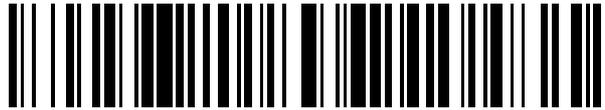


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 569 983**

51 Int. Cl.:

C07D 211/26 (2006.01)
C07D 211/18 (2006.01)
C07D 401/12 (2006.01)
A61K 31/445 (2006.01)
A61K 31/4545 (2006.01)
A61P 7/04 (2006.01)
A61K 38/00 (2006.01)
C07D 413/12 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **28.01.2011 E 11737704 (4)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **30.03.2016 EP 2528895**

54 Título: **Inhibidores de serinproteasa de tipo tripsina y su preparación y uso**

30 Prioridad:

28.01.2010 US 299054 P

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

13.05.2016

73 Titular/es:

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

72 Inventor/es:

**HEROLD, PETER;
DAGHISH, MOHAMMED;
JELAKOVIC, STJEPAN;
LUDWIG, FRIEDRICH-ALEXANDER;
REICHEL, CLAUDIA;
SCHULZE, ALEXANDER y
SCHWEINITZ, ANDREA**

74 Agente/Representante:

PONTI SALES, Adelaida

ES 2 569 983 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 serinproteasa de tipo tripsina y su preparación y uso

5 CAMPO DE LA INVENCION

[0001] La invención se refiere a los campos de la química orgánica, serinproteasas (particularmente plasmina y calicreína plasmática) y hemostasia, y a la modulación terapéutica de la cascada de coagulación sanguínea y fibrinólisis.

10

ANTECEDENTES DE LA INVENCION

[0002] La plasmina (EC 3.4.21.7, fibrinolisisina) es una serinproteasa de tipo serina que efectúa la escisión proteica en los residuos de arginina o lisina; sus sustratos principales son fibrina y proteínas de la matriz extracelular (MEC) como fibronectina. Otros sustratos de plasmina incluyen diversas proteínas de la membrana basal, por ejemplo laminina y colágeno de tipo IV, y zimógenos tales como las proformas de urocinasa y metaloproteasas de matriz. En la sangre, la plasmina es responsable en particular de la fibrinólisis, ya que escinde la fibrina en fragmentos solubles. La plasmina se activa por escisión de su precursor zimógeno, el plasminógeno, mediante la acción de activadores de plasminógeno, principalmente serinproteasas tales como urocinasa, tPA y calicreína plasmática (EC 3.4.21.34; cininogenina, CP).

[0003] Los inhibidores endógenos de plasmina, tales como α_2 -macroglobulina y α_2 -antiplasmina, al moderar los efectos anticoagulantes de los activadores de plasminógeno, desempeñan papeles clave en la regulación de la fibrinólisis. Ciertas afecciones patológicas (hiperplasminemias) se caracterizan por la desregulación de la plasmina y la activación espontánea de la fibrinólisis. La degradación resultante de la fibrina de cierre de heridas se exagera por las propiedades anticoagulantes de los productos de degradación de fibrinógeno, conduciendo a una grave disfunción de la hemostasia.

[0004] Los fármacos antifibrinolíticos se usan clínicamente para tratar dichas afecciones; entre los agentes usados comúnmente, están los ácidos carboxílicos sustituidos con amino sintéticos tales como ácido *p*-aminometilbenzoico, ácido ϵ -aminocaproico y ácido *trans*-4-(aminometil)ciclohexanocarboxílico (ácido tranexámico). Estos compuestos bloquean la unión de plasminógeno a fibrina, e inhiben por tanto la generación de plasmina, pero no son inhibidores directos de la plasmina y no inhiben la actividad de la plasmina ya formada. Es un antifibrinolítico directo la aprotinina (TRASYLOL™, Bayer AG, Leverkusen), un polipéptido de 58 aminoácidos obtenido de pulmón bovino. La aprotinina inhibe la plasmina con una constante de inhibición de 1 nM, pero es relativamente no específica: inhibe eficazmente la tripsina ($K_i = 0,1$ nM), la calicreína plasmática ($K_i = 30$ nM) y, en menor extensión, una variedad de otras enzimas.

[0005] El uso principal de la aprotinina era para la reducción de la pérdida de sangre, especialmente en procedimientos quirúrgicos cardíacos con derivación cardiopulmonar (DCP), en que reducía claramente la necesidad de transfusiones sanguíneas perioperativas (Sodha y col., Expert Rev. Cardiovasc. Ther., 4, 151-160, 2006). La aprotinina se empleaba también para inhibir la pérdida de sangre en otras operaciones, por ejemplo en trasplantes de órganos; se usa también junto con adhesivos de fibrina.

[0006] El uso de aprotinina tiene varias desventajas. Puesto que se aísla de órganos bovinos, existe en principio el riesgo de contaminación patogénica y reacciones alérgicas. El riesgo de choque anafiláctico es relativamente bajo con la primera administración de aprotinina (< 0,1 %), pero aumenta con la administración repetida al cabo de 200 días hasta 4-5 %. Se ha reseñado que la administración de aprotinina, en comparación directa con ácido ϵ -aminocaproico o ácido tranexámico, induce un número aumentado de efectos secundarios (Mangano y col., New Engl. J. Med., 354, 353-365, 2006). La administración de aprotinina conducía a una duplicación del número de casos de daño renal que requiere diálisis, y la incidencia de infarto de miocardio y ataque apopléjico aumentaba en comparación con los grupos de control. Después de que el estudio de Conservación de sangre usando antifibrinolíticos en un ensayo aleatorizado (BART) mostrara un riesgo aumentado de mortalidad asociada al uso de aprotinina en comparación con análogos de lisina en pacientes de cirugía cardíaca de alto riesgo (Fergusson y col., New Engl. J. Med., 358, 2319-2331, 2008), se retiró el fármaco del mercado.

[0007] Se han dado a conocer una serie de inhibidores sintéticos de plasmina. Sanders (Sanders y Seto, J. Med. Chem., 42, 2969-2976, 1999) ha descrito derivados de 4-heterociclohexanona con actividad relativamente débil, con constantes de inhibición ≥ 50 μ M para la plasmina. Xue (Xue y Seto, J. Med. Chem., 48, 6908-6917, 2005)

ha reseñado derivados de ciclohexanona peptídicos con valores de $CI_{50} \geq 2 \mu M$, pero no se ha reseñado el desarrollo posterior. Okada (Okada y col., Chem. Pharm. Bull., 48, 1964-1972, 2000; Okada y col., Bioorg. Med. Chem. Lett., 10, 2217-2221, 2000) y Tsuda (Tsuda y col., Chem. Pharm. Bull., 49, 1457-1463, 2001) han descrito derivados de ácido 4-aminometilciclohexanoico que inhiben la plasmina con valores de $CI_{50} \geq 0,1 \mu M$, pero no se ha reseñado el uso clínico de estos inhibidores.

5 **[0008]** Stürzebecher y col. han descrito una serie de peptidomiméticos de benzamidina sulfonilada *N*-terminal que tienen diversos efectos sobre las serinproteasas. Se incluyen en esta clase los inhibidores del factor Xa, útiles como anticoagulantes y antitrombóticos (patente de EE.UU. nº 6841701); inhibidores de urocinasa, útiles como
10 supresores tumorales (publicación de solicitud de patente de EE.UU. nº 2005/0176993, patente de EE.UU. nº 6624169); inhibidores de calicreína plasmática (CP), factor XIa y factor XIIa, útiles como anticoagulantes y antitrombóticos (publicación de solicitud de patente de EE.UU. nº 2006/0148901); e inhibidores de matriptasa, útiles como supresores tumorales (publicación de solicitud de patente de EE.UU. nº 2007/0055065).

15 **[0009]** Se han publicado en varios estudios sobre inhibidores de proteasas de coagulación las constantes de inhibición para algunos compuestos que afectan a la actividad de plasmina. Sin embargo, los compuestos en cuestión se estaban investigando como antitrombóticos, y por lo tanto se prefería un bajo nivel de inhibición de plasmina. Por ejemplo, el inhibidor de trombina melagatrán inhibe la plasmina con un valor de K_i de $0,7 \mu M$, y el compuesto estructuralmente relacionado H317/86 tiene una constante de inhibición de $0,22 \mu M$ (Gustafsson y col.,
20 Thromb. Haem., 79, 110-118, 1998). Sin embargo, debido a que ambos compuestos inhiben la proteasa trombina mucho más fuertemente ($K_i \leq 2 \text{ nM}$), el efecto neto de la administración es la inhibición de la coagulación. La posibilidad de usar dichos compuestos como procoagulantes, p.ej. para reducir la pérdida de sangre en procedimientos quirúrgicos cardíacos, no se mencionaba en ninguno de estos artículos.

25 **[0010]** Como se observa anteriormente, la aprotinina inhibe no solo la plasmina, sino también la calicreína plasmática (CP). La CP es una serinproteasa de tipo tripsina multifuncional para la que son conocidos varios sustratos fisiológicos. Por tanto, mediante escisión proteolítica, la CP es capaz de liberar el péptido vasoactivo bradisinina del cininógeno de alto peso molecular, y de activar zimógenos tales como el factor de coagulación XII, prourocinasa, plasminógeno y pro-MMP 3. Por lo tanto, se supone que el sistema de CP/cinina desempeña un papel
30 importante en muchas afecciones patológicas, por ejemplo en situaciones tromboembólicas, coagulación intravascular diseminada, choque séptico, alergias, síndrome postgastrectomía, artritis y SDRA (síndrome de las dificultades respiratorias en el adulto) (Tada y col., Biol. Pharm. Bull., 24, 520-524, 2001).

[0011] Por consiguiente, la aprotinina, a través de su efecto inhibitorio sobre CP, inhibe la liberación de la
35 hormona peptídica bradisinina, que a su vez tiene diversos efectos a través de la activación del receptor B2 de bradisinina. La liberación inducida por bradisinina de tPA, NO y prostaciclina de las células endoteliales (Schmaier, J. Clin. Invest., 109, 1007-1009, 2002) influye en la fibrinólisis, presión sanguínea y eventos inflamatorios. Se ha sugerido que los procesos inflamatorios sistémicos que pueden aparecer como efecto secundario en operaciones quirúrgicas pueden reducirse inhibiendo la liberación de bradisinina.

40 **[0012]** Se han descrito diversas bisbenzamidinas, tales como pentamidina y compuestos relacionados y ésteres de ácidos ω -amino- y ω -guanidinoalquilcarboxílicos, como inhibidores de CP con valores de K_i micromolares (Asghar y col., Biochim. Biophys. Acta, 438, 250-264, 1976; Muramatu y Fuji, Biochim. Biophys. Acta, 242, 203-208, 1971; Muramatu y Fuji, Biochim. Biophys. Acta, 268, 221-224, 1972; Ohno y col., Thromb. Res., 19, 579-588, 1980; Muramatu y col., Hoppe-Seyler's Z. Physiol. Chem., 363, 203-211, 1982; Satoh y col., Chem. Pharm. Bull., 33, 647-654, 1985; Teno y col., Chem. Pharm. Bull., 39, 2930-2936, 1991).

