

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 439 244**

51 Int. Cl.:

**C07C 311/33** (2006.01)  
**C07D 213/56** (2006.01)  
**C07D 213/89** (2006.01)  
**C07K 5/06** (2006.01)  
**C07D 233/64** (2006.01)  
**A61K 31/44** (2006.01)  
**A61P 7/02** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **24.10.2007 E 07819274 (7)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **11.09.2013 EP 2054380**

54 Título: **Inhibidores de serina proteasa tipo tripsina, su preparación y uso**

30 Prioridad:

**24.10.2006 DE 102006050672**

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

**22.01.2014**

73 Titular/es:

**THE MEDICINES COMPANY (LEIPZIG) GMBH  
(100.0%)  
Deutscher Platz 5 A  
04103 Leipzig, DE**

72 Inventor/es:

**STEINMETZER, TORSTEN;  
SCHWEINITZ, ANDREA;  
STÜRZEBECKER, JÖRG;  
STEINMETZER, PETER;  
SÖFFING, ANETT;  
VAN DE LOCHT, ANDREAS;  
NICKLISCH, SILKE;  
REICHEL, CLAUDIA;  
LUDWIG, FRIEDRICH-ALEXANDER;  
SCHULZE, ALEXANDER;  
DAGHISCH, MOHAMMED y  
HEINICKE, JOCHEN**

74 Agente/Representante:

**CARVAJAL Y URQUIJO, Isabel**

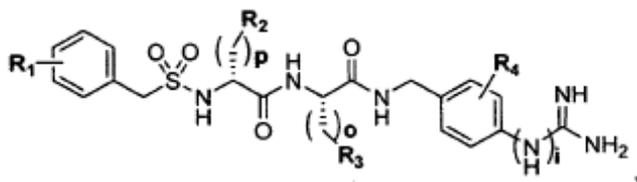
**ES 2 439 244 T3**

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

Inhibidores de serina proteasa tipo tripsina, su preparación y uso.

La invención se refiere a inhibidores de serina proteasas tipo tripsina de la fórmula general:



5 los cuales, además de plasmina, también inhiben calicreína plasmática, así como a la preparación y uso de éstos como medicamentos, preferentemente para el tratamiento de pérdida de sangre, especialmente en estados hiperfibrinolíticos, en trasplantes de órganos y procedimientos quirúrgicos cardiacos, especialmente con derivación o bypass cardiopulmonar, o como constituyente de un adhesivo de fibrina.

10 Ya son conocidos inhibidores de plasmina y calicreína plasmática (PK). La plasmina es una serina proteasa tipo tripsina y desdobra numerosos sustratos C terminalmente de los aminoácidos básicos arginina o lisina. La plasmina se forma a partir del zimógeno plasminógeno por la acción catalítica de los activadores de plasminógeno urocinasa o tPA. Los sustratos de plasmina incluyen diversas proteínas de la matriz extracelular y la membrana basal, por ejemplo fibronectina, laminina, colágeno tipo IV o fibrina, pero también numerosos zimógenos como preformas de metaloproteasas de matriz o el activador del plasminógeno urocinasa. En la sangre, la plasmina es responsable, ante todo, de la fibrinólisis por desdoblamiento de fibrina en productos solubles.

15 Los inhibidores de plasmina endógenos incluyen  $\alpha_2$ -macroglobulina y la serpina  $\alpha_2$ -antiplasmina. En ciertos estados patológicos puede haber activación espontánea de la fibrinólisis. En el caso de tal hiperplasminemia, no solo se degrada la fibrina cerradora de heridas, sino existe también formación de productos de degradación de fibrinógeno anticoagulante. Con ello pueden surgir serios deterioros de la hemostasis. Los antifibrinolíticos que se utilizan en la clínica son ácidos aminocarboxílicos sintéticos como el ácido  $\epsilon$ -aminocapróico, ácido p-aminometilbenzóico o ácido tranexámico (ácido trans-4-(aminometil)ciclohexancarboxílico). Estos compuestos bloquean la unión del zimógeno plasminógeno a la fibrina y de este modo inhiben la activación de éste en plasmina. Estos compuestos, por tanto, no son inhibidores directos de plasmina y son incapaces de inhibir plasmina la cual ya ha sido formada. Otro antifibrinolítico empleado es aprotinina (Trasylo<sup>®</sup>, Bayer AG, Leverkusen), un polipéptido de 25 58 aminoácidos que se obtiene de pulmón bovino. La aprotinina inhibe plasmina con una constante de inhibición de 1 nM, pero es relativamente no específica y también inhibe eficazmente tripsina ( $K_i = 0.1$  nM) y calicreína plasmática ( $K_i = 30$  nM). La aprotinina también inhibe otras enzimas, aunque con actividad reducida.

30 Un uso importante de aprotinina es reducir la pérdida de sangre, especialmente en procedimientos quirúrgicos cardiacos con bypass o derivación cardiopulmonar (CPB), reduciendo ostensiblemente la necesidad de transfusiones sanguíneas perioperatorias (Sodha et al., 2006). Además, la aprotinina también se emplea en otras operaciones, por ejemplo en trasplantes de órgano, para inhibir la pérdida de sangre o se utiliza como aditivo en adhesivos de fibrina.

35 El uso de aprotinina tiene varias desventajas. Puesto que se aísla de órganos bovinos, en teoría existe el riesgo de contaminación patógena reacciones alérgicas. El riesgo de un shock anafiláctico es relativamente bajo con la primera administración de aprotinina (< 0,1 %), aunque aumenta con administración repetida a los 200 días a 4-5 %.

40 Recientemente se documentó que la administración de aprotinina en comparación directa con ácido  $\epsilon$ -aminocapróico o ácido tranexámico induce una cantidad aumentada de efectos secundarios (Mangano et al., 2006). La administración de aprotinina dio origen a una duplicación del número de casos de daño renal, por lo que se hizo necesaria la diálisis. Del mismo modo, el riesgo de infarto de miocardio y accidente cerebrovascular apopléjico se aumentó por la administración de aprotinina en comparación con los grupos testigo.

45 A la fecha sólo se conocen algunos inhibidores sintéticos de plasmina. Sanders y Seto (1999) describieron derivados de 4-heterociclohexanona con actividad relativamente débil, con constantes de inhibición  $\geq 50$   $\mu$ M para plasmina. Xue y Seto (2005) reportaron derivados peptídicos de ciclohexanona con valores  $IC_{50} \geq 2$   $\mu$ M, pero se desconoce su desarrollo posterior. Okada y Tsuda describieron diferentes derivados con un residuo de 4-aminometilciclohexanoilo que inhiben plasmina con valores  $IC_{50} \geq 0,1$   $\mu$ M, pero no se conoce una aplicación clínica de estos inhibidores (Okada et al., 2000; Tsuda et al., 2001).

Las constantes de inhibición de plasmina han sido publicadas en numerosas publicaciones sobre el desarrollo de inhibidores de proteasas de coagulación como antitrombóticos, donde el objetivo en estos casos fue inhibir plasmina tan débilmente como fuera posible. En ninguno de estos documentos se mencionó un uso posible de estos compuestos para reducir la pérdida de sangre en procedimientos quirúrgicos cardíacos. De este modo, por ejemplo, el inhibidor de trombina melagatran inhibe plasmina con un valor  $K_i$  de 0.7  $\mu\text{M}$ , mientras que los compuestos estructural y estrechamente relacionados H317/86 tienen una constante de inhibición de 0.22  $\mu\text{M}$  para plasmina (Gustafsson et al., 1998). Sin embargo, ambos compuestos inhiben la proteasa trombina ostensiblemente más fuerte con valores  $K_i \leq 2$  nM, por lo cual la administración de melagatran da como resultado una fuerte anticoagulación.

Como se describe en la introducción la aprotinina inhibe no solo plasmina sino también calicreína plasmática (PK). La PK es una serina proteasa tipo tripsina multifuncional para la cual se conocen varios sustratos fisiológicos. De esta manera, la PK puede liberarse por desdoblamiento proteolítico del péptido vasoactivo bradiginina a partir de cininógeno de peso molecular alto y activar los zimógenos factor de coagulación XII, prourocinasa, plasminógeno y pro-MMP 3. Por lo tanto, se supone que el sistema PK/cinina tiene una función importante en diversos síntomas, por ejemplo, en situaciones tromboembólicas, coagulación intravascular diseminada, shock séptico, alergias, el síndrome de postgastrectomía, artritis y ARDS (síndrome de distrés respiratorio del adulto) (Tada et al., 2001).

Por consiguiente, la aprotinina inhibe, por su efecto inhibitor sobre PK, la liberación de la hormona peptídica bradiginina. La bradiginina tiene, por activación del receptor de bradiginina B2, diversos efectos. La liberación inducida por bradiginina de tPA, NO y prostaciclina a partir de las células endoteliales (ver la revisión de Schmaier, 2002) tiene influencia sobre la fibrinólisis, presión arterial y episodios inflamatorios. Se discute que los procesos inflamatorios sistémicos que pueden ocurrir como efectos colaterales en operaciones se reducen por la inhibición de la liberación de bradiginina.

Diversas bisbenzamidas como pentamidina y compuestos relacionados, y ésteres de ácidos  $\omega$ -amino y  $\omega$ -guanidinoalquilcarboxílicos con valores  $K_i$  micromolares han sido descritos como inhibidores de PK (Asghar et al., 1976; Muramatu y Fuji, 1971; Muramatu y Fuji, 1972; Ohno et al, 1980; Muramatu et al., 1982; Satoh et al., 1985; Tena et al., 1991).

Los primeros inhibidores competitivos, selectivos, que se derivan de arginina o fenilalanina fueron desarrollados por Okamoto et al., (1988) e inhiben PK con valores  $K_i$  alrededor de 1  $\mu\text{M}$ . Varios documentos sobre el desarrollo de inhibidores de PK competitivos han sido publicados por el grupo de Okada, en cuyo caso los compuestos más activos que se derivan del trans-4-aminometilciclohexancarboxil-Phe-4-carboximetilamida tienen constantes de inhibición alrededor de 0.5  $\mu\text{M}$  (Okada et al., 1999; Okada et al., 2000, Tsuda et al., 2001). Los inhibidores de PK tienen en común su valor  $K_i$  relativamente alto. La Patente US 6,472,393 describe inhibidores de PK potentes con constantes de inhibición alrededor de 1 nM y con una 4-amidinoanilina como residuo P1. Los inhibidores de PK también han sido descritos en US 5,602,253. US 2006/0148901 describe inhibidores de PK cuyo efecto inhibitor sobre plasmina, sin embargo, es relativamente pequeño, por lo cual estos inhibidores difieren de los inhibidores descritos en la presente solicitud.

En WO 2005/026198 A1 se describen análogos de bencilamina sustituidos básicamente como inhibidores del factor de coagulación Xa, su producción y uso para la terapia y profilaxis de enfermedades cardiovasculares y eventos tromboembólicos.

En WO 2004/062657 A1 se describen el uso de 4-amidino- o 4-guanidinobencilamina acilada según la fórmula general (I) P4- P3- P2- P1 (I) en cuyo caso P4 es un grupo bencilsulfonilo mono- o polisustituido o no sustituido, P3 es un  $\alpha$ -amino- o  $\alpha$ -iminoácido mono- o polisustituido o no sustituido, natural o no natural en la configuración D, P2 es un  $\alpha$ -amino- o  $\alpha$ -iminoácido mono- o polisustituido o no sustituido, natural o no natural, en la configuración L, y P1 es un grupo 4-amidino- o 4-guanidino- bencilamina mono- o polisustituido, para inhibir calicreína plasmática (PK), factor XIa y factor IIa, principalmente para impedir la activación de coagulación en superficies artificiales y para administrar térmicamente como anticoagulante/antitrombótico, ante todo para impedir la activación de coagulación en superficies artificiales para evitar eventos tromboembólicos.

WO 03/076457 A1 divulga derivados de amidina y guanidina como inhibidores del factor de coagulación Xa y su uso para la terapia, profilaxis y diagnóstico de enfermedades cardiovasculares y eventos tromboembólicos.

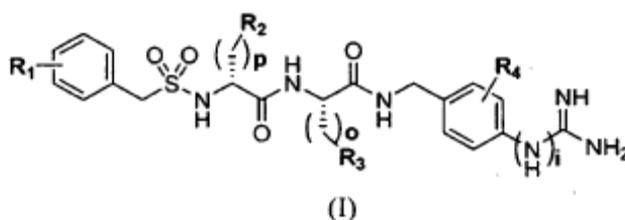
En WO 00/58346 A1 se describen derivados de N-sulfonil-dipéptido, su producción o terapéutico.

Por tanto, la invención tiene como objetivo fundamental proporcionar sustancias activas de peso molecular bajo, adecuadas para aplicaciones terapéuticas que inhiban de manera reversible y competitiva, en particular, plasmina y calicreína plasmática con actividad y especificidad altas, y por tanto, sean apropiadas para la hemostasis en diversas aplicaciones, por ejemplo, en procedimientos quirúrgicos cardíacos con CPB, en trasplantes de órganos y otras operaciones. Otra ventaja de estos compuestos es que mediante su efecto como inhibidor de calicreína plasmática adicionalmente se reduce la liberación de cinina y de este modo pueden suprimirse las reacciones

inflamatorias mediadas por cinina. La liberación inducida por cinina de tPA a partir de las células endoteliales se suprime a su vez por la liberación de cinina inhibida, por lo cual es posible que la hidrólisis sea regulada hacia abajo por este mecanismo. Otra ventaja de estos compuestos es, a pesar de la selectividad, un cierto efecto inhibitor de estos compuestos sobre FXa y/o trombina, por lo cual las complicaciones trombóticas deben reducirse además al usar estos compuestos.

