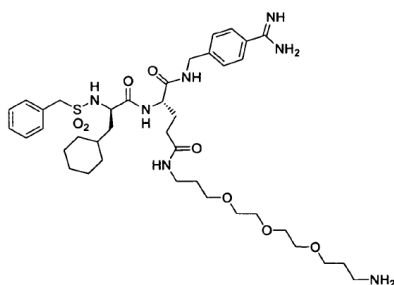


donde D-Ser(tBu) en posición P3 en particular puede ser también D-Cha o D-Phe y succinilo en P2 puede ser también glutarilo.

- 10 8. 4-amidino- o 4-guanidinobencilamina aciladas según la reivindicación1, **caracterizadas porque** la 4-amidino- o 4-guanidinobencilamina aciladas exhiben una de las siguientes estructuras:



o



donde D-Cha en posición P3 en particular puede ser también D-Phe o D-Ser(tBu).

9. 4-amidino- o 4-guanidinobencilamina aciladas según la reivindicación 1, donde

P3 es un aminoácido en la configuración D, elegido de entre D-Ser, D-Ser(tBu), D-Phe y D-Cha, y P2 significa un aminoácido Aaa no sustituido o sustituido una o varias veces, natural o no natural en la configuración L,

5 donde R1 es igual a H-, 4-, 3- o 2-COOH, 4-, 3- o 2-COOME, 4-, 3- o 2-AMe, 4-, 3- o 2-Glutaril-AMe o 4-, 3- o 2-CN y Aaa es igual a Gli, Ala, Pro, Asp, Glu, Gln, hGlu, Dap, Dap(Z), Lys, Lys(Z), Arg, Thr, Thr(Bzl), Ser, Ser(Bzl), hSer, hSer(Bzl), Phe o hPhe.

10 10. 4-amidino- o 4-guanidinobencilamina aciladas según la reivindicación 9, **caracterizadas porque** para P3 igual a D-Ser, Aaa es preferiblemente Gln, Dap, Dap(Z), Lys, Lys(Z), Ser(Bzl), hSer, Phe o hPhe, en particular Lys(Z) y R₁ es igual a H o para Aaa igual a Ala o Ser, R₁ es igual a HOOC-;

o para P3 igual a D-Ser(tBu), Aaa es igual a Pro, Gln, Dap, Dap(Z), Lys, Lys(Z), Arg, Thr, Thr(Bzl), Ser(Bzl), hSer(Bzl), Phe o hPhe, en particular Pro, Gln, Lys, Lys(Z), hSer(Bzl), Phe o hPhe y R₁ es igual a H o para Aaa igual a Gli o Ala, R₁ es igual a HOOC- o para Aaa igual a Pro, R₁ es igual a CN-;

15 o para P3 igual a D-Cha, Aaa es igual a Lys o Glu y R1 es igual a H o para Aaa igual a Pro, R₁ es igual a glutaril-AMe, en particular para Aaa igual a -NH-CH-[CH₂-CH₂-CO-NH-(CH₂)₃-[O-(CH₂)₂]₃-CH₂-NH₂]-CO-, R₁ es igual a H.

20 11. 4-amidino- o 4-guanidinobencilamina aciladas según por lo menos una de las reivindicaciones 1-10, **caracterizadas porque** la 4-amidino- o 4-guanidinobencilamina acilada está presente en forma de una sal, en particular como sal de un ácido mineral, por ejemplo ácido sulfúrico o ácido clorhídrico o un ácido orgánico adecuado por ejemplo ácido acético, ácido fórmico, ácido metilsulfónico, ácido succínico, ácido maleico o ácido trifluoroacético, en particular como clorhidrato, sulfato o acetato.

12. 4-amidino- o 4-guanidinobencilamina aciladas según por lo menos una de las reivindicaciones 1-11, para prevenir la coagulación de la sangre sobre una superficie plástica como se define en la reivindicación 1 de equipos como dializadores, oxigenadores, catéteres, membranas y/o los sistemas de mangueras y/o trampas de aire que pertenecen a los equipos.

25 13. 4-amidino- o 4-guanidinobencilamina aciladas según por lo menos una de las reivindicaciones 1 a 12, **caracterizadas porque** la 4-amidino- o 4-guanidinobencilamina acilada está enlazada de modo covalente con un enlace amido a una superficie plástica como se define en la reivindicación 1.

30 14. 4-amidino- o 4-guanidinobencilamina aciladas según por lo menos una de las reivindicaciones 1-13, **caracterizadas porque** la 4-amidino- o 4-guanidinobencilamina acilada inhiben la calicreína de plasma y/o factor XIa y/o factor XIIIa, en particular calicreína de plasma.

15. Equipo que contiene una 4-amidino- o 4-guanidinobencilamina aciladas según por lo menos una de las reivindicaciones 1-14.

16. Equipo según la reivindicación 15, **caracterizado porque** el equipo es un dializador, oxigenador, catéter o una membrana.