[0013] Los primeros inhibidores competitivos selectivos de CP en reseñarse (Okamoto y col., Thromb. Res., Supl. VIII, 131-141, 1988) derivaban de arginina o fenilalanina, e inhiben a CP con valores de K_i de aproximadamente $1 \mu M$. Se han publicado varios artículos sobre el desarrollo de inhibidores competitivos de CP por el grupo de Okada, teniendo los compuestos más activos, derivados de trans-4-aminometilciclohexanocarbonil-Phe-4-carboximetilamida, constantes de inhibición de aproximadamente $0,5 \mu M$ (Okada y col., Biopolymers, 51, 41-50, 1999; Okada y col., 2000, Tsuda y col., 2001). Es característico de estos inhibidores de CP que tienen un valor de K_i relativamente alto.

55 **[0014]** Aliagas-Martín y col., en la patente de EE.UU. nº 6472393, han descrito una amplia variedad de 4-amidinoanilidas que son potentes inhibidores de CP, que tienen constantes de inhibición de aproximadamente 1 nM . Antonsson y col. han descrito igualmente un amplio intervalo de inhibidores de CP de amidina y guanidina en la patente de EE.UU. nº 5602253. Stürzebecher y col. han descrito 4-amidino- y 4-guanidinobencilaminas como

inhibidores de CP, algunos de los cuales son inhibidores del factor Xa (publicación de la solicitud de patente de EE.UU. n° 2005/0119190), algunos de los cuales tienen un efecto ligeramente inhibitorio sobre la plasmina (publicación de la solicitud de patente de EE.UU. n° 2006/0148901), y algunos de ellos son inhibidores duales de plasmina/CP (publicación PCT n° 2008/049595). Estos inhibidores están relacionados con, pero difieren 5 estructuralmente de, los inhibidores descritos en la presente solicitud.

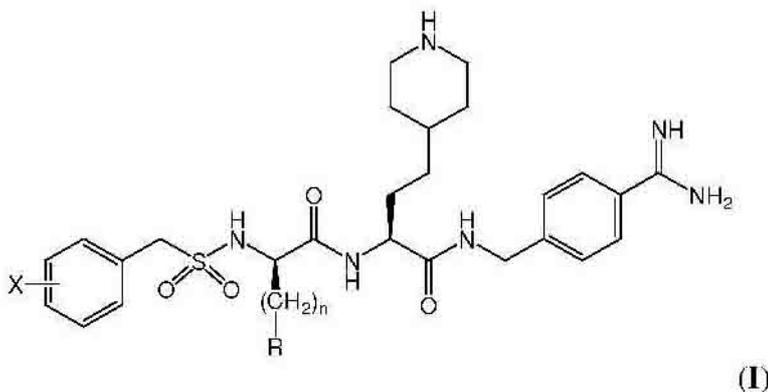
[0015] Dyax Corp. Ha desarrollado un inhibidor selectivo de calicreína plasmática, DX-88 (ecalantida, Kalbitor™), para el tratamiento de ataques agudos de angioedema hereditario. La ecalantida es una proteína pequeña recombinante que se ha identificado usando una tecnología de exposición en fago basada en el primer 10 dominio de Kunitz del inhibidor de la ruta del factor de tejido humano (TFPI). La ecalantida está también experimentando un ensayo clínico de fase II para la reducción de la pérdida de sangre durante cirugía cardiotorácica de bombeo (Lehmann, *Expert Opin. Biol. Ther.*, 8, 1187-1199, 2008).

[0016] Sigue habiendo la necesidad de sustancias de bajo peso molecular adecuadas para aplicaciones 15 terapéuticas, que inhiban reversible y competitivamente la plasmina y la calicreína plasmática con alta actividad y especificidad, y la presente invención proporciona dichos compuestos. Los compuestos de la presente invención, por consiguiente, son adecuados para modular y/o mantener la hemostasia en diversas situaciones, particularmente durante y después de cirugías con derivación cardiopulmonar, trasplantes de órganos y otras intervenciones quirúrgicas mayores. Se espera que los compuestos de la presente invención, como inhibidores de la calicreína 20 plasmática, reducirán también la liberación de cinina, suprimiendo así tanto las reacciones inflamatorias mediadas por cinina como la liberación de tPA inducida por cinina de las células endoteliales. Este último efecto proporciona un mecanismo adicional para la regulación negativa de la fibrinólisis.

[0017] El documento WO 2008049595 da a conocer también compuestos de serinproteasa de tipo tripsina 25 que muestran actividad inhibitoria de plasmina.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LA INVENCION

[0018] Se ha encontrado que los compuestos de fórmula general I, 30



en la que X, R y n son como se definen a continuación, son inhibidores eficaces y selectivos de plasmina y calicreína plasmática. La invención proporciona por consiguiente compuestos de fórmula I, procedimientos para la preparación 35 de compuestos de fórmula I y composiciones farmacéuticas que comprenden compuestos de fórmula I. La invención proporciona también procedimientos de inhibición de plasmina y/o CP en un paciente, procedimientos para la modulación terapéutica de la cascada de coagulación sanguínea y fibrinólisis, especialmente procedimientos para la prevención y el tratamiento de la pérdida de sangre en un paciente mediante la administración de los compuestos de fórmula I.

40

[0019] La invención proporciona además procedimientos para el uso de estos compuestos en la fabricación de medicamentos para inhibir plasmina y/o CP en un paciente, medicamentos para la modulación terapéutica de la cascada de coagulación y fibrinólisis, especialmente para la prevención y el tratamiento de la pérdida de sangre en un 45 paciente. Los sujetos que pueden tratarse con las composiciones de la invención incluyen, pero sin limitación, pacientes que experimentan afecciones hiperfibrinolíticas, trasplantes de órganos y procedimientos quirúrgicos

cardiacos, especialmente aquellos que implican derivación cardiopulmonar.

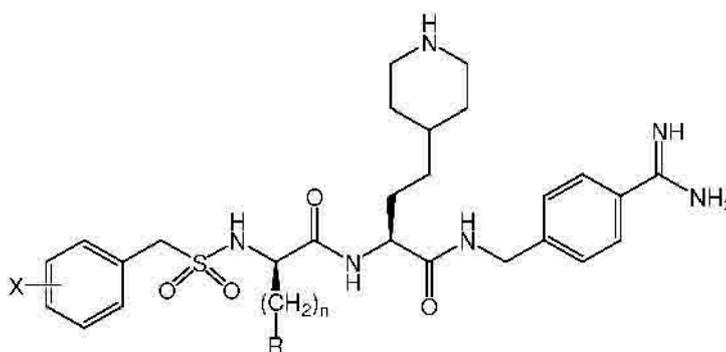
[0020] En la fórmula I anterior, X se selecciona del grupo consistente en H, CO₂H y CO₂R'; n oscila de 0 a 3 y R se selecciona del grupo consistente en fenilo, piridilo, tetrazolilo y piperidinilo; en la que R puede estar no sustituido o puede estar sustituido con uno o más sustituyentes, como se describe con detalle a continuación.

[0021] La presente invención proporciona también adhesivos de fibrina que comprenden los compuestos de la invención, y procedimientos para el uso de los compuestos de la invención en la fabricación de un adhesivo de fibrina.

10

DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCION

[0022] La invención proporciona compuestos que tienen la siguiente fórmula (I)



I

15

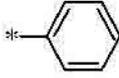
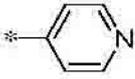
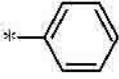
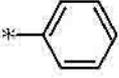
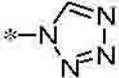
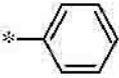
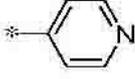
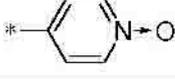
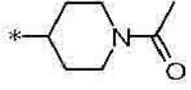
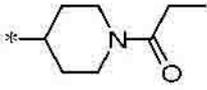
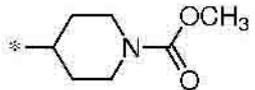
y sales farmacéuticamente aceptables de los mismos; en la que X se selecciona del grupo consistente en H, CO₂H y CO₂R'; n oscila de 0 a 3 y R es fenilo, piridilo, tetrazolilo o piperidinilo. El resto R puede estar no sustituido o puede estar sustituido con uno o más de halógeno, R', OR', SR', S(=O)R', S(=O)₂R', S(=O)₂NHR', S(=O)₂NR'₂, CN, NH₂,
 20 NHR', NR'₂, NHS(=O)₂R', NHC(=O)R', NHC(=O)OR', NHC(=O)NHR', NHC(=O)NR'₂, C(=O)R', C(=O)CH₂OR', CO₂R', C(=O)NHR' o C(=O)NR'₂ y en que R es piridilo, y puede ser N-óxido de piridina. En todos los compuestos anteriormente descritos, cada R' es independientemente alquilo inferior C₁ a C₄ ramificado o no ramificado o CF₃. Como se usa en la presente memoria, los términos "fenilo", "piridilo", "tetrazolilo" y "piperidinilo" hacen referencia tanto a sistemas no sustituidos como sustituidos, a menos que se identifiquen específicamente por ser no
 25 sustituidos.

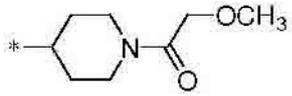
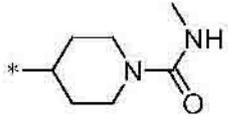
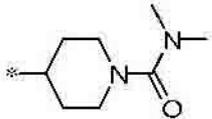
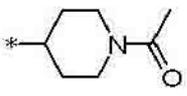
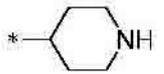
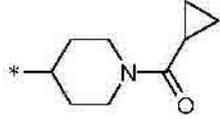
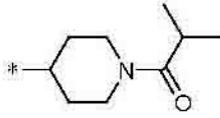
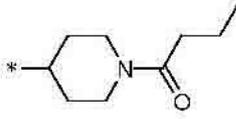
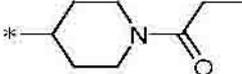
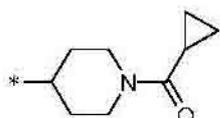
[0023] En realizaciones preferidas, n es 2 o 3. R es preferiblemente fenilo, 4-piridilo o 4-piperidinilo. Se prefieren particularmente los compuestos en los que R es fenilo no sustituido, 4-piridilo no sustituido, N-óxido de 4-piridilo no sustituido, 1-acetil-4-piperidinilo, 1-tetrazolilo, 1-isopropionil-4-piperidinilo o 1-ciclopropanocarbonil-4-piperidinilo.
 30

[0024] En otra realización preferida, n es 0 y R es fenilo no sustituido. En otras realizaciones, n es 2 o 3, R es 4-piperidinilo y el nitrógeno del piperidinilo porta un sustituyente seleccionado del grupo consistente en C(=O)R', C(=O)CH₂OR', CO₂R', C(=O)NHR' y C(=O)NR'₂.
 35

[0025] Se exponen en la Tabla I ejemplos representativos de los compuestos de la invención.