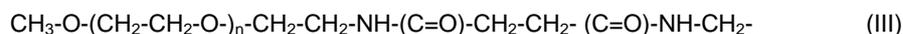
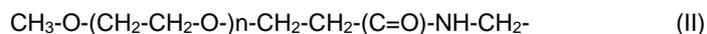
Ahora se ha encontrado sorprendentemente que combinando dos residuos estéricamente impedidos y/o hidrófugos R<sub>2</sub> y R<sub>3</sub>, preferentemente sistemas aromáticos sustituidos o no sustituidos, de acuerdo con la fórmula 1, pueden obtenerse inhibidores con constantes de inhibición fuertes frente a plasmina y calicreína plasmática. También fue posible obtener efectos comparablemente buenos con sustancias que tienen residuos no aromáticos en R<sub>2</sub> y residuos de fenilo básicamente sustituidos en R<sub>3</sub>.

Por lo tanto son objeto de la presente invención compuestos de la fórmula general (I)



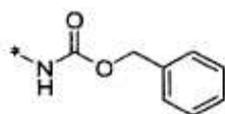
En la cual

R<sub>1</sub> significa, independientemente entre sí, presente opcionalmente una o más veces, un residuo de COOR<sub>5</sub>, donde R<sub>5</sub> es igual a hidrógeno o un grupo alquilo inferior ramificado o lineal, con 1 - 6 átomos de carbono, preferentemente metilo o etilo, principalmente metilo, un residuo aminoalquilo ramificado o lineal con 1-6 átomos de carbono, preferentemente metilo, un residuo halógeno o pseudohalógeno, preferentemente cloro o un grupo ciano, o un residuo de polietilenglicol de la fórmula (II) o (III)

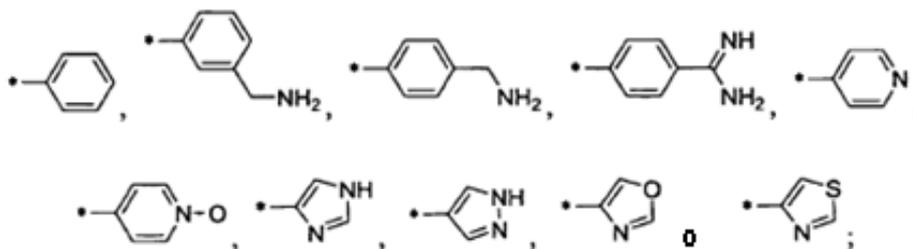


en cuyo caso, por lo regular, n se define de modo que los residuos de polietilenglicol mencionados tienen un peso molecular promedio de 10000 Da, 5000 Da, 3400 Da, 2000 Da, 1000 Da o 750 Da. Usualmente, n es un número entero entre aproximadamente 18 hasta aproximadamente 250, principalmente cerca de 18, cerca de 25, cerca de 50, cerca de 85, cerca de 125 o cerca de 250.

R<sub>2</sub> es un ciclo o un biciclo no sustituido por sustituido, aromático o no aromático, con 5-13 átomos de carbono o un heterociclo aromático con 4-5 átomos de carbono y un átomo de nitrógeno, óxido de nitrógeno, átomo de oxígeno o átomo de azufre, donde la sustitución es un residuo de halógeno, preferentemente cloro o flúor, principalmente cloro, un residuo alquilo ramificado o lineal, opcionalmente substituido con flúor, con 1-6 átomos de carbono, preferentemente metilo o butilo terciario, un residuo alquilo ramificado o lineal, opcionalmente substituido con flúor, con 1-6 átomos de carbono, preferentemente metilo, un residuo hidroxilo o un residuo ciano; o un residuo de la estructura:



R<sub>3</sub> se selecciona de



R<sub>4</sub> es un residuo halógeno opcionalmente presente una o varias veces, preferentemente flúor;

o = 1, o 2 principalmente 1;

p = 0, 1, 2, 3 o 4, principalmente 3; y

5 i = 0 o 1, principalmente 0;

así como sus mezclas racémicas y sales con ácidos orgánicos e inorgánicos.

10 Los resultados experimentales han demostrado que la inhibición de plasmina y calicreína plasmática es particularmente buena en los compuestos que tienen estructuras cíclicas en R<sub>2</sub> y R<sub>3</sub> y principalmente que tienen ciclo aromático de carbono en R<sub>2</sub> y R<sub>3</sub>. Además, ha sido posible demostrar que eligiendo apropiadamente los sustituyentes es posible además lograr una buena inhibición del factor Xa y/o trombina en los compuestos que tienen un sistema carbocíclico aromático en R<sub>2</sub> y R<sub>3</sub>.

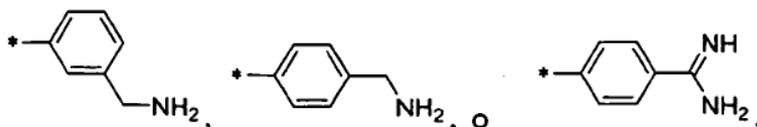
15 Los resultados experimentales también han demostrado que una reducción notable en la inhibición de trombina se logra cuando R<sub>1</sub> representa un grupo 3-COOH. En una modalidad preferida, por tanto, R<sub>1</sub> está presente una vez y en posición meta o para, R<sub>1</sub> preferentemente es un residuo COOH, y en particular, R<sub>1</sub> está una vez y se selecciona de hidrógeno, un grupo 4-COOH o, en particular, un grupo 3-COOH. Fue posible lograr una reducción adicional en la inhibición de trombina cuando R<sub>4</sub> representa un átomo de flúor, en particular en posición orto.

Otra modalidad preferida de la presente invención se refiere a los compuestos en los cuales R<sub>2</sub> es un sistema cíclico o bicíclico aromático, sustituido o no sustituido que tiene 6-13 átomos de carbono o heterociclo que tiene 5 átomos de carbono y un átomo de nitrógeno.

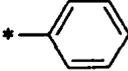
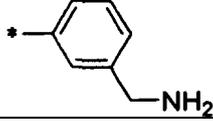
20 La sustitución en R<sub>2</sub> puede ser, en general, un residuo halógeno, preferentemente cloro o flúor, en particular cloro, un residuo alquilo ramificado o lineal, opcionalmente sustituido con flúor que tenga 1-6 átomos de carbono, preferentemente metilo o terbutilo, un residuo alcoxi ramificado o lineal, opcionalmente sustituido con flúor que tenga 1-6 átomos de carbono, preferentemente metilo, un residuo hidroxilo o un residuo ciano.

25 En una modalidad alternativa, R<sub>2</sub> también puede ser un sistema cíclico no aromático que tenga 6 átomos de carbono.

Compuestos particularmente adecuados han demostrado ser los compuestos de la fórmula (I) en los que R<sub>3</sub> se selecciona de

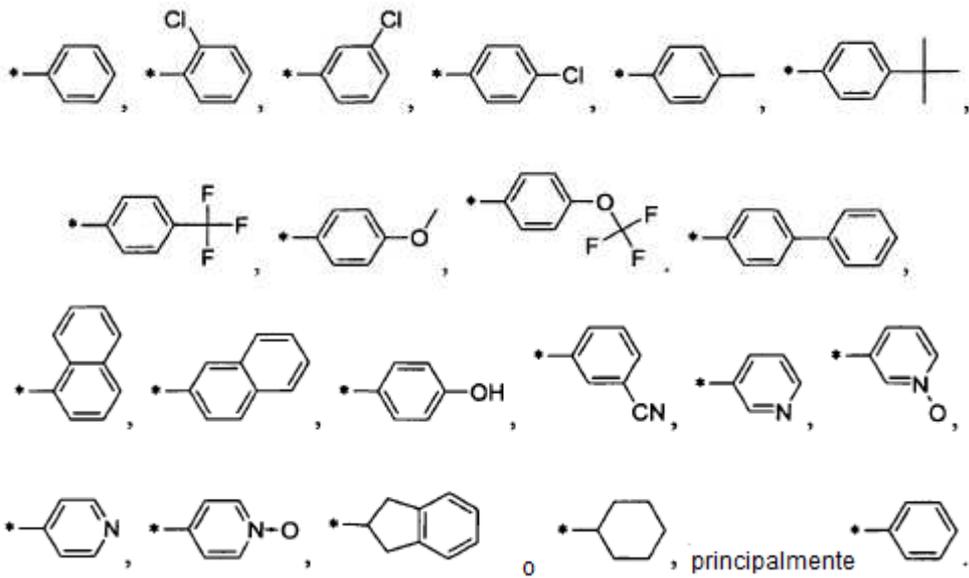


30 Ante todo ha demostrado ser particularmente adecuado un compuesto según la fórmula (I) donde i = 0 y sin R<sub>4</sub> con los siguientes residuos

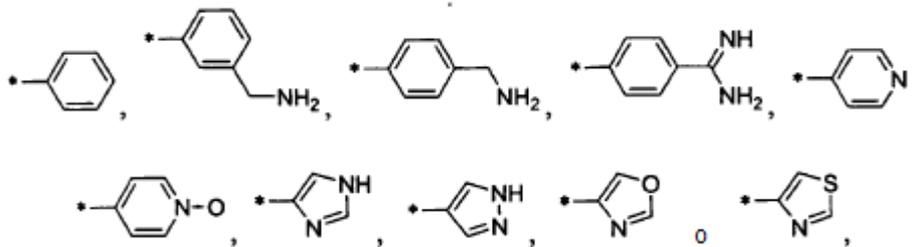
Compuesto No.	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	p	R <sub>3</sub>	o
3	3-COOH		3		1

Las sales de los compuestos de la invención se forman en general a partir de ácido clorhídrico, HBr, ácido acético, ácido trifluoroacético, ácido toluenosulfónico u otros ácidos adecuados.

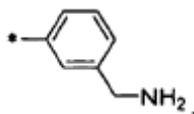
5 En especial son adecuados los compuestos en los que R<sub>2</sub> se selecciona de los siguientes residuos:



y/o en los cuales R<sub>3</sub> se selecciona de

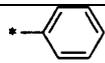
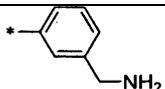
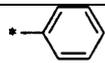
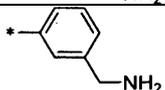
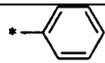
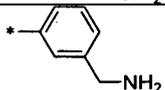
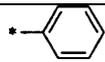
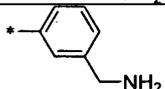
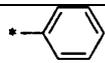
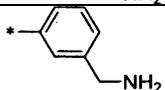
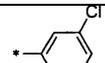
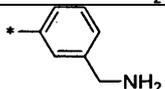
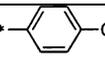
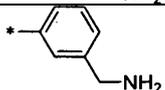
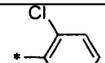
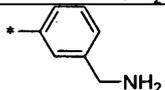
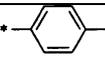
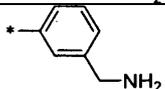
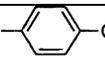
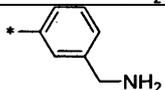
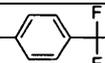
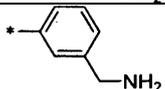
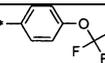
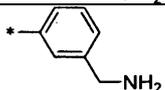
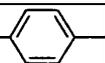
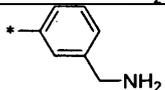
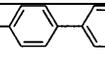
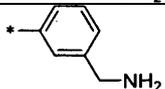
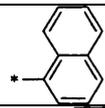
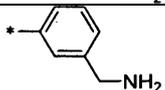
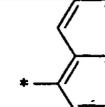
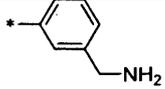
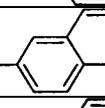
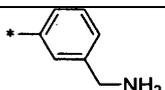
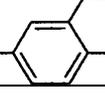
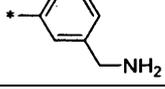


10 principalmente de

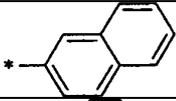
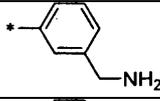
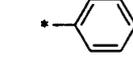
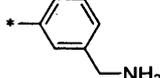
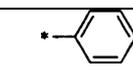
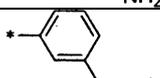
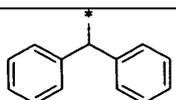
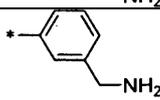
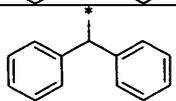
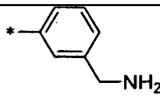
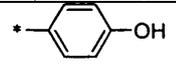
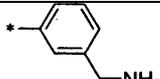
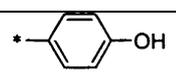
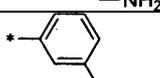
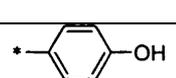
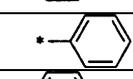
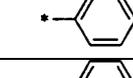
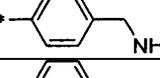
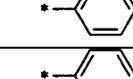
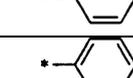
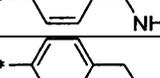
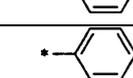
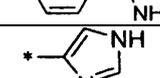
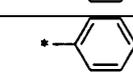
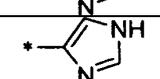
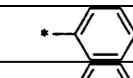
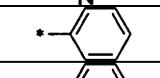
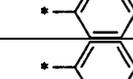
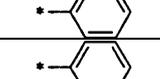
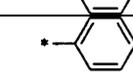
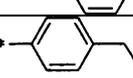
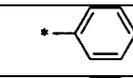
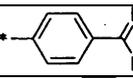
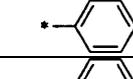
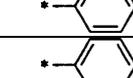
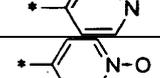
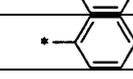
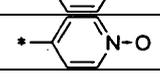
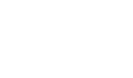
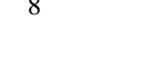