Tabla 1

Nº de compuesto	X	n	R
1,1	H	3	
1,2	H	3	
1,3	3-CO ₂ H	3	
1,4	3-CO ₂ Me	3	
1,5	H	3	
1,6	H	0	
1,7	H	2	
1,8	H	3	
1,9	H	2	
2,1	H	2	
2,2	H	2	
2,3	H	2	

Nº de compuesto	X	n	R
2,4	H	2	
2,5	H	2	
2,6	H	2	
2,7	H	3	
2,8	H	3	
2,9	H	2	
2,10	H	2	
2,11	H	2	
2,12	H	2	
2,13	H	3	
2,14	H	3	

[0026]

Las sales farmacéuticamente aceptables de los compuestos de la invención se forman preferiblemente

mediante la adición de cualquier ácido conocido por ser útil en la formación de sales farmacéuticas. Los ácidos preferidos para la formación de sal incluyen HCl, HBr, ácido sulfúrico, ácido fosfórico, ácido acético, ácido cítrico, ácido metanosulfónico, ácido trifluoroacético y ácido p-toluenosulfónico.

5 **[0027]** Los sustituyentes en los anillos aromáticos o heteroaromáticos R incluyen, pero sin limitación, uno o más de F, Cl, Br, I, CF₃, R', fenilo, OH, OR', OCF₃, CO₂H, CO₂R', CONHR', CONR'₂, NH₂, NHR', NR'₂, NHSO₂', NR'SO₂R', NO₂, SOR', SO₂R', SO₂NH₂, SO₂NHR', SO₂NR'₂, CN, OCO₂R', OCONHR', OCONR'₂, NHCOR', NHCO₂R', NHCONHR', NH-CONR'₂, NHCO₂R', NR'CO₂R', NR'CONHR' y NR'CONR'₂, en que cada R' es independientemente alquilo inferior C₁ a C₄ ramificado o no ramificado y cicloalquilo.

10

[0028] Los compuestos de fórmula general I pueden prepararse mediante acoplamiento secuencial de aminoácidos con 4-aminobencilamina que está N-prottegida en el grupo amidino. Se entenderá que puede emplearse en el grupo amidino cualquier grupo protector de N adecuado conocido en la materia. Los grupos protectores de N adecuados para el grupo amidino incluyen, pero sin limitación, 1,2,4-oxadiazol-5-ona, N-Boc, N-Cbz, N-benciloxilo y N-acetoxilo. Se prefieren los grupos 1,2,4-oxadiazol-5-ona, N-benciloxilo y N-acetoxiamidino porque se preparan fácilmente a partir del correspondiente nitrilo.

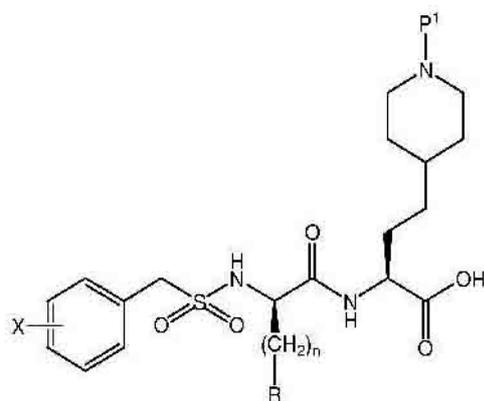
20 **[0029]** Los compuestos de la invención pueden prepararse de varios modos. Los enfoques sintéticos preferidos implican la formación de enlaces amida y sulfonamida entre los componentes presintetizados. Los procedimientos descritos en la publicación PCT nº 2008/049595, que se incorpora a la presente memoria como referencia en su totalidad, pueden adaptarse fácilmente a la síntesis de los compuestos de la presente invención.

[0030] Como se usa en la presente memoria, la expresión "un ácido carboxílico activado derivado de" un ácido dado hace referencia a derivados de ácidos carboxílicos que son reactivos con aminas incluyendo, pero sin limitación, ésteres activos, anhídridos mixtos y haluros de acilo, como son bien conocidos en la técnica de la síntesis peptídica. Los ejemplos adecuados incluyen, pero sin limitación, ésteres de N-hidroxibenzotriazol, isoureas O-aciladas, ésteres de pentaclorofenilo y pentafluorofenilo, cloruros de acilo y anhídridos mixtos con monoésteres de ácido carbónico. Son ácidos carboxílicos activados preferidos el anhídrido mixto obtenido mediante reacción con cloroformiato de isobutilo, o el éster de N-hidroxibenzotriazol.

30

[0031] En una primera síntesis representativa, se obtiene una 4-(aminometil)benzamidina protegida en el amidino, tal como 4-(aminometil)-N-acetoxibenzamidina (i), a partir de 4-cianobencilamina comercialmente disponible (Showa Denko K.K., Japón) mediante el procedimiento descrito en el suplemento de Schweinitz y col., *J. Biol. Chem.*, 279: 33613-33622 (2004). Las 4-(metilamino)benzamidinas protegidas en el amidino alternativas incluyen (ii), (iii) o (iv) como se describe a continuación. Este material está N-acilado con un ácido carboxílico activado derivado del compuesto A

35

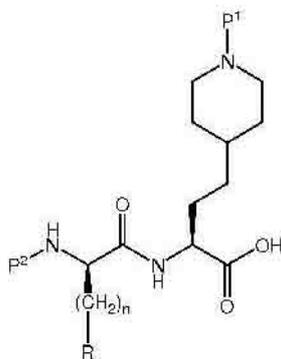


(A)

40 en el que P¹ es un grupo protector de amino y X, n y R son como se describen anteriormente. P¹ puede ser cualquier grupo protector de amino conocido en la materia incluyendo, pero sin limitación, Fmoc, Alloc, Boc, benciloxycarbonilo

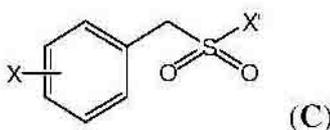
(Cbz), 4-nitrobenciloxycarbonilo (4-NO₂-Cbz), trifluoroacetilo, tritilo y benzhidrido. Se prefieren los grupos Boc y Cbz. Después de la acilación, se llevan a cabo la escisión del grupo protector de amino P¹ y la escisión del grupo protector de benzamidina en cualquier orden. Si P¹ es un grupoenciloxycarbonilo o benzhidrido, pueden retirarse ambos grupos protectores en una sola etapa de hidrogenólisis. A pequeña escala, se lleva a cabo preferiblemente la purificación final de los inhibidores mediante HPLC preparativa en fase inversa. Se purifican preparaciones mayores mediante la recristalización del compuesto o una sal adecuadamente cristalina del mismo, como es rutinario en la materia.

[0032] Una segunda síntesis representativa comprende la acilación de 4-(aminometil)-*N*-acetoxibenzamidina **(i)** (o, como alternativa, **(ii)**, **(iii)** o **(iv)**) con un ácido carboxílico activado derivado del compuesto **B**,

**(B)**

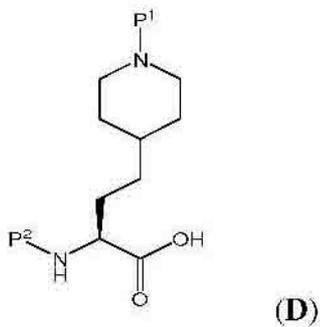
en la que P¹ y P² son grupos protectores de amino y n y R son como se describen anteriormente. De nuevo, P¹ y P² pueden ser cualquier grupo protector de amino conocido en la materia incluyendo, pero sin limitación, Fmoc, Alloc, Boc,enciloxycarbonilo (Cbz), 4-nitrobenciloxycarbonilo (4-NO₂-Cbz), trifluoroacetilo, tritilo y benzhidrido. En este esquema, sin embargo, P¹ y P² son preferiblemente ortogonales, de modo que P² pueda escindirse sin afectar a P¹.

[0033] Después de la acilación, se escinde el grupo protector de amino P², y se sulfonila el grupo α-amino desprotegido resultante con un agente sulfonilante de fórmula **C**:

**(C)**

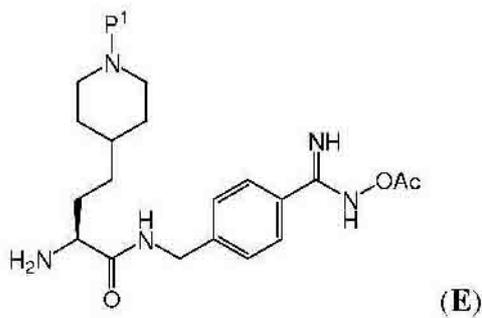
en la que X' es un grupo saliente, preferiblemente Cl, y X es como se define anteriormente. Después de la sulfonilación, se escinden el grupo protector de amino P¹ y el grupo protector de benzamidina como se describe anteriormente, simultáneamente o en cualquier orden.

[0034] Un tercer enfoque sintético, y preferido, comprende la acilación de 4-(aminometil)-*N*-acetoxibenzamidina **(i)** (o, como alternativa, **(ii)**, **(iii)** o **(iv)**) con un ácido carboxílico activado derivado del compuesto **D**



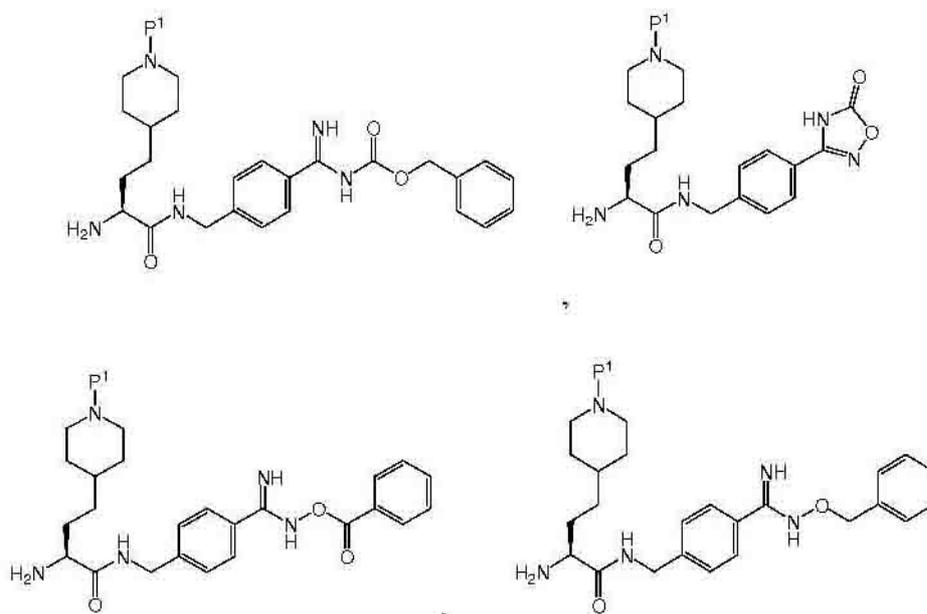
en la que P¹ y P² son grupos protectores de amino como se describen anteriormente.

- 5 **[0035]** De nuevo, P¹ y P² son preferiblemente ortogonales, de modo que P² pueda escindirse sin afectar a P¹. Después de la acilación, se escinde el grupo protector de amino P², generando un intermedio tal como **E** mostrado a continuación:



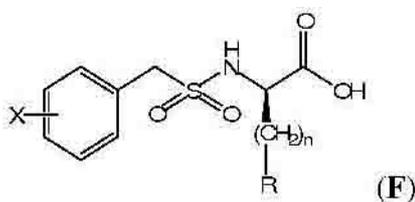
10

- [0036]** De esta manera, usando los materiales de partida (ii)-(v) descritos anteriormente, la invención proporciona también compuestos análogos a E, tales como los siguientes:



en que P¹ es un grupo protector de amino como se describe anteriormente.

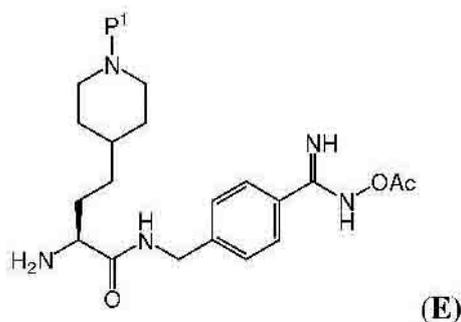
- 5 [0037] Se acila entonces el intermedio **E** con un derivado de ácido carboxílico activado derivado del compuesto **F**



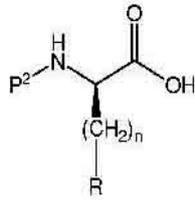
- 10 en que X, n y R son como se definen anteriormente. La retirada de P¹ y el grupo protector de amidina, como se describe anteriormente, proporciona un compuesto de estructura **I**.

[0038] Un cuarto procedimiento comprende la acilación de una 4-(aminometil)benzamidina protegida en el amidino *N*-acilada, tal como la estructura **E**

15



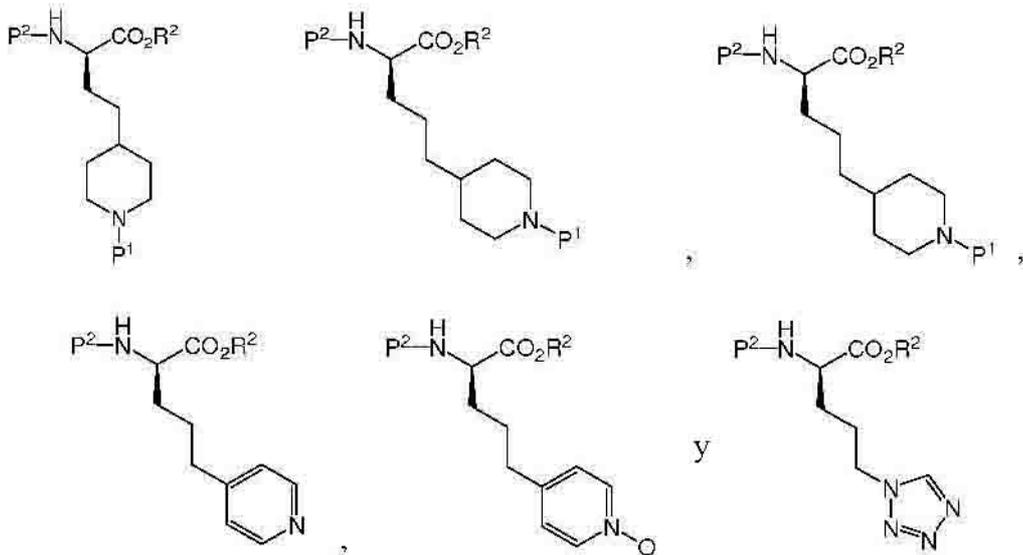
con un derivado de ácido carboxílico activado de estructura **G**



en que P¹, P², n y R son como se definen anteriormente.

5

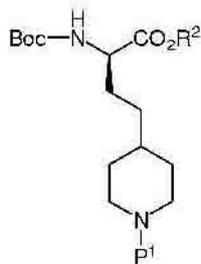
[0039] La invención proporciona una variedad de compuestos de fórmula G, y precursores de los mismos, incluyendo pero sin limitación los siguientes ejemplos:



10

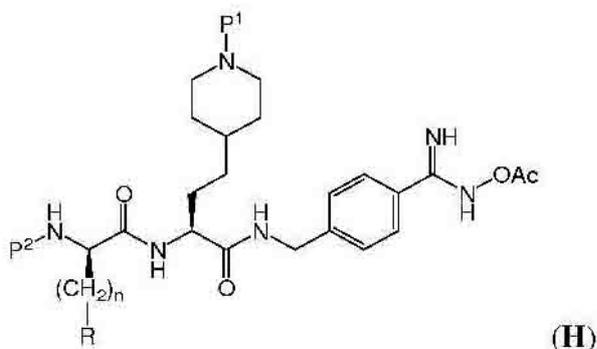
en los que P¹ y P² son independientemente H o grupos protectores de amino tales como Boc, Fmoc, Cbz y trifluoroacetilo, y R² puede ser H, metilo, etilo, *terc*-butilo o bencilo. Preferiblemente, P¹ y P² son ortogonales, de modo que P² pueda retirarse en presencia de P¹. Son particularmente útiles como intermedios los compuestos de fórmula

15



en que P¹ es H, benciloxicarbonilo o 4-nitrobenciloxicarbonilo, y R² es H, metilo, etilo, *terc*-butilo o bencilo.

[0040] La acilación de un compuesto **E** con un ácido activado derivado de la estructura G procura intermedios tales como la estructura **H**



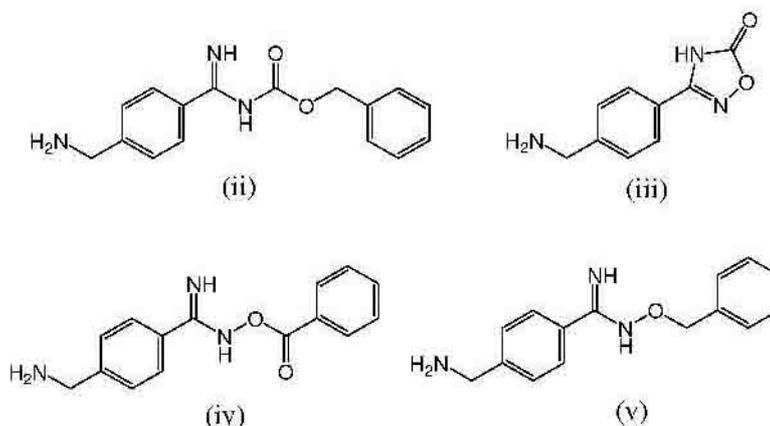
5

[0041] El grupo protector de amino P^2 , que es preferiblemente ortogonal de P^1 , se escinde entonces del intermedio **H**, y se sulfonila el grupo α -amino desprotegido resultante con un agente sulfonilante de fórmula **C** como se describe anteriormente. Después de la sulfonilación, se escinden el grupo protector de amino P^1 , cualquier grupo protector en R y el grupo protector en la benzamidina como se describe anteriormente, simultáneamente o en cualquier orden.

10

[0042] En realizaciones adicionales de la invención, se lleva a cabo cualquiera de los procedimientos de preparación anteriores usando grupos protectores alternativos para la funcionalidad amidina. Los grupos protectores adecuados incluyen, pero sin limitación, grupos *N*-benciloxilo, *N*-benzoiloxilo y *N*-benciloxicarbonilo sustituidos y no sustituidos y el anillo heterocíclico 1,2,4-oxadiazol-5-ona, que se introducen fácilmente mediante la sustitución por **(i)** de materiales de partida alternativos tales como **(ii)-(v)** mostrados a continuación:

15



[0043] Los compuestos de la invención son útiles para la modulación terapéutica de la cascada de coagulación sanguínea y la fibrinólisis. Como se usa en la presente memoria, "modulación terapéutica" incluye tanto actividades procoagulantes como anticoagulantes, y la estabilización o promoción *in vivo* de actividades hemostáticas o fibrinolíticas innatas. En particular, los compuestos son útiles para la prevención o el tratamiento de pérdida de sangre. Los pacientes necesitados de dicho tratamiento incluyen aquellos que experimentan cirugía (especialmente aquellos procedimientos, tales como cirugía cardíaca, que implican derivación cardiopulmonar) y aquellos aquejados de un desequilibrio adquirido o congénito de hemostasia o fibrinólisis.

25

[0044] La invención proporciona también una composición farmacéutica que comprende uno o más compuestos de la invención en combinación con uno o más portadores o excipientes farmacéuticamente aceptables. Dichos excipientes incluyen, pero sin limitación, cargas, agentes ligantes, lubricantes, conservantes, agua, tampones

30

y disgregantes. Las composiciones pueden estar en forma de sólidos o líquidos, elaborados para administración oral, o de soluciones o suspensiones adecuadas para administración parenteral. En particular, se proporciona una solución salina tamponada adecuada para administración parenteral, como las composiciones en polvo o liofilizadas adecuadas para reconstitución en una solución salina tamponada.

5

[0045] Se proporcionan también adhesivos de fibrina que comprenden, en al menos un componente del adhesivo de fibrina, uno o más compuestos de fórmula I. Los procedimientos y composiciones para adhesivos de fibrina son bien conocidos en la materia, véase Sierra, *J. Biomater. Appl.*, 7: 309-352 (1993). Los adhesivos de fibrina consisten generalmente en un adhesivo fisiológico de dos componentes que comprende como primer componente fibrinógeno, factor XIII y aprotinina, y como segundo componente trombina y cloruro de calcio para la activación del factor XIII. En dichas composiciones, el material de la técnica anterior aprotinina se suplementará o se reemplazará por un inhibidor de plasmina adecuado de la presente invención. Los procedimientos y materiales para preparar adhesivos de fibrina se describen en la patente de EE.UU. nº 7572769, que se incorpora como referencia en su totalidad. Pueden prepararse también composiciones sin fibrinógeno, como se describen en la patente de EE.UU. nº 6410260, que se incorpora a la presente memoria como referencia en su totalidad.

[0046] La invención proporciona también procedimientos para prevenir la pérdida de sangre en un paciente que comprenden administrar a un paciente necesitado de ello una cantidad eficaz de al menos un compuesto de fórmula I. Dichos pacientes incluyen, pero sin limitación, individuos con afecciones hiperfibrinolíticas o que experimentan trasplantes de órganos o procedimientos quirúrgicos cardíacos, en particular aquellos procedimientos que implican derivación cardiopulmonar. Preferiblemente, el compuesto o compuestos se administran en forma de una composición farmacéutica como se describe anteriormente. Los especialistas en la materia apreciarán que las dosis adecuadas variarán con el compuesto, la vía de administración, la afección para tratar y el estado hemostático del paciente particulares. En general, serán eficaces dosis diarias en el intervalo de 1 a 500 mg. Los niveles de dosificación eficaces pueden determinarse mediante estudios de búsqueda de dosis, que son rutinarios y dentro de las capacidades de los especialistas en la materia. La dosificación puede ser continua (p.ej., por una vía intravenosa), o pueden administrarse dosis unitarias una o más veces al día, según sea necesario para mantener una concentración eficaz *in vivo*. Preferiblemente, se ajusta la dosificación para mantener un nivel sanguíneo medio en el intervalo de 0,01 a 10 µg/ml durante el periodo en el que se desea la prevención de pérdida de sangre.