Ejemplos de compuestos de este tipo son compuestos de la fórmula (I), los cuales se definen al como sigue:

ES 2 439 244 T3

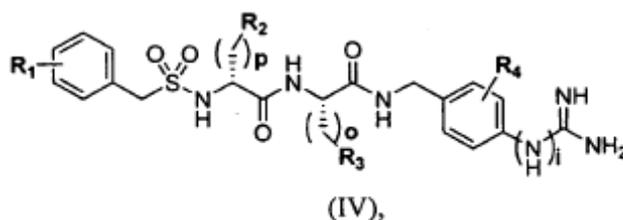
Compuesto No.	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	p	R <sub>3</sub>	o	i	R <sub>4</sub>
1	H		3		1	0	-
2	4-COOH		3		1	0	-
3	3-COOH		3		1	0	-
4	3-COOH		3		1	1	-
5	3-COOH		3		1	0	2-F
6	H		3		1	0	-
7	H		3		1	0	-
8	H		3		1	0	-
9	H		3		1	0	-
10	H		3		1	0	-
11	H		3		1	0	-
12	H		3		1	0	-
13	H		1		1	0	-
14	H		1		1	0	-
15	H		1		1	0	-
16	4-COOH		1		1	0	-
17	H		1		1	0	-
18	3-COOH		1		1	0	-

ES 2 439 244 T3

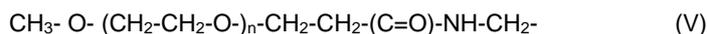
Compuesto No.	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	p	R <sub>3</sub>	o	i	R <sub>4</sub>
19	4-COOH		1		1	0	-
20	H		1		1	0	-
21	H		3		1	0	-
22	H		0		1	0	-
23	3-COOH		0		1	0	-
24	H		2		1	0	-
25	3-COOH		2		1	0	-
26	H		2		2	0	-
27	H		2		2	0	-
28	H		3		1	0	-
29	4-COOH		3		1	0	-
30	3-COOH		3		1	0	-
31	H		3		2	0	-
32	H		3		1	0	-
33	3-COOH		3		1	0	-
34	H		3		2	0	-
35	4-COOH		3		2	0	-
36	3-COOH		3		2	0	-
37	H		1		2	0	-
38	H		1		2	0	-
39	H		3		2	0	-
40	3-COOH		3		2	0	-
41	H		3		2	0	-
42	3-COOH		3		2	0	-

Compuesto No.	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	p	R <sub>3</sub>	o	i	R <sub>4</sub>
43	H		1		2	0	-
44	H		2		2	0	-
45	H		1		2	0	-
46	H		0		2	0	-
47	H		2		2	0	-
49	H		3		2	0	-
50	3-COOH		3		2	0	-
51	H		3		2	0	-
52	3-COOH		3		2	0	-
53	H		3		2	0	-
54	3-COOH		3		2	0	-
55	H		3		2	0	-
56	3-COOH		3		2	0	-

Se ha establecido que los compuestos de la fórmula general (IV)



- 5 la cual corresponde a la fórmula general (I) con R<sub>1</sub>, independientemente entre sí, opcionalmente presente una o más veces, igual a un residuo COOR<sub>5</sub>, donde R<sub>5</sub> es igual a hidrógeno o grupo alquilo inferior ramificado o lineal, con 1-6 átomos de carbono, preferentemente metilo o etilo, principalmente metilo, un residuo aminoalquilo ramificado o lineal que tiene 1-6 átomos de carbono, preferentemente metilo, un residuo halógeno o pseudohalógeno, preferentemente cloro o grupos ciano, un residuo de polietilenglicol de la fórmula (V) o (VI)

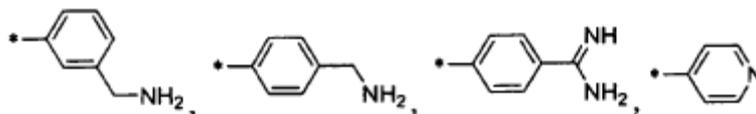


- 10  $\text{CH}_3\text{-O-(CH}_2\text{-CH}_2\text{-O)}_n\text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{-NH-(C=O)-CH}_2\text{-CH}_2\text{-(C=O)-NH-CH}_2\text{-} \quad (\text{VI})$

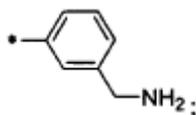
donde n se define de tal modo que la cadena de polietileno tenga un peso molecular promedio de 10000 Da, 5000 Da, 3400 Da, 2000 Da, 1000 Da o 750 Da, n es preferentemente un número entero de cerca de 18 hasta cerca de 250, principalmente cerca de 18, cerca de 25, cerca de 50, cerca de 85, cerca de 125 o cerca de 250;

- 15 R<sub>2</sub> significa un residuo alquilo ramificado o lineal con 1- 6 átomos de carbono, preferentemente butilo terciario, un residuo hidroxilo, un residuo amino o un residuo alquilocarbonilamido con 1-6 átomos de carbono, preferentemente butilo terciario o un residuo de polietilenglicol de la fórmula (V) o (VI) con n tal como se ha definido previamente;

R<sub>3</sub> se selecciona de los siguientes residuos:



Preferentemente



5 R<sub>4</sub> significa un residuo halógeno presente opcionalmente una o varias veces, preferentemente flúor,

o = 1 o 2;

p = 1, 2, 3 o 4, principalmente 1 o 4,

i = 0 o 1, principalmente 0;

10 así como sus mezclas racémicas y sales con ácidos orgánicos o inorgánicos, también son adecuados de acuerdo con la presente invención.

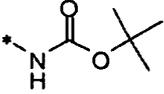
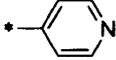
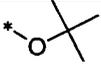
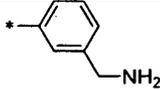
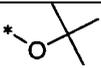
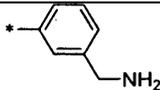
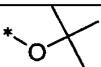
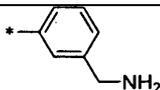
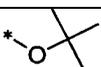
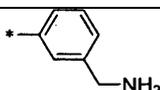
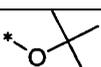
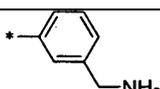
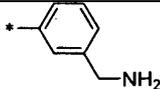
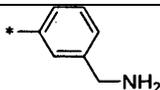
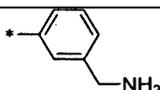
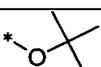
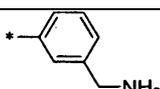
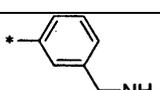
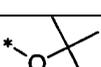
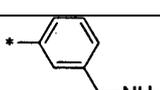
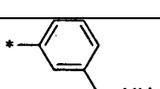
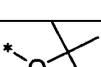
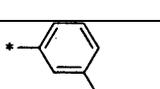
También en este caso se prefieren compuestos en los que R<sub>1</sub> está presente una vez en posición meta o para, R<sub>1</sub> es preferentemente hidrógeno o un residuo COOH, R<sub>1</sub> está presente principalmente una vez y se selecciona de hidrógeno, un grupo 4-COOH o un grupo 3-COOH.

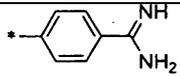
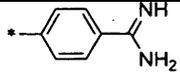
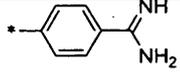
15 Las sales de estos compuestos se forman a su vez de ácido clorhídrico, HBr, ácido acético, ácido trifluoroacético, ácido toluenosulfónico o de otros ácidos adecuados.

Ejemplos de compuestos de este tipo son compuestos de la fórmula (IV) con i = 0 y sin residuo R<sub>4</sub>, los cuales se definen de la siguiente manera:

Compuesto No.	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	p	R <sub>3</sub>	o
57	H		4		1
58	4-COOH		4		1
59	H	*-NH <sub>2</sub>	4		1
60	H		1		1
61	H	*-NH <sub>2</sub>	1		1

ES 2 439 244 T3

Compuesto No.	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	p	R <sub>3</sub>	o
62	H		4		1
63	H		1		1
64	4-COOMe		1		1
65	4-COOH		1		1
66	3-COOMe		1		1
67	3-COOH		1		1
68	H	*-OH	1		1
69	4-COOMe	*-OH	1		1
70	4-COOH	*-OH	1		1
71	H		1		1
72	H	*-OH	1		1
73	H		1		2
74	H	*-OH	1		2
75	H		1		1

Compuesto No.	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	p	R <sub>3</sub>	o
76	H	*-OH	1		1
77	H		1		2
78	H	*-OH	1		2

5 Los compuestos de la fórmula general 1 pueden prepararse teóricamente en una forma conocida tal como se describe más adelante; por ejemplo, como sigue: en general, los aminoácidos correspondientes se acoplan en forma secuencial a una amidinobencilamina protegida en el grupo amidino. En este caso, el aminoácido N terminal ya porta el residuo P4, o este último se liga posteriormente a éste.

10 La nomenclatura de los constituyentes individuales PI, P2, P3 y P4 de los compuestos de la invención es evidente más adelante (véase también Schechter y Berger, 1967). Por ejemplo, a partir de la 4- cianobencilamina disponible comercialmente (Showa Denko K.K., Japón) se obtiene de acuerdo con métodos conocidos por el experto la amidinobencilamina protegida, preferentemente protegida con Boc, la cual está protegida en el grupo amidino, principalmente 4-acetiloxamidino-bencilamina. Después de la disociación del grupo protector se efectúa el acoplamiento de los otros aminoácidos y del residuo P4 por medio de métodos de acoplamiento estándar y grupos protectores, preferentemente con Boc como grupo protector N-terminal. El aminoácido P3 también puede acoplarse directamente como aminoácido protegido, preferentemente protegido con bencilulfonilo el cual se aporta el residuo R1. Los análogos de péptido se construyen secuencialmente comenzando por acetiloxamidinobencilamina. La mayoría de productos intermedios cristalizan bien y pueden purificarse fácilmente de este modo. La purificación final de los inhibidores se efectúa en la última etapa preferentemente mediante HPLC preparativa, de fase inversa.

20 Otro objeto de la invención es por lo tanto un proceso para producir un compuesto según la invención en cuyo caso los respectivos aminoácidos se acoplan en forma secuencial a una amidino- o guanidino-bencilamina protegida en el grupo amidino o guanidino, por ejemplo a una 4- acetiloxamidinobencilamina o a una 4- (cenciloxicarbonilamidino)bencilamina, en cuyo caso el aminoácido N-terminal ya porta el residuo P4, o este último se enlaza posteriormente al mismo. Después de la eventual purificación, los compuestos obtenidos pueden PEGilarse (PEG por polietilenglicol).

Un método ejemplar para producir los compuestos de la invención comprende las siguientes etapas:

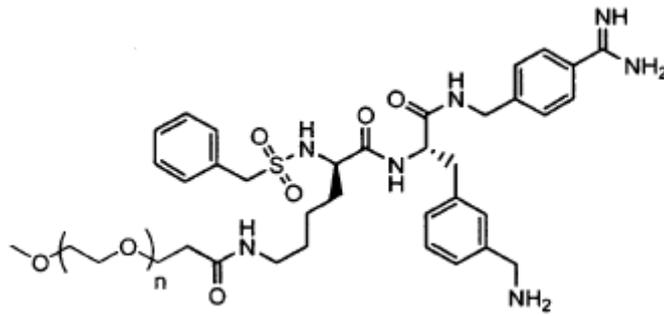
25 (a) amidación de un aminoácido N $\alpha$ -protegido correspondiente que tiene el residuo R<sub>3</sub> con una correspondiente aminometilbenzamidina o -guanidina protegida,

(b) después del desdoblamiento del grupo N $\alpha$ - protector del aminoácido con R<sub>3</sub>, reacción del producto obtenido con el aminoácido de bencilulfonilo correspondiente que tiene los residuos R<sub>1</sub> y R<sub>2</sub> y desdoblamiento de los grupos protectores restantes para obtener el compuesto de la invención, y después de una posible purificación

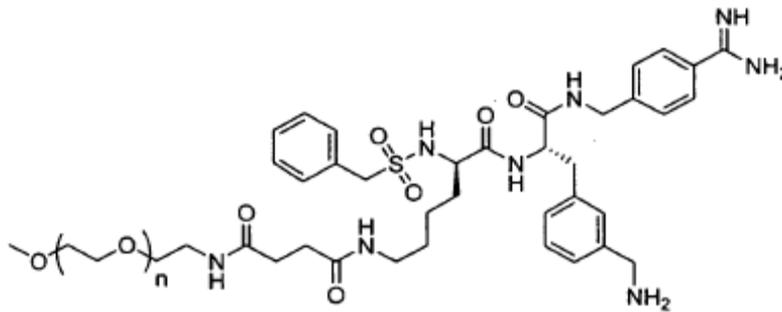
(c) opcionalmente se PEGila el compuesto obtenido.

30 Otros detalles del proceso que son generalmente conocidos por el experto en la materia, por ejemplo relacionados con los grupos protectores elegidos o la PEGilación, pueden deducirse de los ejemplos. Un grupo protector preferido del nitrógeno de amida es, por ejemplo ter-butiloxicarbonilo (Boc). Los compuestos de partida son, por ejemplo, derivados de aminoácidos o derivados de PEG. Las sustancias químicas generalmente pueden obtenerse en el comercio. La PEGilación, es decir, la derivación con polietilenglicol, generalmente se efectúa a través del aminoácido P3 o por el residuo bencilulfonilo P4 con derivados PEG activados, por ejemplo con PEG activado como éster de n-hidroxisuccinimida.

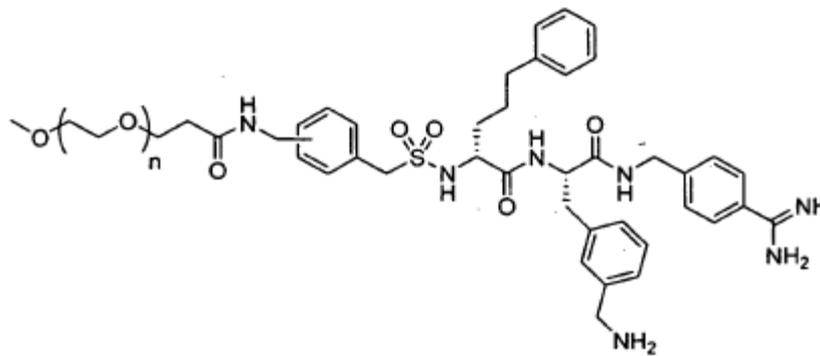
Una propiedad ventajosa de los compuestos acoplados a PEG es la prolongación de la vida media de los inhibidores en la circulación sanguínea. La siguiente estructura muestra un ejemplo en el cual la cadena PEG ha sido acoplada a través del aminoácido P3 (D-Lys).



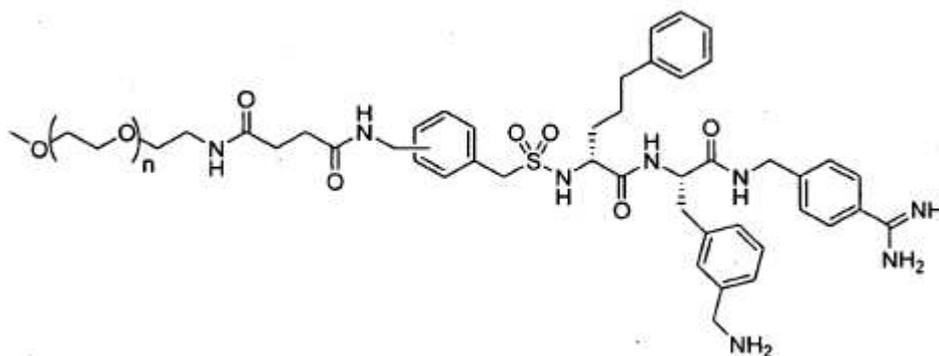
Usando un ligador succinilo se obtuvo el siguiente compuesto:



- 5 Adicionalmente se acopló la cadena de PEG a través de un residuo P4-bencilsulfonilo adecuado de conformidad con la fórmula general representada más adelante, en cuyo caso el residuo P4 ha sido modificado con un grupo aminometilo en posición para u orto.



Usando un ligador succinilo se obtuvo el siguiente compuesto:



5 Sin embargo, otros procesos de preparación que pueden llevarse a cabo en la misma forma también son conocidos por el experto en la materia. Los compuestos PEGilados son generalmente mezclas de compuestos con diferentes grados de PEGilación, y el peso molecular de los residuos PEG se encuentran usualmente en el rango de 750, 1,000, 2 000, 3 400, 5 000 ó 10 000 Da. Sin embargo, también pueden obtenerse en el comercio polietilenglicoles discretos, con peso molecular definido.

La presente invención también se extiende a un medicamento que contiene al menos uno de los compuestos de la invención, preferentemente para el tratamiento de pérdida de sangre, en particular en condiciones hiperfibrinolíticas, en trasplantes de órganos o procedimientos quirúrgicos cardíacos, en particular con derivación (bypass) cardiopulmonar.

10 La presente invención también incluye un adhesivo de fibrina que contiene al menos uno de los compuestos de la invención y en el cual la aprotinina es sustituida por un inhibidor apropiado de la presente invención.

Por adhesivos de fibrina generalmente se entiende un adhesivo bicomponente, fisiológico que contiene como primer componente fibrinógeno, factor XIII y aprotinina y al menos uno de los compuestos de la invención, y como segundo componente trombina y cloruro de calcio para activación del factor XIII.

15 La presente invención también se refiere al uso de al menos un compuesto de la invención para la fabricación de un medicamento de la invención o de un adhesivo de fibrina según la invención mediante procesos generalmente conocidos por el experto en la materia, por ejemplo mediante el mezclado con excipientes o aditivos apropiados.

Los siguientes ejemplos deben explicar la invención con mayor detalle sin restringirla.

### Ejemplos

20 1. Métodos analíticos

#### 1.1 HPLC analítica

25 Para la HPLC analítica de fase inversa se usó un equipo de HPLC LC-10A de la empresa Shimadzu, que se compone de los subsistemas horno de columnas CTO-10AS, bombas LC-10AD (2 x), desgasificador DGU-14A, autoinyector SIL-10AD, controlador de sistema SCL-10A, detector de UV-visible SPD-10A y una columna Luna 5 µm C18(2) 100 Å, 250 x 4,6 mm de la empresa Phenomenex, utilizando el software correspondiente Software Shimadzu CLASS-VP, versión 5.3. La detección se efectuó a 220 nm. Como eluyentes sirvieron agua con 0,1 % de TFA (A) y acetonitrilo con 0,1 % de TFA (B) a una tasa de flujo de 1 ml/min y un gradiente lineal (1 % B/min). Despendiendo del compuesto se usaron diferentes condiciones de inicio para la HPLC analítica que se indican para los correspondientes compuestos.

30 Para analizar todas las sustancias activas modificadas con polietilenglicol se usó una columna Jupiter 5 µm C18(2) 300 Å, 250 x 4,6 mm de la empresa Phenomenex.

#### 1.2 HPLC preparativa

35 Para la RP-HPLC preparativa se usó un equipo de HPLC de la empresa Shimadzu compuesto de los subsistemas bombas preparativas LC-8A (2 x), desgasificador DGU-14A, recolector de fracciones FRC-10A, controlador de sistema SCL-10A, detector de UV-visible SPD-10A y una columna Luna 5 µm C8(2) 100 Å, 250 x 30,0 mm de la empresa Phenomenex, utilizando el software correspondiente Shimadzu CLASS-VP, versión 5.3. La detección se efectuó a 220 nm. Como eluyentes sirvieron agua con 0,1 % TFA (A) y acetonitrilo con 0,1 % TFA (B) a una tasa de flujo de 10 o 20 ml/min y un gradiente adecuado.

#### 1.3 Espectroscopia de masas

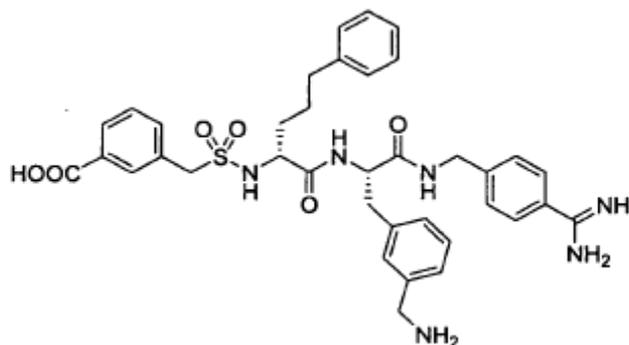
40 Los espectros de masa se midieron de modo estándar en un ESI-MS LCQ de la empresa Finnigan (Bremen, Alemania). Todos los compuestos acoplados a polietilenglicol se analizaron en un instrumento Maldi Ultraflex Tof/Tof de la empresa Bruker.

#### Abreviaturas usadas

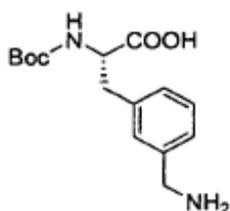
ACN Acetonitrilo

45 4- Amba 4- Amidinobencilamida

- Ame Aminometilo
- Boc ter.- Butiloxicarbonilo
- BSA albúmina de suero bovino
- Bzl Bencilo
- 5 Bzls Bencilsulfonilo
- DIEA Diisopropiletilamina
- DCM Diclorometano
- DMF N, N- Dimetilformamida
- HBTU Hexafluorofosfato de 2-(1H-benzotriazol-1-il)-1, 1, 3, 3- tetrametiluronio
- 10 HPLC Cromatografía líquida de alta eficacia
- MS Espectroscopia de masas
- ONHS Éster de N-Hidroxisuccinimida
- NMM N-Metilmorfolina
- PEG Polietilenglicol
- 15 Phe (3-Ame) 3-Aminometilfenilalanina
- Ppg Fenilpropilglicina
- RT Temperatura ambiente
- tBu ter.-Butilo
- Tfa Trifluoracetilo
- 20 TFA Ácido trifluoroacético
- TEA Trietilamina
- TMS-Cl Trimetilsililcloruro
- Me Metilo
- 2. Síntesis de los inhibidores
- 25 2.1 3-HOOC-Bzls-d-Ppg-Phe(3-Ame)-4-Amba x 2 acetato (3)



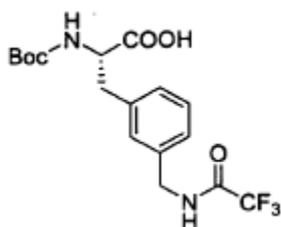
a) Boc- Phe (3- Ame)- OH x Acetato



5 5 g (17, 2 mmol) de Boc-Phe (3-CN)-OH (Acros Organics) se disolvieron en 700 ml de ácido acético al 90 % y se hidrogenaron por 3 horas bajo presión normal con hidrógeno y 800 mg de Pd/C de 10 % como catalizador a 40°C. El solvente se eliminó al vacío, el residuo se disolvió en una pequeña cantidad de metanol y se precipitó adicionando éter dietílico.

Rendimiento: 4, 1 g (HPLC: 16, 7 min, inicio a 10 % B)

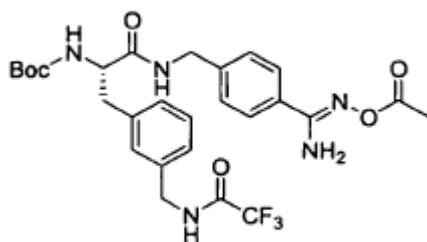
b) Boc-Phe (3-Tfa-Ame)- OH



10 4, 6 g (13 mmol) Boc-Phe (3- Ame)- OH x acetato se disolvieron en 30 ml de metanol y se mezclaron con 4 ml (29, 9 mmol) de DIEA y 2 ml (16, 78 mmol) de trifluoroacetato de etilo a temperatura ambiente. La mezcla se revolvió, después de aproximadamente 15 minutos la suspensión original se disolvió completamente. Después de una hora se eliminó el solvente al vacío y el residuo se disolvió en acetato y agua. La fase de acetato se lava 2x con solución al 5% de KHSO<sub>4</sub> y 3 x con solución saturada de NaCl y la fase orgánica se seca con Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. EL SOLVENTE se elimina al vacío

Rendimiento: 4, 9 g sólido amorfo (HPLC: 28, 13 min, inicio a 20 % B)

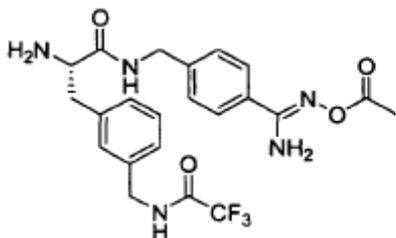
c) Boc-Phe (3-Tfa-Ame)-4-(acetilhidroxiamidino)- bencilamida



- 5, 43 g (13,9 mmol) de Boc-Phe (3-Tfa-Ame)-OH y 4,28 g (15,3 mmol) de 4-(acetilhidroxiamidino)-bencilamina (síntesis descrita en el suplemento a Schweinitz et al., 2004) se disolvieron en 50 ml de DMF y a 0 °C se mezclaron con 5,2 ml (30 mmol) de DIEA y 5,81 g (15,3 mmol) de HBTU. La mezcla se revolvió por 15 minutos a 0 °C y otras 3 h a RT. El solvente se elimina al vacío y el residuo se disolvió en acetato. La fase de acetato se lava 3 x con solución al 5 % de KHSO<sub>4</sub>, 1 x con solución saturada de NaCl, 3 x con solución saturada de NaHCO<sub>3</sub> y 2 x con solución saturada de NaCl. El producto precipitado entre las fases se filtra con succión y se seca al vacío

Rendimiento: 4,17 g de cristales blancos (HPLC: 28,08 min, inicio a 20 % B)

d) H-Phe (3-Tfa-Ame)-4-(acetilhidroxiamidino)-bencilamida x HCl

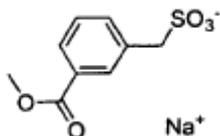


10

4,1 g de Boc-Phe (3-Tfa-Ame)-4-(acetilhidroxiamidino)-bencilamida se suspendieron en 60 ml de dioxano seco y se mezclaron con 11 ml de HCl de 4 N en dioxano. Después de breve tratamiento con ultrasonido la mezcla se agita 1 h a temperatura ambiente. Después de 1 h se precipita el producto adicionando éter dietílico, se filtra con succión y se seca al vacío.