30

[0047] La invención proporciona además procedimientos para inhibir la plasmina y/o CP humanas en un paciente necesitado de ello, que comprenden administrar a dicho paciente una cantidad eficaz de uno o más compuestos de fórmula I. Se determinan las dosis eficaces como se describe anteriormente.

[0048] La invención proporciona también el uso de un compuesto de fórmula I en la fabricación de medicamentos para la prevención de la pérdida de sangre, la inhibición de plasmina y/o la inhibición de CP, y en la fabricación de un adhesivo de fibrina.

[0049] Se presentan los siguientes ejemplos a modo de ejemplo, y se pretende que ilustren y expliquen la invención con detalle. El alcance de la invención no está limitado a los ejemplos presentados.

EJEMPLOS

HPLC analítica

45

[0050]

Variable	Parámetros
Dispositivo	sistema Shimadzu LC-10 ^a
Columna	columna Phenomenex Luna C ₁₈ 100 Å de 5 µm, 4,6 x 250 mm
Fase móvil	A: TFA al 0,1 % (v/v) en agua; B: TFA al 0,1 % (v/v) en metanol
Procedimiento	gradiente lineal de 1 % de B por min
Caudal	1,0 ml/min
Longitud de onda de detección	UV 220 nm
Temperatura de columna	25 °C
Volumen de inyección	30 µl

HPLC preparativa

50

[0051]

Variable	Parámetros
Dispositivo	sistema Shimadzu LC-8A
Columna	columna Phenomenex Luna C ₈ (2) 100 Å de 5 µm, 30 x 250 mm
Fase móvil	A: TFA al 0,1 % (v/v) en H ₂ O; B: TFA al 0,09 % (v/v) en metanol
Procedimiento	gradiente lineal de 45 % de B en 120 min
Caudal	20,0 ml/min
Longitud de onda de detección	UV 220 nm
Temperatura de columna	30 °C

HPLC quiral

5

[0052]

Dispositivo	sistema HP Agilent 1100
Columna	columna Chiralpak AD-H de 5 µm, 4,6 x 250 mm
Fase móvil	A: heptano; B: isopropanol
Procedimiento	isocrático de 85 % de A/15 % de B, 45 min
Caudal	1,0 ml/min
Longitud de onda de detección	UV 220 nm
Temperatura de columna	25 °C
Volumen de inyección	30 µl

Cromatografía en capa fina

10

[0053] Se efectuó la cromatografía en capa fina (TLC) de los inhibidores finales en placas de gel de sílice (gel de sílice 60 F₂₅₄, Merck, Darmstadt, Alemania) usando los siguientes sistemas de fase móvil (las relaciones de disolvente son en volumen):

15	n-butanol/ácido acético/agua	4/1/1
	n-butanol/ácido acético/acetato de etilo/agua	1/1/1/1
	diclorometano/metanol (DCM/MeOH)	5/1
20	benceno/acetona/ácido acético (BAA)	27/10/05
	éter de petróleo (EP)/acetato de etilo (AE)	1/1

25 Espectroscopia de masas

[0054] Se registraron los espectros de masas en un Esquire HCT ESI-MS (Bruker Daltonics).

Abreviaturas

30

[0055]

4-Amba. 4-amidinobencilamida

35 Ac. acetilo

Boc. *tert*-butiloxicarbonilo

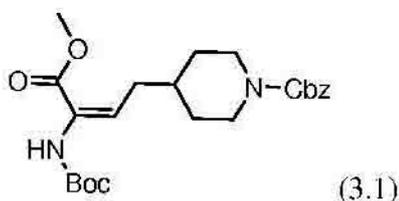
BSA. seroalbúmina bovina

40

Bzls. bencilsulfonilo

Cbz. benciloxicarbonilo

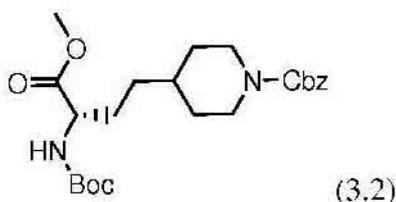
- Cbz(4-NO₂). (4-nitro)benciloxicarbonilo
- DCM. diclorometano
- 5 DGly(TzIpr). ácido (R)-2-amino-5-(1*H*-tetrazol-1-il)pentanoico
- DGly(4-Pipr). ácido (R)-2-amino-5-(piperidin-4-il)pentanoico
- 10 DGly(4-Pyrpr). ácido (R)-2-amino-5-(piridin-4-il)pentanoico
- DGly(4-Pypr). ácido (R,E)-2-amino-5-(piridin-4-il)pent-4-enoico
- DhAla(4-Pip). ácido (R)-2-amino-4-(piperidin-4-il)butanoico
- 15 D/LhAla(4-Pyr). ácido (R,S)-2-amino-4-(piridin-4-il)butanoico
- DPhg. ácido (R)-2-amino-2-fenilacético
- 20 DPpg. ácido (R)-2-amino-5-fenilpentanoico
- DIEA. diisopropiletilamina
- DMF. *N,N*-dimetilformamida
- 25 DMSO. dimetilsulfóxido
- FC. cromatografía ultrarrápida
- 30 HPLC. cromatografía líquida de alta resolución
- m-CPBA. ácido 3-cloroperoxibenzoico
- EM. espectroscopia de masas
- 35 NMM. *N*-metilmorfolina
- PyBop. hexafluorofosfato de benzotriazol-1-il-oxitripirrolidinofosfonio
- 40 TEA. trietilamina
- TFA. ácido trifluoroacético
- THF. tetrahidrofurano
- 45 TLC. cromatografía en capa fina
- TMS-Cl. cloruro de trimetilsililo
- 50 **Síntesis de precursores**
- 2-(*terc*-Butiloxicarbonilamino)-4-(1-benciloxicarbonilpiperidin-4-il)but-2-enoato de (E)-metilo
- [0056]**
- 55



[0057] Se añadió 1,1,3,3-tetrametilguanidina (8 ml, 64 mmol) a una solución de éster trimetílico de Boc- α -fosfonoglicina (20 g, 67 mmol) en THF (80 ml) a -78 °C y se continuó la agitación durante 20 min. Se añadió 2-(4-benciloxicarbonilpiperidin)acetaldehído (16 g, 61 mmol) y se agitó la mezcla a -78 °C durante 1 h y a 0 °C durante 2 h. Se diluyó la solución con acetato de etilo, se lavó con KHSO₄ acuoso al 5 % y salmuera. Se secó la fase orgánica (Na₂SO₄) y se evaporó a vacío. Se purificó el residuo por FC usando gel de sílice 60 (40-63 μ m) y un gradiente de 0-70 % de acetato de etilo en ciclohexano, procurando el compuesto del título. Rendimiento: 24,7 g (93 % de sólido blanco). HPLC anal.: 79,8 % de B; TLC: R_f= 0,58 (EP/AE 1:1); EM calc.: 432,2, encontrada 455,0 (M+Na)⁺.

10 Boc-hAla(4-Pip[Cbz])-OMe

[0058]

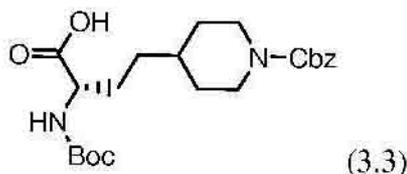


15

[0059] Se dispuso [Rh(COD)(S,S)-Et-duphos]OTf (167 mg, 0,231 mmol) en un matraz de Schlenk de 100 ml previamente establecido bajo atmósfera de argón. Se añadió entonces metanol desgasificado (50 ml) y se agitó la solución durante 5 min. Se dispuso el compuesto 3.1 (10,0 g, 23,1 mmol) en un matraz de Schlenk de 1 l, se disolvió en metanol (450 ml) y se agitó a temperatura ambiente durante 10 min. Se transfirieron entonces tanto el sustrato como la solución catalítica a través de una cánula a un reactor de acero inoxidable de 1 l previamente establecido bajo atmósfera de argón. Se selló el reactor, se purgó con argón en tres ciclos (100/2000 kPa) y, finalmente, se reemplazó el argón por hidrógeno (4 ciclos de 100/2000 kPa). Se estableció la presión del reactor a 400 kPa de hidrógeno y se inició la agitación. Después de 18,5 h, se liberó la presión y se evaporó el disolvente a vacío. Se filtró el residuo a través de una almohadilla corta de SiO₂ (20 g; acetato de etilo/n-heptano= 1:3) y se evaporó el disolvente a vacío, procurando el compuesto del título. Rendimiento: 9,7 g (97 %). HPLC anal.: 78,1 % de B, TLC: R_f= 0,74 (BAA); EM calc.: 434,2, encontrada 435,0 (M+H)⁺, pureza enantiomérica (ee): > 99,5 % (HPLC quiral).

20
25
30 Boc-hAla(4-Pip-[Cbz])-OH

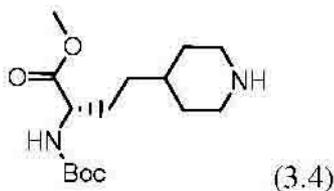
[0060]



35 **[0061]** Se agitó a temperatura ambiente durante 2 h una mezcla del éster metílico 3.2 (1,7 g, 3,9 mmol) en dioxano (10 ml) y LiOH acuoso 1 N (10 ml) y se neutralizó entonces mediante la adición de HCl acuoso 1 N. Se evaporó el disolvente a vacío, se disolvió el residuo en acetato de etilo y se lavó la solución con KHSO₄ acuoso al

5 % y salmuera. Se secó la fase orgánica (Na_2SO_4) y se evaporó a vacío, procurando el compuesto del título. Rendimiento: 1,65 g (97 %, sólido blanco), HPLC anal.: 77,1 % de B, TLC: $R_f = 0,4$ (BAA), EM calc.: 420,2, encontrado: 419,1 (M-H)⁺.

5 Boc-hAla(4-Pip)-OMe

[0062]

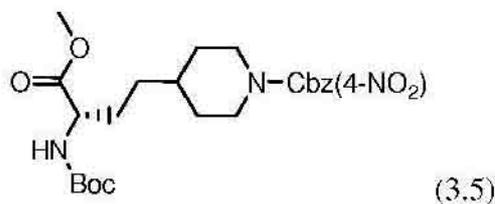
10

[0063] Se añadió Pd/C al 10 % (20 mg) a una solución del compuesto 3.2 (2,2 g, 5 mmol) en metanol (350 ml) a temperatura ambiente bajo atmósfera de nitrógeno. Se reemplazó el nitrógeno por hidrógeno y se agitó la mezcla a temperatura ambiente durante 2 h. Se burbujeó la mezcla con nitrógeno, se filtró a través de Celite™ y se evaporó el disolvente a vacío, procurando el compuesto del título. Rendimiento: 1,5 g (99,8 %, aceite). TLC: $R_f = 0,49$ (4:1:1); EM calc.: 300,2; encontrada 301,0 (M+H)⁺.