15 Rendimiento: 3,8 g de sólido blanco (HPLC: 9,47 min, inicio a 20 % B)

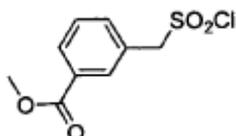
e) 3- MeOOC- Bzl- SO<sub>3</sub><sup>-</sup> x Na<sup>+</sup>



- 20 5 g (21,8 mmol) de 3-bromometilbenzoato de metilo (Acros Organics) se suspendieron en 25 ml de agua y se mezclaron con 2,94 g (23,8 mmol) de Na<sub>2</sub>SO<sub>3</sub>. La mezcla se calentó por 5 h bajo reflujo y después el solvente se eliminó parcialmente al vacío, hasta que se inició la cristalización. La mezcla se conservó por una noche a 4 °C y el producto se filtró.

Rendimiento: 3,7 g de cristales blancos (HPLC: 12,02 min, inicio a 10 % B)

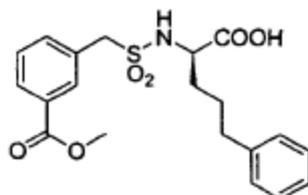
f) 3- MeOOC- Bzls- Cl



2, 5 g (9, 91 mmol) de 3- MeOOC- Bzl- SO<sub>3</sub><sup>-</sup> x Na<sup>+</sup> se humedecieron con cloruro de fósforo y se mezclaron con 2, 27 g (10,9 mmol) de PCl<sub>5</sub>. La mezcla se enfrió por cerca de 5 min a 0 °C y después se calentó por 4 h en el baño de aceite (temperatura del baño 80 °C).después de vertió la mezcla sobre hielo y se revolvió vigorosamente. Después de revolver cerca de 30 min comenzó a precipitarse el cloruro ácido, se filtra por succión y se seca al vacío.

5 Rendimiento: 1, 4 g de sólido blanco

g) 3- MeOOC- Bzls- d- Ppg- OH

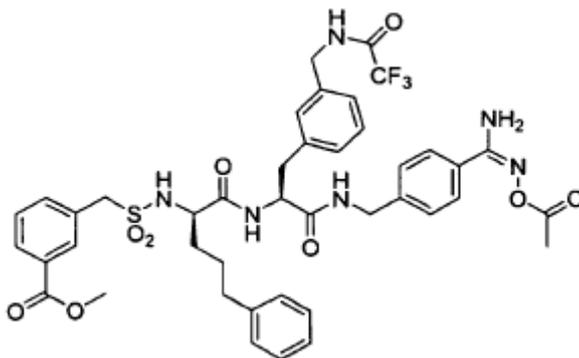


10 1, 3 g (6, 72 mmol) de H-d-Ppg-OH (Peptech, Burlington, MA) se suspendieron en 90 ml de DCM seco y se mezclaron con 2 ml (15, 7mol) de TMS- Cl y 2, 6 ml (15 mmol) de DIEA. La mezcla se calentó por 1 h bajo reflujo, la solución transparente se enfrió a 0 °C y se mezcló con 2 g (8 mmol) de 3- MeOOC- Bzls-Cl y 2, 6 ml de DIEA. La mezcla se revolvió por 15 min a 0 °C y por 1,5 h a RT. El solvente se eliminó al vacío y el residuo se disolvió en 700 ml de solución semisaturada de NaHCO<sub>3</sub>. La mezcla se extrajo 2x con poco acetato y después la fase acuosa se acidificó con HCl (pH cerca de 2- 3). La mezcla se extrajo 3 x con 150 ml de acetato y la fase unida de acetato se lava 2 x con solución al 5 % de KHSO<sub>4</sub> y 1 x con solución saturada de NaCl. La fase orgánica se seca con Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> y se elimina el solvente al vacío

15

Rendimiento: 2, 4 g de aceite (HPLC: 33, 53 min, inicio a 20 % B)

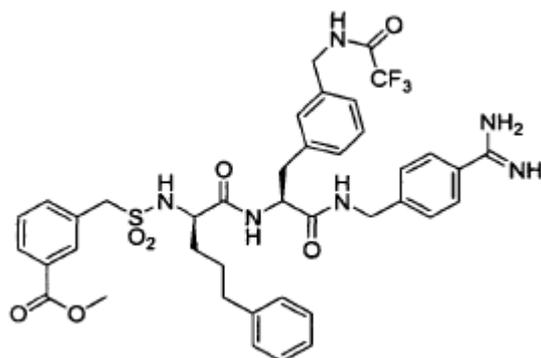
h) 3-MeOOC-Bzls-d-Ppg-Phe (3-Tfa-Ame)-4- (acetilhidroxiamidino)-bencilamida



20 0, 605g (1, 5 mmol) de 3-MeOOC-Bzls-d-Ppg-OH y 0,85g (1,65mmol) de H-Phe (3-Tfa-Ame)-4- (acetilhidroxiamidino)-bencilamida x HCl se disolvieron en 40 ml de DMF seco y se mezclaron a 0 °C con 0, 63g (1, 65 mmol) de HBTU y 0, 6 ml (0, 34 mmol) de DIEA. La mezcla se revuelve por 15 min a 0 °C y otras 3 h a RT. El solvente se elimina al vacío y el residuo se disuelve en acetato. La fase de acetato se lava 3 x con solución al 5 % de KHSO<sub>4</sub>, 1x con solución saturada de NaCl, 3 x con solución saturada de NaHCO<sub>3</sub> y 2 x con solución saturada de NaCl. El solvente se elimina al vacío

25 Rendimiento: 1,36 g de aceite (HPLC: 38,40 min, inicio a 20 % B)

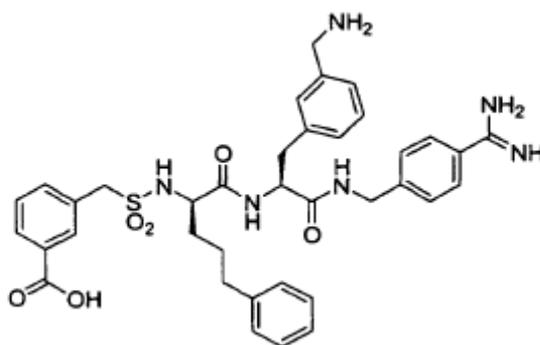
i) 3-MeOOC-Bzls-d-Ppg-Phe (3-Tfa-Ame)-4- amidinobencilamida x acetato



1, 3 g de 3- MeOOC-Bzls-d- Ppg-Phe (3-Tfa-Ame)-4- (acetilhidroxiamidino)-bencilamida se disuelven en 100 ml de ácido acético al 90 % y se hidrogena por una noche a presión normal con hidrógeno y 150 mg de Pd/C al 10 % como catalizador. El catalizador se filtra y el filtrado se concentra al vacío.

5 Rendimiento: 1, 2 g de aceite (HPLC: 29,45 min, inicio a 20 % B)

2.2 3-HOOC-Bzls-d-Ppg-Phe(3-Ame)-4-amidinobencilamida x 2 acetato (3)



10 1, 2 g de 3-MeOOC-Bzls-d-Ppg-Phe (3-Tfa- Ame)-4-amidinobencilamida x acetato se revolviéron en una mezcla de 10 ml de dioxano y 10 ml de LiOH de 1 N por 1, 5 h. A continuación se neutralizó la mezcla adicionando TFA y el producto se purificó por medio de HPLC preparativa de fase inversa. Las fracciones que contienen producto se unieron y liofilizaron.

Rendimiento: 0,4 g como sal de TFA (HPLC: 24,16 min, inicio a 10 % B)

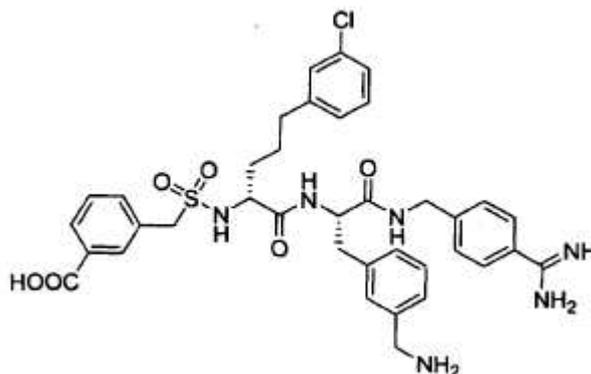
MS: calculado: 698,29, encontrado: 699,3 (M+H)<sup>+</sup>

15 El producto se transfirió a la sal de acetato por medio de HPLC preparativa por elución mediante un gradiente creciente de acetonitrilo que contiene 0,1 % de ácido acético.

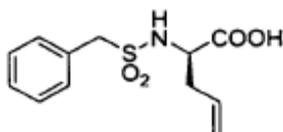
Rendimiento: 0,32 g

20 De conformidad con la descripción de síntesis de arriba se sintetizaron otros inhibidores, en cuyo caso los residuos de bencilsulfonilo sustituidos de manera diversa o no sustituidos y diversos P3-aminoácidos se incorporan como reemplazo para d-fenilpropilglicina. Otros análogos de la d-fenilpropilglicina fueron sintetizados por medio del acoplamiento de Heck y se incorporaron en posición P3 de los inhibidores. La síntesis puede realizarse tal como sigue, por ejemplo:

2.3 Bzls-d-Gli(3-Cl-Phpr)-Phe(3-Ame)-4-Amba x 2 TFA (6)



a) Bzls-d-Gli (Alil)-OH

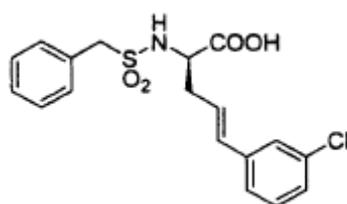


5 1,0 g (8,68 mmol) de D-alilglicina (Peptech, Burlington, MA) fueron suspendidos en 50 ml de DCM seco y se mezclaron con 2,4 ml (19 mmol) de TMS-Cl y 3,3 ml (19 mmol) de DIEA. La mezcla se calentó por 1 h bajo reflujo, la solución transparente se enfrió a 0 °C y se mezcló con 2,35 g (9,55 mmol) de Bzls-Cl y 1,8 ml de DIEA. La mezcla se revolvió por 15 min a 0 °C y por 1,5 h a RT. El solvente se eliminó al vacío y el residuo se disolvió en 700 ml de solución semisaturada de NaHCO<sub>3</sub>. La mezcla se extrajo 2 x con acetato y después se acidificó la fase acuosa con HCl (pH cerca de 2-3). La mezcla se extrajo 3 x con 150 ml de acetato y la fase unida de acetato se lavó 2 x con solución al 5 % de KHSO<sub>4</sub> y 1 x con solución saturada de NaCl. La fase orgánica se secó con Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> y el solvente se eliminó al vacío.

Rendimiento: 2,2 g de aceite (HPLC: 21,1 min, inicio a 20 % B)

MS (ESI, m/e) : 267 [M-1]-

b) Bzls-d-Ala(3-Cl-estiril)-OH



15 Una suspensión de 0,476 g (1,48 mmol) de bromuro de tetra-n-butilamonio, 0,34 g (4,05 mmol) de NaHCO<sub>3</sub>, 0,32 g (1,34 mmol) de 1-Cl-3-yodobenceno y 9 mg (0,04 mmol) de acetato de paladio (II) en una mezcla de 2,5 ml de DMF y 2,5 ml de agua se revuelve por 10 min a RT. A esta suspensión se adiciona una solución de 0,4 g (1,48 mmol) de Bzlsd-Gli(Alil)-OH en 2,5 ml de DMF y 2,5 ml de agua y la mezcla 4-6 días se calienta a 45-50°C, opcionalmente se suplementan de modo repetido cantidades pequeñas de catalizador. El catalizador se filtra, el solvente se elimina en vacío y el residuo se suspende en 50 ml de solución al 5% de KHSO<sub>4</sub>. La mezcla se extrae 3 x con 15-20 ml de acetato de etilo cada vez, y la fase combinada de acetato de etilo se lava 2 x con solución al 5% de KHSO<sub>4</sub> y 1 x con solución saturada de NaCl. La fase orgánica se seca con Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> y el solvente se elimina al vacío. El residuo (0,55 g de aceite oscuro) se purifica por cromatografía instantánea sobre gel de sílice 60 (40-63 μM) (gradiente 0-20% metanol en DCM).

Rendimiento: 0,23 g (HPLC: 39,7 min, Inicio a 20 % B)

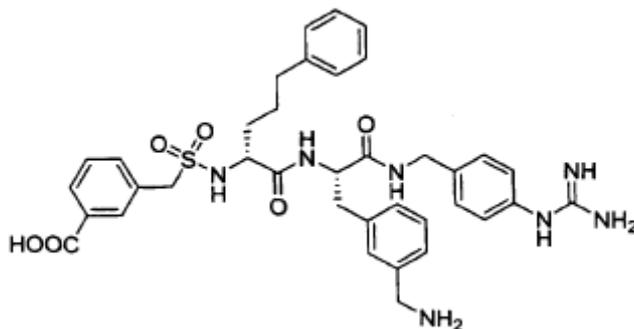
La otra estructuración del inhibidor se efectuó de modo análogo a la síntesis descrita para el inhibidor 1. El producto intermedio 2.2.b fue acoplado al producto intermedio 2d (H-Phe(3-Tfa-Ame)-4-(acetilhiroxiamidino)encilamida x HCl) de modo análogo al método 2h. El producto intermedio resultante fue hidrogenado de modo análogo al método

2i, pero en este caso no se observó disociación del átomo Cl del aminoácido P3. En el último paso, la disociación del grupo protector trifluoroacetilo por medio de LiOH en dioxano de modo análogo al paso final de la síntesis en la preparación del compuesto 3.

HPLC: 29,04 min, inicio a 10 % B

5 MS: calculado: 688,26 encontrado: 689,2 (M+H)<sup>+</sup>

2.4 3-HOOC-BzIs-d-Ppg-Fe(3-Ame)-4-guanidinobencilamida x 2 acetato (4)



De manera análoga a la descripción de síntesis 2.2a-i de arriba también se sintetizó el compuesto 4, en cuyo caso en lugar de la 4- (acetilhidroxiamidino)-bencilamida se usó p-nitrobencilamina para la etapa c). La reducción del residuo de nitrobencilamina en p-aminobencilamina se efectuó de manera análoga a la etapa 2.2i con metanol/THF (1: 1) como solvente. La guanilación del residuo de p-aminobencilamina se efectuó con 1, 3-di-Boc-2- (trifluorometilsulfonil)guanidina disponible comercialmente (Fluka) como reactivo de guanilación. Para esto, el producto intermedio de la reacción se disolvió en dioxano y se revolvió con el reactivo de guanilación y TEA a 50 °C por un día. Después de sacar el solvente los grupos protectores Boc se disociaron de manera conocida con TFA. Después de sacar el solvente en la última etapa se efectuó la disociación del grupo protector trifluoroacetilo y del éster metílico mediante LiOH en dioxano de modo análogo a la etapa final de síntesis en la producción del compuesto 3.

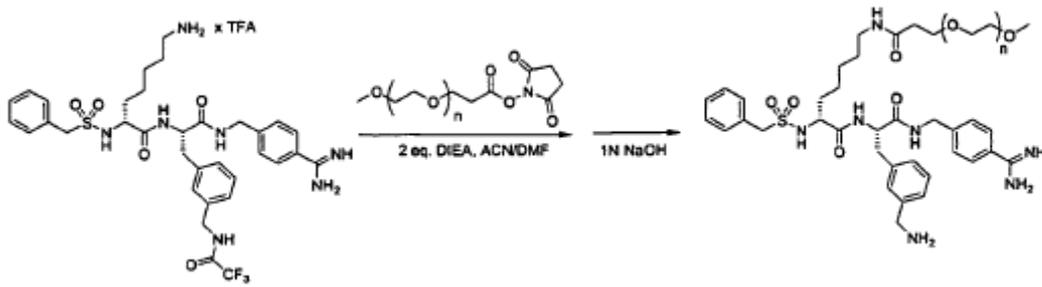
HPLC: 25,1 min, inicio a 10 % B

MS: calculado: 713,3, encontrado: 714,4 (M+H)<sup>+</sup>

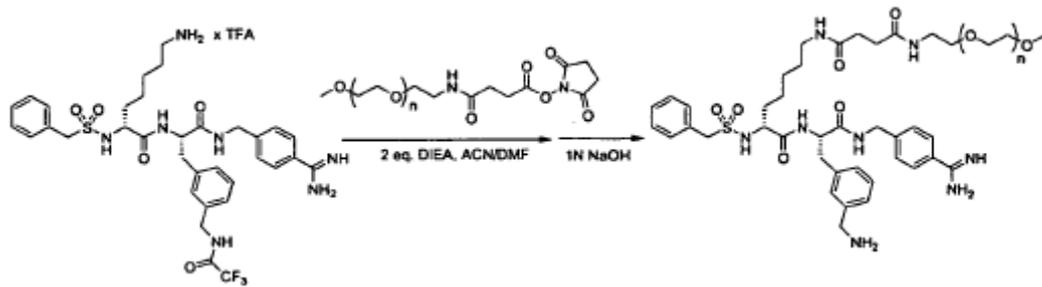
## 20 2.5 Compuestos PEGilados

Por medio de métodos estándar se sintetizaron otros inhibidores a los que se acoplaron de modo covalente cadenas de polietilenglicol (PEG) de diferente longitud de cadena. Para todas las síntesis se usaron derivados de PEG disponibles comercialmente de las empresas Fluka, Nektar Therapeutics o Rapp Polymere con diversos pesos moleculares promedio (1000 Da, 2000 Da, 5000 Da, 10000 Da). En un extremo, los derivados usados de PEG están protegidos como éster metílico y, en el otro extremo, modificados con un residuo de ácido propiónico o succínico activado como éster de N-hidroxisuccinimida. De esta manera, estos derivados de PGE activados pudieron reaccionar con un grupo amino libre del inhibidor (véanse esquemas de síntesis 1 a 5). En la última etapa los grupos protectores de TFA se disociaron con solución de NaOH de 1 N y los productos se purificaron mediante cromatografía de intercambio iónico en Fractogel® CE (Merk KGaA, Darmstadt) por medio de un gradiente de acetato de amonio y se liofilizaron 3 x a partir de agua. Lo siguientes ejemplos dieron lugar a inhibidores con una cadena de PEG de una masa promedio de cerca de 1000, 2000, 5000 o 10000 Da.

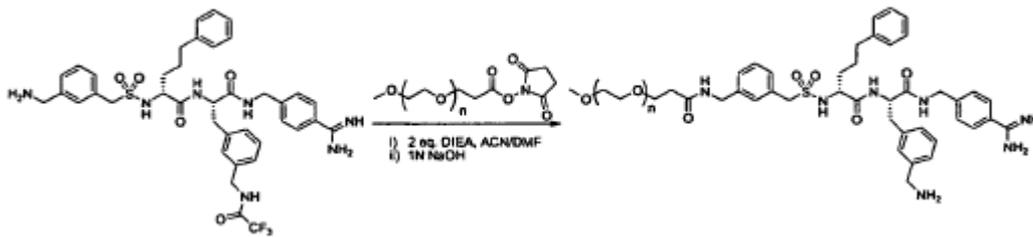
Esquema 1:



Esquema 2:

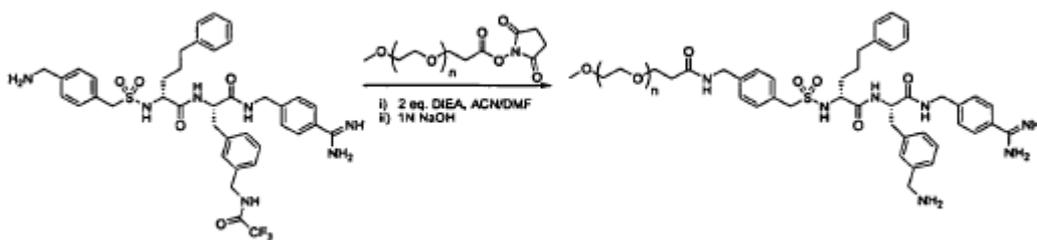


Esquema 3:

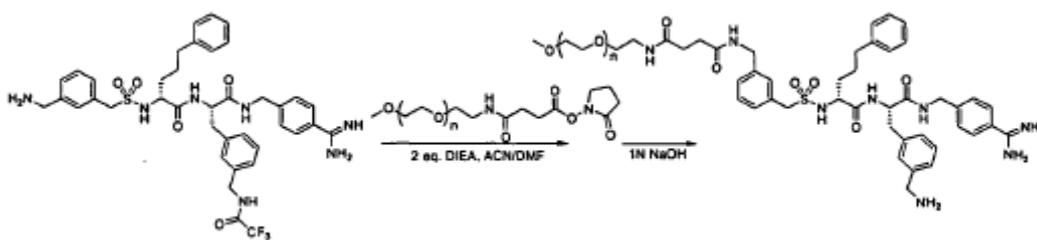


5

Esquema 4:



Esquema 5:



## ES 2 439 244 T3

Los compuestos sintetizados según los ejemplos están resumidos, incluidas sus constantes de inhibición, en la tabla siguiente.

### 3. Determinación de las constantes de inhibición para plasmina y PK (valores $K_i$ en nM)

5 El efecto inhibitorio para las enzimas individuales se determinó de manera análoga a un método previamente descrito (Stürzebecher et al., 1997).

Las reacciones para determinar la inhibición de plasmina humana y calicreína plasmática humana se llevaron a cabo en la siguiente mezcla a 25°C:

- 200  $\mu$ l de TBS (trishidroximetilaminometano 0,05 M; NaCl 0,154 M, 2 % etanol, pH 8,0; contiene el inhibidor)

10 - 25  $\mu$ l de sustrato (Tosyl-Gly-Pro-Lys-pNA 2 mM, 1 mM y 0, 67 mM = Chromozym PL de LOXO para plasmina, y H-D-Pro-Phe-Arg-pNA 2 mM, 1 mM y 0, 5 mM = S2302 de Chromogenix para PK, disueltos en H<sub>2</sub>O)

- 50  $\mu$ l de solución de enzima (Plasmina de Calbiochem: 2-5 mU/ml en NaCl 0,154 M + 0, 1 % BSA m/v + 25% v/v glicerol; calicreína plasmática de Enzyme Research Lab.: 20-60 ng/ml en NaCl 0,154 M + 0,1 % BSA m/v)

15 Para cinética de orden cero, la reacción fue interrumpida después de 20 minutos adicionando 25  $\mu$ L de ácido acético (50% v/v), y la absorción a 405 nm se determinó utilizando un lector de microplacas (Multiscan Ascent, de Thermo). En el caso de cinética de pseudoprimer orden, las velocidades de reacción en el estado de equilibrio fueron investigadas registrando la cinética de la reacción. Los valores  $K_i$  fueron investigados de acuerdo con Dixon (1953) por regresión lineal utilizando un programa de cómputo o por ajuste de parámetros de acuerdo con la ecuación de velocidad para la inhibición competitiva. Los valores de  $K_i$  son el promedio de las últimas dos determinaciones.

Tabla

20 Valores  $K_i$ : A significa <10 nM, B significa <100 nM, C significa <1000 nM y D significa >1000 nM

#### 1. Grupo

No.	Masa (encontrada/calculada)	HPLC %AN	Plasmina [K <sub>i</sub> ]	PK [K <sub>i</sub> ]	Xa [K <sub>i</sub> ]	Trombina [K <sub>i</sub> ]
1	655,3/654,3	37,4	A	A	B	C
2	699,5/698,3	33,6	A	A	B	C
3	699,3/698,3	34,1	A	A	B	D
4	714,4/713,3	35,1	B	A	D	D
5	717,3/716,3	34,9	A	A	B	D
6	689,2/688,3	39,8	A	A	B	C
7	689,3/688,26	41,9	A	A	A	B
8	689,3/688,26	39,0	A	A	B	B
9	669,3/668,3	39,3	A	A	B	C
10	685,6/684,3	37,2	A	A	B	C
11	723,2/722,3	41,6	A	A	A	C
12	739,4/738,3	44,4	A	A	B	C
13	683,3/682,3	41,9	B	A	B	C
14	703,3/702,3	40,7	A	A	B	C
15	677,3/676,3	37,4	A	A	B	B
16	721,2/720,3	34,3	A	A	C	C
17	677,3/676,3	37,7	A	A	B	C
18	721,1/720,3	35,6	A	A	B	D
19	721,2/720,3	34,6	A	A	C	C
20	633,8/632,3	36,1	A	A	B	C
21	661,4/660,3	41,5	A	A	B	C
22	703,4/702,3	38,4	A	A	B	A
23	747,3/746,3	36,3	A	A	B	B
24	657,3/656,3	29,1	A	A	A	C
25	747,3/746,3	36,3	A	A	B	D
26	671,4/670,3	30,7	A	A	A	C
27	642,3/641,3	42,4	A	A	A	C
28	655,4/654,3	37,0	A	A	C	C
29	699,4/698,3	31,8	A	A	C	C

ES 2 439 244 T3

No.	Masa (encontrada/calculada)	HPLC %AN	Plasmina [Kj]	PK [Kj]	Xa [Kj]	Trombina [Kj]
30	699,4/698,3	34,2	A	A	C	D
31	669,4/668,3	36,9	A	B	C	B
32	616,2/615,3	35,3	A	B	C	B
33	660,3/659,3	31,9	A	B	C	D
34	640,4/639,3	52,7	A	A	C	B
35	684,3/683,3	48,6	A	A	C	C
36	684,3/683,3	49,8	A	A	B	C
37	647,9/646,3	39,3	B	B	B	B
38	660,6/659,4	39,3	A	B	B	A
39	641,5/640,3	36,1	A	A	B	A
40	685,5/684,3	32,2	A	A	C	B
41	657,5/656,3	40,0	A	A	C	B
42	701,5/700,3	35,4	B	A	D	C
43	619,2/618,3	35,1	A	B	B	A
44	627,2/626,3	33,7	B	B	B	B
45	638,8/637,3	30,6	A	A	C	B
46	638,7/638,2	34,0	A	A	C	B
47	643,3/642,3	28,0	A	A	A	A
49	641,4/640,3	33,7	A	A	B	B
50	685,3/684,3	31,5	A	A	B	C
51	641,3/640,3	33,9	A	A	A	A
52	685,2/684,3	31,5	A	A	A	B
53	657,3/656,3	36,7	A	A	A	B
54	701,4/700,3	34,4	A	A	B	D
55	657,4/656,3	37,1	A	A	A	B
56	701,5/700,3	34,9	A	A	A	C