15

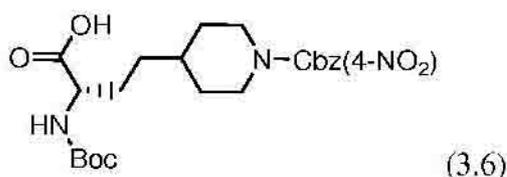
Boc-hAla(4-Pip-[Cbz-4-NO₂])-OMe**[0064]**

20



[0065] Se añadieron cloruro de 4-nitrobenciloxicarbonilo (1,1 g, 4,9 mmol) y TEA (0,85 ml, 6 mmol) a una solución del compuesto 3.4 (1,5 g, 4,9 mmol) en THF (25 ml) a temperatura ambiente y se agitó la mezcla durante 1,5 h manteniendo el pH de la reacción a entre 8-9 mediante la adición de TEA. Se evaporó el disolvente a vacío, se disolvió el residuo en acetato de etilo, se lavó con KHSO_4 acuoso al 5 % y salmuera. Se secó la fase orgánica (Na_2SO_4) y se evaporó a vacío, procurando el compuesto del título. Rendimiento: 2,35 g (100 %, aceite). HPLC anal.: 76,7 % de B; TLC: $R_f = 0,89$ (5:1); EM calc.: 479,2, encontrada 480,0 (M+H)⁺.

25

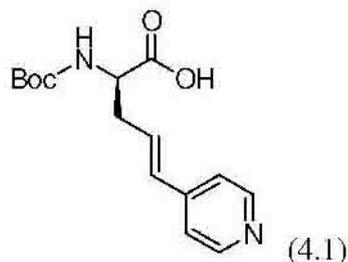
30 Boc-hAla(4-Pip-[Cbz-4-NO₂])-OH**[0066]**

35

[0067] Se convirtió el compuesto 3.5 (2,5 g, 5,2 mmol) en el compuesto del título según el procedimiento descrito para el compuesto 3.3. Rendimiento: 2,1 g (85 %). HPLC anal.: 73,8 % de B; TLC: Rf= 0,6 (5:1); EM calc.: 465,2, encontrada 465,9 (M+H)⁺.

5 Boc-DGly(4-Pyrpren)-OH

[0068]



10

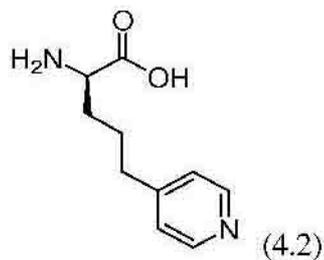
[0069] Se añadió una solución de NaHCO₃ (1,7 g, 20,5 mmol) en agua (20 ml) a una solución de Boc-alilglicina (1,65 g, 7,7 mmol) y 4-yodopiridina (1,38 g, 6,75 mmol) en DMF (40 ml) y se incubó la mezcla a 70 °C durante 10 min. Se añadió acetato de paladio (160 mg, 0,7 mmol) y se agitó la mezcla a 70 °C durante 4 h y a temperatura ambiente durante una noche. Se separó el catalizador por filtración y se evaporó el disolvente a vacío.

15 La purificación por FC usando gel de sílice 60 (40-63 μm) y un gradiente de 0-38 % de metanol en DCM procuró el compuesto del título. Rendimiento: 2,1 g (94,6 %, sólido amarillo). HPLC anal.: 36,1 % de B; TLC: Rf= 0,45 (1:1:1:1); EM calc.: 292,1, encontrada 292,9 (M+H)⁺.

H-DGly(4-Pypr)-OH x AcOH

20

[0070]

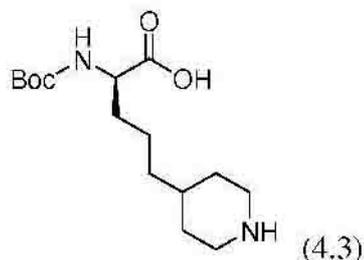


25 **[0071]** Se añadió Pd/C (500 mg) a una solución del compuesto 4.1 (5 g, 17 mmol) en ácido acético al 90 % (300 ml) bajo atmósfera de argón. Se reemplazó el argón por hidrógeno y se agitó la mezcla a temperatura ambiente durante una noche. Se separó por filtración el catalizador y se evaporó el disolvente a vacío. Se disolvió el intermedio oleoso en HCl 1 N en ácido acético (5 ml) y se agitó a temperatura ambiente durante 1 h. Se evaporó el disolvente a vacío y se disolvió el residuo en una pequeña cantidad de metanol. La adición de dietiléter y filtración

30 procuraron el compuesto del título. Rendimiento: 3,8 g (83,1 %, sólido blanco). TLC: Rf= 0,12 (1:1:1:1); EM calc.: 194,2, encontrada 194,6 (M+H)⁺.

Boc-DGly(4-Pippr)-OH x AcOH (AW 3-34)

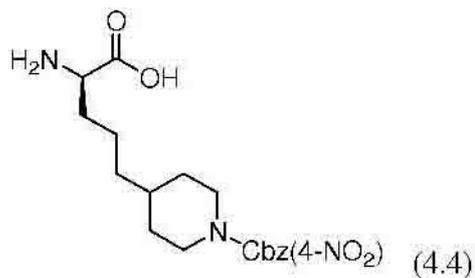
35 **[0072]**



[0073] Se añadió Pt_2O al 10 % (200 mg) a una solución del compuesto 4.1 (2 g, 6,8 mmol) en ácido acético al 90 % (50 ml) y etanol (100 ml) bajo atmósfera de argón. Se reemplazó el argón por hidrógeno y se agitó la mezcla a temperatura ambiente durante una noche. Se separó el catalizador por filtración, se evaporó el disolvente a vacío y se disolvió el residuo en una pequeña cantidad de metanol. La adición de dietiléter y filtración procuraron el compuesto del título. Rendimiento: 1,5 g (62,1 %, sólido amorfo), TLC: $R_f = 0,43$ (1:1:1:1); EM calc.: 300,2; encontrada 301,1 ($M+H$)⁺.

10 H-DGly(4-Pippr[Cbz -4- NO_2])-OH x HCl

[0074]



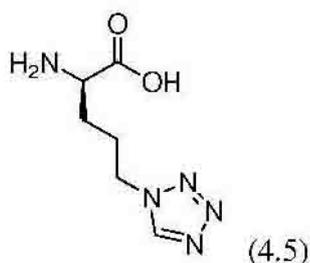
15

[0075] Se añadió cloruro de 4-nitrobenzilo carbonilo (120 mg, 0,55 mmol) a una mezcla de compuesto 4.3 (200 mg, 0,55 mmol) en NaOH acuoso 1 N (2 ml, 2 mmol), dioxano (8 ml) y agua (5 ml) a 0° C con agitación. Se mantuvo el pH a 8-9 mediante la adición de NaOH acuoso 1 M. Se continuó la agitación a temperatura ambiente durante 2 h. Se retiró el disolvente a vacío y se repartió el residuo entre acetato de etilo y $KHSO_4$ acuoso al 5 %. Se lavó la fase orgánica con $KHSO_4$ acuoso al 5 % y salmuera, se secó (Na_2SO_4) y se evaporó a vacío. Se disolvió el intermedio oleoso en HCl 1 N en ácido acético (5 ml) y se agitó a temperatura ambiente durante 1 h. Se evaporó el disolvente a vacío y se disolvió el residuo en una pequeña cantidad de metanol. La adición de dietiléter y filtración procuraron el compuesto del título. Rendimiento: 79 mg (41,3 %, sólido blanco). HPLC anal.: 55,0 % de B; EM calc.: 379,2, encontrada 380,0 ($M+H$)⁺.

20

25 H-DGly(TzIpr)-OH

[0076]

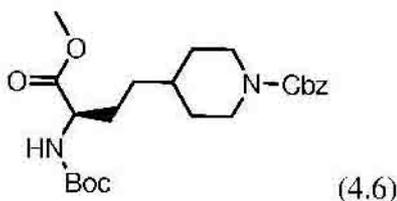


30

[0077] Se añadieron azida de sodio (1,5 g, 23 mmol) y ortoformiato de trimetilo (9,8 ml, 90 mmol) a una solución de Cbz-DOrn-OH (1,33 g, 5 mmol) en ácido acético (40 ml) y se agitó la mezcla a 80 °C durante 2 h. Se evaporó el disolvente a vacío y se disolvió el residuo en etanol (3 ml). Se añadió NaOH acuoso 2 N y se agitó la mezcla a temperatura ambiente durante 15 min. Se ajustó el pH de la mezcla de reacción a 3 mediante la adición de HCl acuoso 2 N seguido de extracción con acetato de etilo. Se separó la fase orgánica, se secó (NaSO₄) y se evaporó el disolvente a vacío. Se disolvió el intermedio bruto en metanol (75 ml) y etanol (75 ml), seguido de la adición de Pd/C al 10 % (50 mg) bajo atmósfera de argón. Se reemplazó el argón por hidrógeno y se agitó la mezcla a temperatura ambiente durante una noche. Se separó el catalizador por filtración y se lavó con agua. Se evaporó el disolvente orgánico a vacío y se liofilizó el residuo, procurando el compuesto del título. Rendimiento: 740 mg (80 %, polvo blanco). EM calc.: 185,2, encontrada 186,1 (M+H)⁺.

Boc-DhAla(4-Pip-[Cbz])-OMe

15 **[0078]**

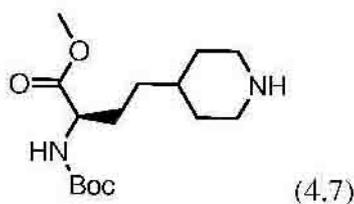


[0079] Se preparó el compuesto del título a partir del compuesto 3.1 (10,0 g, 23,1 mmol) según el procedimiento descrito para el compuesto 3.2, usando [Rh(COD)(R,R)-Et-duphos]OTf como catalizador. Rendimiento: 9,8 g (98 %, aceite). HPLC anal.: 78,1 % de B; TLC: Rf= 0,74 (BAA); EM calc.: 434,2, encontrada 435,0 (M+H)⁺. Pureza enantiomérica (ee): > 99,5 % (HPLC quiral).

Boc-DhAla(4-Pip)-OMe

25

[0080]

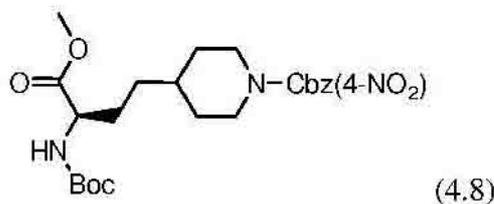


[0081] Se convirtió el compuesto 4.6 (3,2 g, 7,3 mmol) en el compuesto del título según el procedimiento descrito para el compuesto 3.4. Rendimiento: 2 g (92 %, aceite). TLC: Rf= 0,67 (1:1:1:1); EM calc.: 300,2, encontrada 301,1 (M+H)⁺.