2. Grupo:

#	MS (encontrado/calculado)	HPLC %AN	Plasmina	PK	Xa	Trombina
57	708,6/707,38	36,5	A	A	B	D
58	752,4/751,4	31,9	B	A	C	D
59	608,4/607,3	41,0	B	A	C	D
60	666,8/665,3	34,4	B	A	C	D
61	566,5/565,3	21,5	B	A	D	D
62	694,9/693,4	34,6	A	A	C	C
63	623,6/622,3	34,8	A	A	C	C
64	681,7/680,3	34,7	A	A	D	D
65	667,7/666,3	30,1	B	A	C	D
66	681,3/680,8	34,4	A	A	B	D
67	667,5/666,8	30,1	A	A	B	D
68	567,8/566,3	25,4	B	A	D	D
69	625,6/624,3	26,1	B	A	D	D
70	611,9/610,3	21,0-	B	A	D	D
71	623,7/622,3	33,9	A	A	D	C
72	567,7/566,3	24,6	B	B	D	D
73	637,6/636,3	35,1	B	B	C	B
74	581,5/580,3	25,2	B	B	D	D
75	636,5/635,3	33,2	B	B	C	C
76	580,6/579,3	23,1	B	B	D	D
77	650,6/649,3	35,0	A	A	C	B
78	594,6/593,3	25,1	B	A	D	D

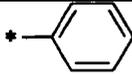
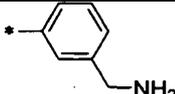
Compuestos PEGilados:

No.	Masa (encontrada/calculada)	HPLC %AN	Plasmina [Ki]	PK [Ki]	Xa [Ki]	Trombina [Ki]
79a	~1000 Da	34,9	A	A	C	D
79b	~2000 Da	39,4	A	-	-	-
79c	~5000 Da	43,6	A	A	B	D

No.	Masa (encontrada/calculada)	HPLC %AN	Plasmina [K <sub>i</sub> ]	PK [K <sub>i</sub> ]	Xa [K <sub>i</sub> ]	Trombina [K <sub>i</sub> ]
79d	~10000 Da	45,4	A	A	C	D
80	~10000 Da	45,8	A	A	B	D
81	~10000 Da	46,4	A	A	C	C
82	~10000 Da	46,0	A	A	C	C
83	~10000 Da	45,2	A	A	C	C

Resultados:

- El valor K<sub>i</sub> de la inhibición de plasmina fue en general <100 nM. Principalmente en compuestos con estructuras cíclicas en R<sub>2</sub> y R<sub>3</sub>, el valor K<sub>i</sub> es ostensiblemente menor a 100 nM y en compuestos con un ciclo de carbono aromático está en R<sub>2</sub> y R<sub>3</sub> por debajo de cerca de 10 nM. De manera sorprendente existe una cantidad particularmente grande de compuestos de la invención con un valor K<sub>i</sub> por debajo de 5 nM, por ejemplo, los compuestos Nos. 1-11, 13, 14, 16-18, 20-33, 35, 38, 39, 46 y 49-56.
- El valor K<sub>i</sub> de la inhibición de la calicreína plasmática también fue en general <100 nM. Principalmente en compuestos con un ciclo aromático de carbono en R<sub>2</sub> y R<sub>3</sub> el valor K<sub>i</sub> fue ostensiblemente menor a 100 nM. De manera sorprendente existen particularmente muchos compuestos de acuerdo con la invención que tienen un valor K<sub>i</sub> por debajo de 1 nM, por ejemplo los compuestos Nos. 1-3, 5-6, 8-25, 27, 29, 34-36, 39, 40, 49-57, 59-61, 64, 65 y 68-70.
- Incorporando homotirosina o piridina y los N-óxidos correspondientes como heterociclos en P3 pudo reducirse ostensiblemente la selectividad frente a FXa.
- En general fue posible lograr una clara disminución de la inhibición de trombina cuando R<sub>1</sub> representa un grupo 3-COOH. Una disminución más de la inhibición de trombina pudo lograrse cuando R<sub>4</sub> representa un átomo de flúor, principalmente en posición orto.
- Como compuesto particularmente adecuado se ha mostrado el compuesto según la fórmula (I) con i = 0 y sin R<sub>4</sub> con los siguientes residuos:

Compuesto No.	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	p	R <sub>3</sub>	o
3	3-COOH		3		1

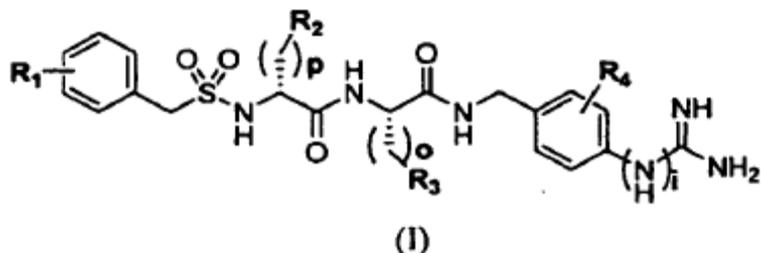
Citas bibliográficas

- Asghar et al., Biochim Biophys Acta, 438, 250- 264, 1976
- Collen et al., J. Lab. Clin. Med., 99, 76-83, 1982
- Dixon et al., Biochem. J., 55, 170-171, 1953
- Gustafsson et al., Thromb. Res., 79, 110-118, 1998
- Mangano et al., New Engl. J. Med., 354, 353-365, 2006
- Muramatu y Fuji, Biochim. Biophys. Acta, 242, 203-208, 1971
- Muramatu y Fuji, Biochim. Biophys. Acta, 268, 221-224, 1972
- Muramatu et al., Hoppe-Seiler's Z. Physiol. Chem., 363, 203-211, 1982
- Ohno et al., Thromb. Res., 19, 579-588, 1980
- Okada et al., Chem. Pharm. Bull., 48, 1964-1972, 2000

- Okada et al., *Biopolymers*, 51, 41-50, 1999
- Okada et al., *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 10, 2217-2221, 2000
- Okamoto et al., *Thromb. Res., Suppl. VIII*, 131-141, 1988
- Sanders y Seto, *J. Med. Chem.*, 42, 2969-2976, 1999
- 5 Satoh et al., *Chem. Pharm. Bull.*, 33, 647-654, 1985
- Schechter y Berger, *Biochem Biophys Res Comm*, 27, 157-162, 1967
- Schmaier, A.H., *Journal of Clinical Investigation*, 109, 1007-1009, 2002
- Schweinitz et al., *J. Biol. Chem.*, 279, 33613-33622, 2004
- Sodha et al., *Expert Rev. Cardiovasc. Ther.*, 4, 151-160, 2006
- 10 Stürzebecher et al., *J. Med. Chem.*, 40, 3091-3099, 1997
- Tada et al., *Biol. Pharm. Bull*, 24, 520-524, 2001
- Teno et al., *Chem. Pharm. Bull.*, 39, 2930-2936, 1991
- Tsuda et al., *Chem. Pharm. Bull.*, 49, 1457-1463, 2001
- Xue y Seto, *J. Med. Chem.*, 48, 6908-6917, 2005
- 15 US 5,602,253
- US 6,472,393
- US 2006/0148901

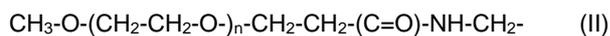
REIVINDICACIONES

1. Compuestos de la fórmula general (I)



con

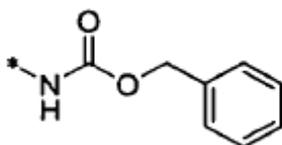
- 5  $R_1$  opcionalmente presente una vez o más veces e independientemente entre sí, representa un residuo  $COOR_5$ , con  $R_5$  igual a hidrógeno o a un grupo de alquilo inferior, ramificado o lineal, con 1-6 átomos de carbono, un residuo aminoalquilo ramificado o lineal con 1-6 átomos de carbono, un residuo de halógeno o pseudohalógeno, o un residuo de polietilenglicol de la fórmula (II) o (III)



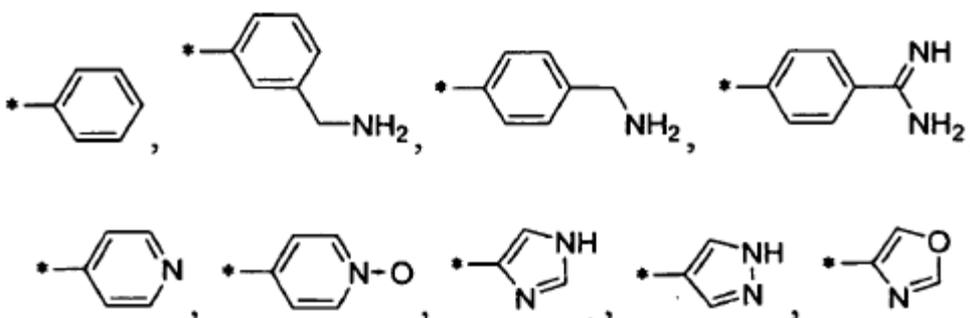
- 10  $CH_3-O-(CH_2-CH_2-O)_n-CH_2-CH_2-NH-(C=O)-CH_2-CH_2-(C=O)-NH-CH_2- \quad (III)$

Con n definido de tal manera que los residuos de polietilenglicol tienen un peso molecular promedio de 10000 Da, 5000 Da, 3400 Da, 2000 Da, 1000 Da o 750 Da;

- 15  $R_2$  representa un ciclo o biciclo no sustituido o sustituido, aromático o no aromático, con 5-13 átomos de carbono o heterociclo aromático con 4-5 átomos de carbono y un átomo de nitrógeno, óxido de nitrógeno, átomo de oxígeno o átomo de azufre, donde la sustitución es un residuo de halógeno, un residuo alquilo ramificado o lineal, sustituido opcionalmente con flúor, con 1-6 átomos de carbono, un residuo alquilo ramificado lineal, opcionalmente sustituido con flúor, con 1-6 átomos de carbono, un residuo hidroxilo o un residuo ciano; o un residuo de la estructura:

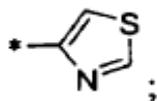


$R_3$  se selecciona de



20

o



R<sub>4</sub> representa opcionalmente un residuo de halógeno presente una o varias veces;

o = 1 o 2;

p = 0, 1, 2, 3 o 4; y

5 i = 0 o 1;

así como sus mezclas racémicas y sales con ácidos orgánicos o inorgánicos.

10 2. Compuestos según la reivindicación 1, caracterizados porque en R<sub>1</sub> el residuo de alquilo inferior es metilo o etilo, preferentemente metilo, el residuo de aminoalquilo es metilo, y el residuo halógeno o pseudohalógeno es cloro o un grupo ciano; y n es un número entero de cerca de 25 a cerca de 250, preferentemente cerca de 18, cerca de 25, cerca de 50, cerca de 85, cerca de 125 o cerca de 250;

En R<sub>2</sub> el heterociclo aromático contiene un átomo de nitrógeno u óxido de nitrógeno;

En R<sub>4</sub> el residuo halógeno es flúor;

o = 1;

p = 3; y

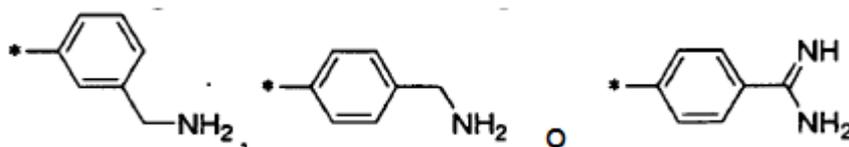
15 i = 0.

3. Compuestos según la reivindicación 1 o 2, caracterizados porque R<sub>1</sub> está presente una vez y en posición meta o para, preferentemente R<sub>1</sub> es un residuo COOH, principalmente R<sub>1</sub> está presente una vez y se selecciona de hidrógeno, de un grupo 4-COOH o principalmente de un grupo 3-COOH.

20 4. Compuestos según una de las reivindicaciones 1-3, caracterizados porque R<sub>2</sub> es un ciclo o biciclo aromático con 6-13 átomos de carbono o heterociclo con 5 átomos de carbono y un átomo de nitrógeno.

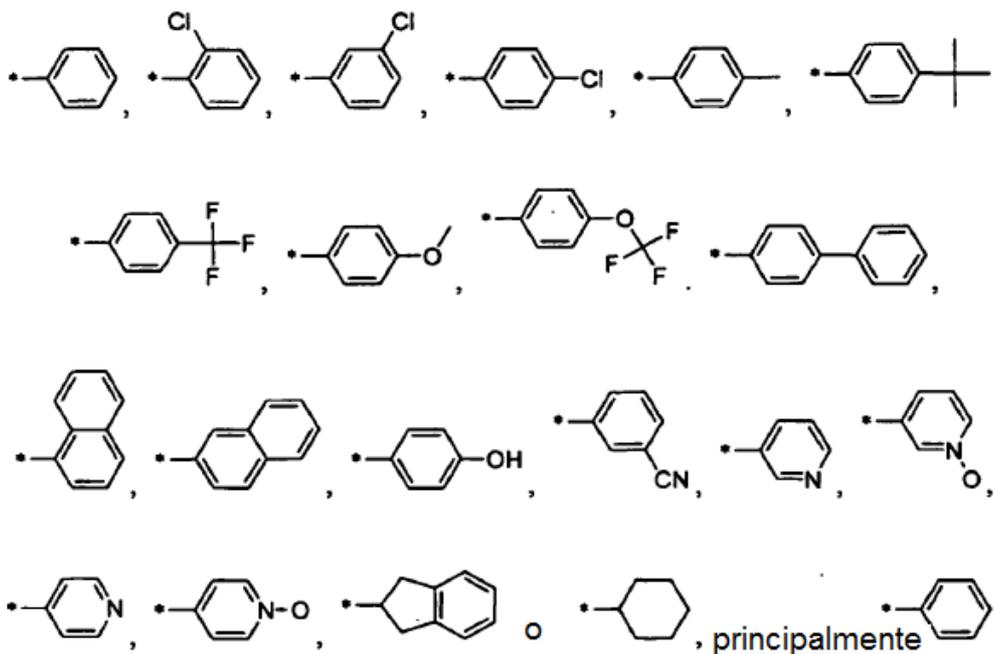
5. Compuestos según una de las reivindicaciones 1-3, caracterizados porque R<sub>2</sub> es un ciclo no aromático con 6 átomos de carbono.

6. Compuestos según una de las reivindicaciones 1-5, caracterizados porque R<sub>3</sub> es

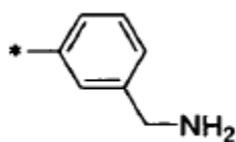


25 7. Compuestos según una de las reivindicaciones 1-6, caracterizados porque las sales se forman a partir de ácido clorhídrico, HBr, ácido acético, ácido trifluoroacético o ácido toluenosulfónico.

8. Compuestos según una de las reivindicaciones 1-7, caracterizados porque R<sub>2</sub> se selecciona de los siguientes residuos:



9. Compuestos según una de las reivindicaciones 1-8, caracterizados porque R<sub>3</sub> tiene la estructura



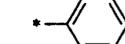
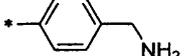
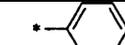
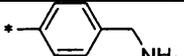
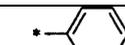
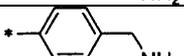
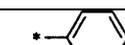
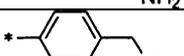
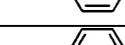
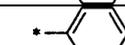
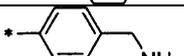
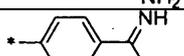
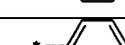
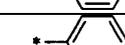
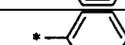
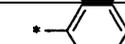
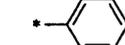
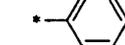
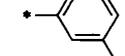
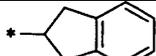
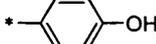
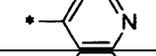
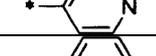
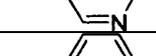
5 10. Compuestos según una de las reivindicaciones 1-9, caracterizados porque el compuesto se define de la siguiente manera:

Compuesto No.	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	p	R <sub>3</sub>	o	i	R <sub>4</sub>
1	H		3		1	0	-
2	4-COOH		3		1	0	-
3	3-COOH		3		1	0	-
4	3-COOH		3		1	1	-
5	3-COOH		3		1	0	2-F
6	H		3		1	0	-
7	H		3		1	0	-

ES 2 439 244 T3

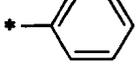
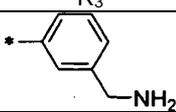
Compuesto No.	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	p	R <sub>3</sub>	o	i	R <sub>4</sub>
8	H		3		1	0	-
9	H		3		1	0	-
10	H		3		1	0	-
11	H		3		1	0	-
12	H		3		1	0	-
13	H		1		1	0	-
14	H		1		1	0	-
15	H		1		1	0	-
16	4-COOH		1		1	0	-
17	H		1		1	0	-
18	3-COOH		1		1	0	-
19	4-COOH		1		1	0	-
20	H		1		1	0	-
21	H		3		1	0	-
22	H		0		1	0	-
23	3-COOH		0		1	0	-
24	H		2		1	0	-
25	3-COOH		2		1	0	-
26	H		2		2	0	-

ES 2 439 244 T3

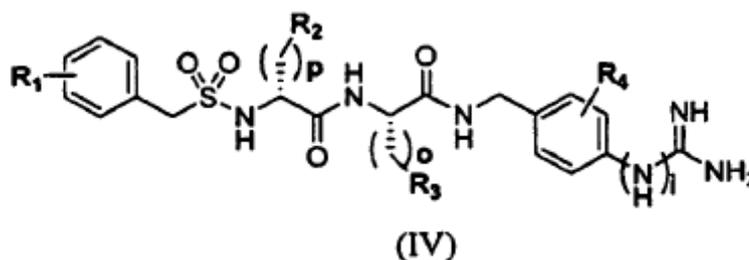
Compuesto No.	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	p	R <sub>3</sub>	o	i	R <sub>4</sub>
27	H		2		2	0	-
28	H		3		1	0	-
29	4-COOH		3		1	0	-
30	3-COOH		3		1	0	-
31	H		3		2	0	-
32	H		3		1	0	-
33	3-COOH		3		1	0	-
34	H		3		2	0	-
35	4-COOH		3		2	0	-
36	3-COOH		3		2	0	-
37	H		1		2	0	-
38	H		1		2	0	-
39	H		3		2	0	-
40	3-COOH		3		2	0	-
41	H		3		2	0	-
42	3-COOH		3		2	0	-
43	H		1		2	0	-
44	H		2		2	0	-
45	H		1		2	0	-
46	H		0		2	0	-
47	H		2		2	0	-
49	H		3		2	0	-
50	3-COOH		3		2	0	-
51	H		3		2	0	-
52	3-COOH		3		2	0	-
53	H		3		2	0	-
54	3-COOH		3		2	0	-

Compuesto No.	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	p	R <sub>3</sub>	o	i	R <sub>4</sub>
55	H		3		2	0	-
56	3-COOH		3		2	0	-

11. Compuesto según la reivindicación 10, caracterizado porque el compuesto se define de la siguiente manera:

R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	p	R <sub>3</sub>	o	i	R <sub>4</sub>
3-COOH		3		1	0	-

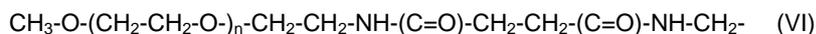
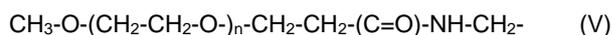
12. Compuestos de la fórmula general (IV)



5

con

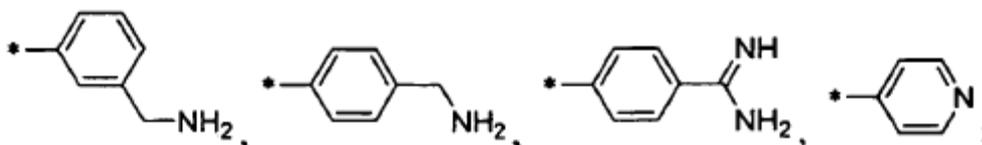
R<sub>1</sub> presente opcionalmente una o varias veces e independientemente entre sí representa un COOR<sub>5</sub>, con R<sub>5</sub> igual a hidrógeno o a un grupo alquilo inferior, ramificado o lineal, con 1-6 átomos de carbono, un residuo aminoalquilo ramificado o lineal con 1-6 átomos de carbono, un residuo halógeno o pseudohalógeno o un residuo de polietilenglicol de la fórmula (V) o (VI)



Con n definida de tal manera que los residuos de polietilenglicol tienen un peso molecular promedio de 10000 Da, 5000 Da, 3400 Da, 2000 Da, 1000 Da o 750 Da;

15 R<sub>2</sub> es un residuo alquilo ramificado o lineal, con 1-6 átomos de carbono, un residuo hidroxilo, un residuo amino o un residuo alquilo carbonilamido ramificado o lineal, con 1-6 átomos de carbono;

R<sub>3</sub> se selecciona de los siguientes residuos:



R<sub>4</sub> representa un residuo halógeno presente opcionalmente una o varias veces,

20 o = 1 o 2;

p = 1, 2, 3 o 4,

i = 0 o 1;

así como sus mezclas racémicas y sales con ácidos orgánicos o inorgánicos.

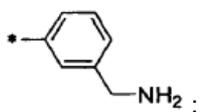
13. Compuestos según la reivindicación 12, caracterizados porque en

- 5 R<sub>1</sub> el residuo de alquilo inferior es metilo o etilo, preferentemente metilo, el residuo aminoalquilo es metilo, y el residuo halógeno o pseudohalógeno es cloro o un grupo ciano; y n es un número entero de cerca de 25 a cerca de 250, preferentemente cerca de 18, cerca de 25, cerca de 50, cerca de 85, cerca de 125 o cerca de 250;

En R<sub>2</sub> el residuo de alcoxi y el residuo de alquilo carbonilamida son butilo terciario;

R<sub>3</sub> es

10



En R<sub>4</sub> el residuo halógeno es flúor;

o = 1;

p = 3; y

i = 0.

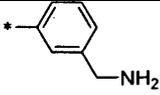
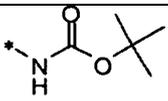
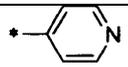
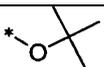
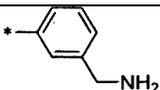
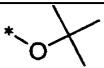
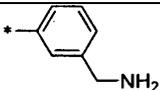
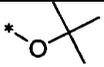
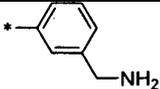
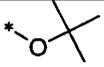
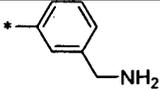
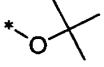
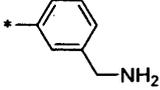
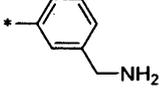
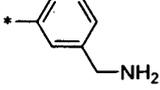
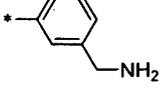
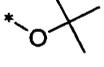
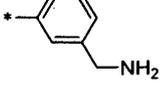
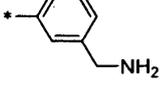
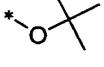
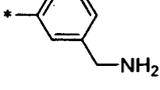
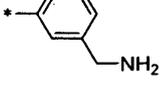
- 15 14. Compuestos según la reivindicación 13, caracterizados porque R<sub>1</sub> está presente una vez y en posición meta o para, R<sub>1</sub> es preferentemente hidrógeno o un residuo COOH, R<sub>1</sub> está presente principalmente una vez y se selecciona de hidrógeno, de un grupo 4-COOH o un grupo 3-COOH.

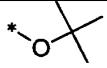
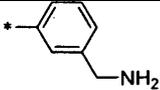
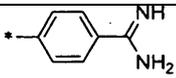
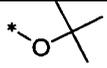
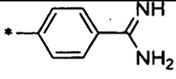
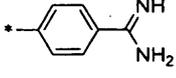
15. Compuestos según una de las reivindicaciones 13-14, caracterizados porque la sales se forman a partir de ácido clorhídrico, HBr, ácido acético, ácido trifluoroacético o ácido toluenosulfónico.

- 20 16. Compuestos según una de las reivindicaciones 13-15, caracterizados porque el compuesto se define de la siguiente manera:

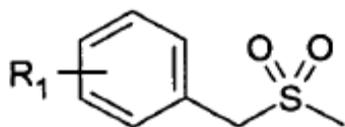
Compuesto No.	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	p	R <sub>3</sub>	o
57	H		4		1
58	4-COOH		4		1
59	H	*-NH <sub>2</sub>	4		1
60	H		1		1

ES 2 439 244 T3

Compuesto No.	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	p	R <sub>3</sub>	o
61	H	*-NH <sub>2</sub>	1		1
62	H		4		1
63	H		1		1
64	4-COOMe		1		1
65	4-COOH		1		1
66	3-COOMe		1		1
67	3-COOH		1		1
68	H	*-OH	1		1
69	4-COOMe	*-OH	1		1
70	4-COOH	*-OH	1		1
71	H		1		1
72	H	*-OH	1		1
73	H		1		2
74	H	*-OH	1		2

Compuesto No.	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	p	R <sub>3</sub>	o
75	H		1		1
76	H	*-OH	1		1
77	H		1		2
78	H	*-OH	1		2

17. Método para producir un compuesto según una de las reivindicaciones 1-16, caracterizado porque los correspondientes aminoácidos se acoplan secuencialmente a una amidina o guanidinobencilamina protegidas en el grupo amidino o guanidino, en cuyo caso el aminoácido N-terminal, o bien ya porta el residuo P4, donde P4 es



5

o bien éste se enlaza a continuación al mismo y a continuación Los compuestos resultantes se purifican y opcionalmente se PEGilan.

18. Método para producir un compuesto según una de las reivindicaciones 1-16 el cual comprende las siguientes etapas:

10 (a) Amidación de un aminoácido, N $\alpha$ -protegido de manera correspondiente, que tiene el residuo R<sub>3</sub>, donde R<sub>3</sub> se define tal como en la reivindicación 1, con una aminometilbenzamidina o -guanidina protegida correspondiente,

15 (b) Disociación del grupo protector N $\alpha$  del aminoácido que tiene R<sub>3</sub> y reacción del producto resultante con el correspondiente bencil sulfonil aminoácido que tiene los residuos R<sub>1</sub> y R<sub>2</sub>, donde R<sub>1</sub> y R<sub>2</sub> son tal como se definen en la reivindicación 1, y disociación de los grupos protectores restantes para obtener el compuesto de la fórmula (I), y después de una posible purificación

(c) opcionalmente PEGilación del compuesto resultante.

19. Medicamento que contiene al menos un compuesto según una de las reivindicaciones 1-16.

20 Medicamento según la reivindicación 19 para el tratamiento de la pérdida de sangre, principalmente en estados hiperfibrinolíticos, en trasplantes de órganos o intervenciones quirúrgicas en el corazón, ante todo con derivación (bypass) cardiopulmonar.

21. Adhesivo de fibrina que contiene al menos un compuesto según una de las reivindicaciones 1-16.

22. Uso de al menos un compuesto según una de las reivindicaciones 1-16 para producir un medicamento según la reivindicación 19 o 20 o de un adhesivo de fibrina según la reivindicación 21.