Boc-DhAla(4-Pip-[Cbz-4-NO₂])-OMe

35

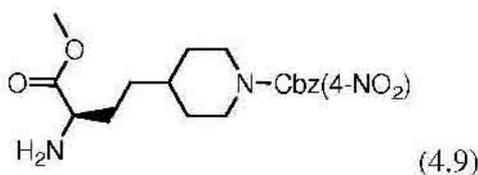
[0082]



[0083] Se convirtió el compuesto 4.7 (2 g, 6,7 mmol) en el compuesto del título según el procedimiento descrito para el compuesto 3.5. Rendimiento: 3,2 g (100 %). HPLC anal.: 76,5 % de B; TLC: EM calc.: 479,2, 5 encontrada 478,6 (M-H)⁻.

H-DhAla(4-Pip-[Cbz-4-NO₂])-OMe x HCl

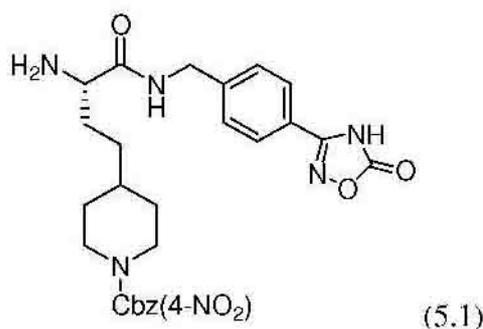
[0084]
10



[0085] Se añadió HCl 1 N en ácido acético (15 ml) a una solución del compuesto 4.8 (3,2 g, 6,7 mmol) en ácido acético (7 ml) y se agitó la mezcla a temperatura ambiente durante 1 h. Se evaporó parcialmente el disolvente a vacío, seguido de la adición de dietiléter. Se separó el sólido por filtración, se lavó con dietiléter y se secó a vacío, procurando el compuesto del título. Rendimiento: 2,2 g (81 %, sólido blanco). HPLC anal.: 52,8 % de B; EM calc.: 379,2, encontrada 380,0 (M+H)⁺.

H-hAla(4-Pip-[Cbz-4-NO₂])-4-oxadiazolonbencilamida x TFA

[0086]
20



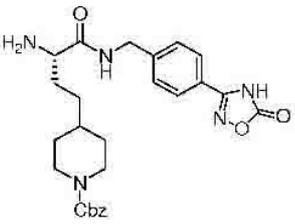
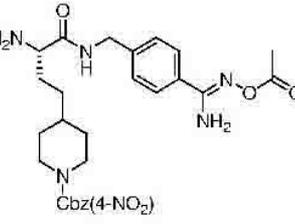
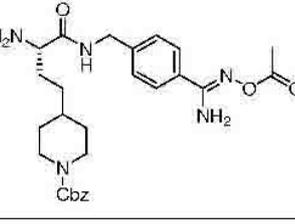
25 **[0087]** Se añadieron NMM (0,37 ml, 3,7 mmol) y clorofornato de isobutilo (0,48 ml, 3,7 mmol) a una solución del compuesto 3.6 (1,7 g, 3,7 mmol) en DMF (10 ml) a -20 °C. Se agitó la mezcla durante 10 min y se añadieron HCl de 3-[4-(aminometil)fenil]-1,2,4-oxadiazol-5-ona (1,2 g, 4,1 mmol; CAS 1097196-63-8, WO/2009/005076) y NMM (0,41 ml, 4,1 mmol). Se agitó la mezcla a -15 °C durante 1 h manteniendo el pH a entre 8-9 mediante la adición de NMM. Se agitó la mezcla de reacción a temperatura ambiente durante una noche y se evaporó el disolvente a vacío.

30 Se disolvió el residuo en acetato de etilo y se lavó consecutivamente con KHSO₄ acuoso al 5 %, NaHCO₃ acuoso saturado y salmuera. Se secó la fase orgánica (Na₂SO₄) y se evaporó el disolvente a vacío. Se suspendió el producto obtenido en DCM (5 ml), se añadió TFA (3 ml) y se agitó la mezcla a temperatura ambiente durante 1 hora.

Se retiró parcialmente el disolvente a vacío, seguido de la adición de dietiléter. Se separó el producto por filtración, se lavó con dietiléter y se secó a vacío, procurando el compuesto del título. Rendimiento: 1,8 g (74 %, sólido blanco). HPLC anal.: 59,2 % de B; EM calc.: 538,2, encontrada 539,0 (M+H)⁺.

- 5 **[0088]** Se prepararon los compuestos enumerados en la Tabla 2 según el procedimiento descrito para el compuesto 5.1:

Tabla 2

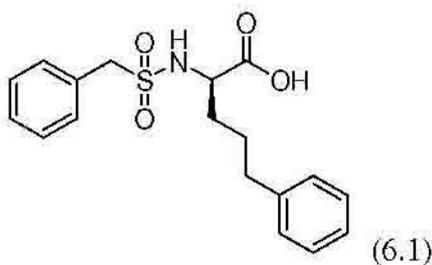
Nº	Estructura	Precusores	EM calculada/encontrada	% de B de HPLC anal
5.2		a) 3.3 y b) CAS 1097196-63-8	493.5/494.1 (M+H) ⁺	60,2
5.3		a) 3.6 y b) CAS 380237-43-4	554.5/555.1 (M+H) ⁺	52,8
5.4		a) 3.3 y b) CAS 380237-43-4	509.6/510.1 (M+H) ⁺	57,2

10

Bzls-DPpg-OH

[0089]

15



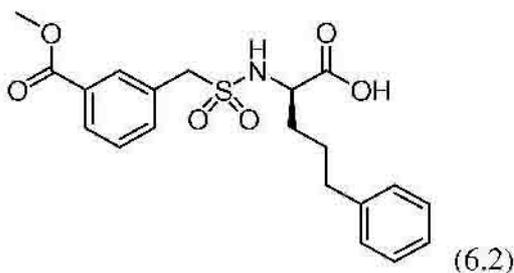
- [0090]** Se añadieron dioxano (100 ml) y agua (30 ml) a una mezcla de DPpg (3 g, 15 mmol) en NaOH acuoso 1 M (15 ml, 15 mmol) en paralelo a una solución de cloruro de Bzls (4,4 g, 23 mmol) en dioxano (10 ml) y NaOH acuoso 1 M (25 ml, 25 mmol) a 0 °C durante un periodo de 60 min. Se mantuvo el pH a entre 8-9 mediante la adición de NaOH acuoso 1 M. Se agitó la mezcla a temperatura ambiente durante una noche. Se añadieron cloruro de Bzls

20

(6 g, 31 mmol) y NaOH acuoso 1 M (31 ml, 31 mmol) adicionales a 0 °C en porciones y se mantuvo el pH a entre 8-9 mediante la adición de NaOH acuoso 1 M. Se continuó la agitación hasta que no se detectó más material de partida por TLC. Se evaporó el disolvente a vacío y se repartió el residuo entre acetato de etilo y KHSO₄ acuoso al 5 %. Se lavó la fase orgánica con KHSO₄ al 5 % y salmuera, se secó (Na₂SO₄) y se evaporó a vacío, procurando el 5 compuesto del título. Rendimiento: 4 g (75 %, sólido blanco). HPLC anal.: 69,3 % de B; EM calc.: 347,1, encontrada 346,3 (M-H).

(3-MeOOC)Bzls-DPpg-OH

10 [0091]



15 [0092] Se añadieron TMS-Cl (2 ml, 15,7 mmol) y DIEA (2,6 ml, 15 mmol) a una suspensión de DPpg (1,3 g, 6,7 mmol) en DCM seco (90 ml) a temperatura ambiente y se calentó la mezcla a reflujo durante 1 h con agitación. Se enfrió la solución transparente a 0 °C y se añadieron cloruro de (3-MeOOC)Bzls (2 g, 8 mmol) y DIEA (2,6 ml). Se agitó la mezcla a 0 °C durante 15 min y a temperatura ambiente durante 1,5 h. Se evaporó el disolvente a vacío y se disolvió el residuo en NaHCO₃ acuoso semisaturado (700 ml), seguido de extracción con acetato de etilo. Se acidificó la fase acuosa con HCl acuoso (pH de aproximadamente 2-3) y se extrajo con acetato de etilo. Se lavó la 20 fase orgánica con KHSO₄ acuoso al 5 % y salmuera, se secó (Na₂SO₄) y se evaporó a vacío, procurando el compuesto del título. Rendimiento: 2,4 g (88 %, sólido amarillo amorfo). HPLC anal.: 69,2 % de B; EM calc.: 405,1, encontrada 404,3 (M-H).

[0093] Se prepararon los compuestos enumerados en la Tabla 3 según el procedimiento descrito para el 25 compuesto 6.1 o 6.2:

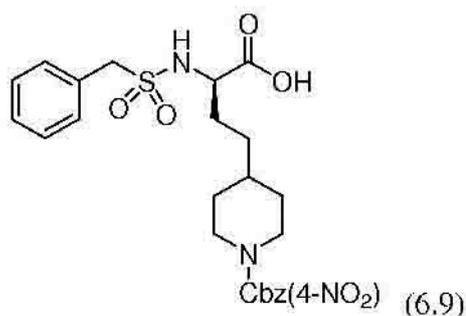
Tabla 3

Nº	Estructura	Precusores/notas	EM calculada/encontrada	% de B de HPLC anal.
6.3		Sintetizado según el procedimiento descrito para el compuesto 6.1 usando: a) Bzls-Cl y b) 4.5	339,1/340,2 (M+H) ⁺	38,6
6.4		Sintetizado según el procedimiento descrito para el compuesto 6.1 usando: a) Bzls-Cl y b) 4.2 purificación por FC	348,1/348,9 (M+H) ⁺	33,6

6.5		Sintetizado según el procedimiento descrito para el compuesto 6.1 usando: a) Bzls-Cl y b) D,LhAla(4-Pyr) purificación por FC	334,1/334,9 (M+H) ⁻	31,2
6.6		Sintetizado según el procedimiento descrito para el compuesto 6.1 usando: a) Bzls-Cl y b) 4.4	519,2/520,0 (M+H) ⁺	75,9
6.7		Se hidrogenó 6.6 según el procedimiento descrito para el compuesto 3.4	354,2/355,0 (M+H) ⁺	35,7
6.8		Sintetizado según el procedimiento descrito para el compuesto 6.2 usando: a) Bzls-Cl y b) DPhg	305,1/306,2 (M+H) ⁺	64,1

Bzls-DhAla(4-Pip[Cbz(4-NO₂)]-OH**[0094]**

5



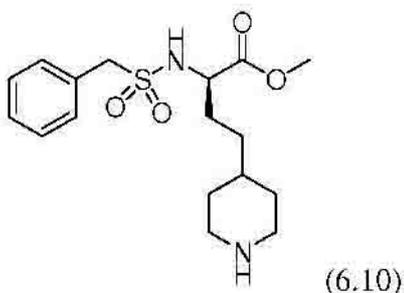
[0095] Se añadió cloruro de Bzls (1,1 g, 5,8 mmol) a una solución del compuesto 4.9 (2,2 g, 5,3 mmol) y DIEA (2 ml, 11,7 mmol) en DMF (40 ml) a 0 °C con agitación, y se mantuvo el pH a entre 8-9 mediante la adición de DIEA.

10 Se agitó la mezcla a temperatura ambiente durante una noche y se evaporó el disolvente a vacío. Se repartió el residuo entre acetato de etilo y KHSO₄ acuoso al 5 %, se lavó la fase orgánica con KHSO₄ acuoso al 5 % y salmuera, se secó (Na₂SO₄) y se evaporó a vacío. Se usó la mayor parte del residuo para la síntesis de compuesto 6.10. Se hidrolizó la parte restante del residuo (100 mg) según el procedimiento descrito para el compuesto 3.3, procurando el compuesto del título. Rendimiento: 80 mg. HPLC anal.: 73,9 % de B; EM calc.: 519,2, encontrada

15 520,0 (M+H)⁺.

Bzls-DhAla(4-Pip)-OMe

[0096]

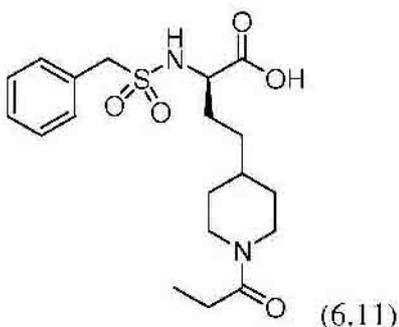


5 [0097] Se realizó la hidrogenólisis de la mayor parte del residuo de 6.9 según el procedimiento descrito para el compuesto 3.4 y en presencia de HCl 1 N acuoso (5 ml). Se disolvió el residuo en una pequeña cantidad de metanol. La adición de dietiléter y filtración procuraron el compuesto del título. Rendimiento: 2,3 g (> 100 %, sólido rojo claro). HPLC anal.: 39,8 % de B; EM calc.: 354,2, encontrada 355,0 (M+H)⁺.

10 [0098] Se usó 6.10 bruto para las reacciones posteriores con cloruros de ácido, isocianatos o anhídridos, p.ej. como se describe para el compuesto 6.11 y se resume en la Tabla 4 siguiente.

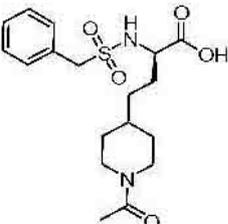
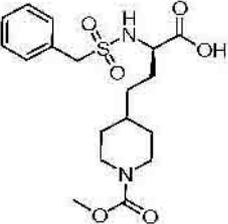
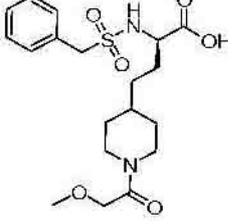
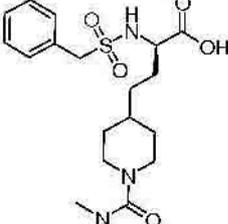
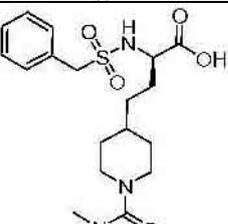
Bzls-DhAla(4-Pip[CO-Et])-OH

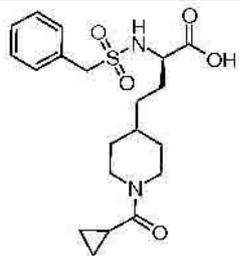
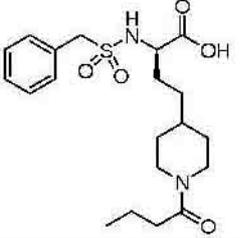
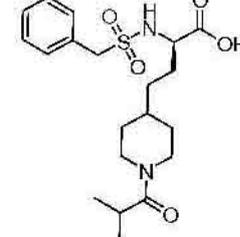
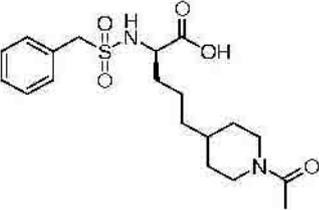
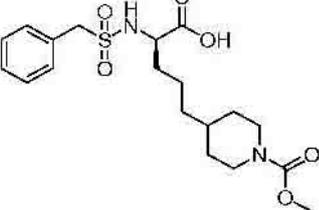
15 [0099]



20 [0100] Se añadió cloruro de propionilo (0,02 ml, 0,23 mmol) a una solución del compuesto 6.10 (100 mg, 0,21 mmol) y DIEA (0,08 ml, 0,46 mmol) en THF (5 ml) a 0 °C con agitación y se mantuvo el pH a entre 8-9 mediante la adición de DIEA. Se agitó la mezcla a temperatura ambiente durante 3 h y se evaporó el disolvente a vacío. Se repartió el residuo entre acetato de etilo y solución de KHSO₄ al 5 %. Se lavó la fase orgánica con KHSO₄ acuoso al 5 % y salmuera, se secó (Na₂SO₄) y se evaporó a vacío. Se obtuvo el compuesto del título mediante hidrólisis del intermedio bruto según el procedimiento descrito para el compuesto 3.3. Rendimiento: 74 mg (88 %, aceite). HPLC 25 anal.: 59,3 % de B, EM calc.: 396,5, encontrada 397,3 (M+H)⁺.

Tabla 4:

Nº	Estructura	Precusores/notas	EM calculada/encontrada	% de B de HPLC anal.
6.12		a) 6.10 y b) anhídrido acético	382,2/381,0 (M-H) ⁻	60,2
6.13		a) 6.10 y b) cloroformiato de metilo	398,1/396,9 (M-H) ⁻	58,3
6.14		a) 6.10 y b) cloruro de metoxiacetilo	412,1/411,1 (M-H) ⁻	54,1
6.15		a) 6.10 y b) isocianato de metilo	397,2/398,2 (M+H) ⁺	55,3
6.16		a) 6.10 y b) cloruro de dimetilcarbamoilo	411,2/409,9 (M-H) ⁻	57,2

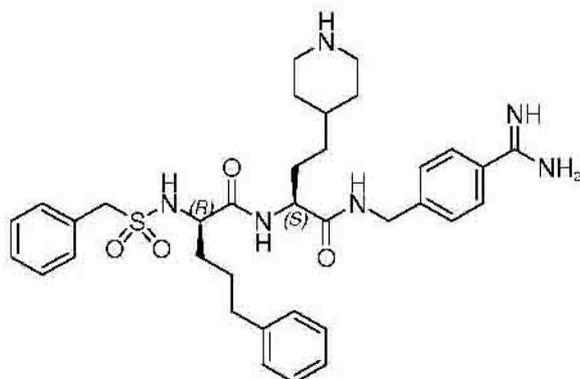
6.17		a) 6.10 y b) cloruro de ciclopropanocarbonilo	408,2/409,1 (M+H) ⁺	57,3
6.18		a) 6.10 y b) cloruro de butanoilo	410,2/409,1 (M-H) ⁻	63,7
6.19		a) 6.10 y b) cloruro de isobutanoilo	410,2/411,1 (M+H) ⁺	61,2
6.20		a) 6.7 y b) anhídrido acético	396,2/397,1 (M+H) ⁺	63,8
6.21		a) 6,7 y b) cloroformiato de metilo	411,4/412,2 (M-H) ⁻	71,1

Síntesis de los inhibidores

Bzls-DPpg-hAla(4-Pip)-4-Amba x 2TFA

5

[0101]

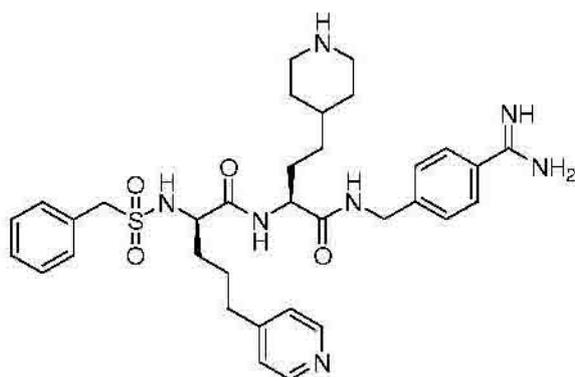


(L.1)

[0102] Se añadieron PyBop (265 mg, 0,5 mmol) y DIEA (220 μ l, 1,2 mmol) a una solución del compuesto 6.1 (160 mg, 0,46 mmol) y el compuesto 5.2 (280 mg, 0,46 mmol) en DMF seca (4 ml) a 0 °C. Se agitó la mezcla a 0 °C durante 15 min y a temperatura ambiente durante 1,5 h. Se evaporó el disolvente a vacío, se disolvió el residuo en acetato de etilo y se lavó consecutivamente con KHSO_4 acuoso al 5 %, NaHCO_3 acuoso saturado y salmuera. Se secó la fase orgánica (Na_2SO_4) y se evaporó el disolvente a vacío. Se disolvió el intermedio bruto en ácido acético al 90 % (80 ml) y se añadió Pd/C al 10 % (50 mg) bajo atmósfera de nitrógeno. Se reemplazó el nitrógeno por hidrógeno y se agitó la mezcla a temperatura ambiente durante una noche. Se separó por filtración el catalizador y se evaporó el disolvente a vacío. Se añadió HBr 1 N en ácido acético (3 ml) y se agitó la mezcla a temperatura ambiente durante 1 hora. Se añadió dietiléter, se aisló el producto bruto mediante filtración y se purificó por HPLC en fase inversa. La liofilización procuró el compuesto del título. Rendimiento: 125 mg (31 %, polvo blanco). HPLC anal.: 54,7 % de B; EM calc.: 646,3, encontrada 647,2 (M+H)⁺.

15 Bzls-DGly(4-Pyrpr)-hAla(4-Pip)-4-Amba x 3TFA

[0103]



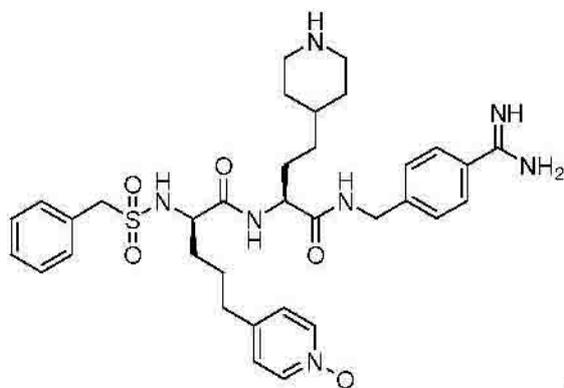
(L.2)

20

[0104] Se realizó el acoplamiento del compuesto 6.4 (260 mg, 0,56 mmol) y el compuesto 5.1 (365 mg, 0,56 mmol) según el procedimiento descrito para el compuesto 1.1. Se obtuvo el intermedio bruto después de tratamiento con NaHCO_3 acuoso saturado y filtración. La hidrogenólisis según el procedimiento descrito para el compuesto 1.1 procuró el compuesto del título. Rendimiento: 215 mg (39 %, polvo blanco). HPLC anal.: 31,6 % de B; EM calc.: 647,3, encontrada 648,1 (M+H)⁺.

Bzls-DGly(4-Pyrpr[NO])-hAla(4-Pip)-4-Amba x 2TFA

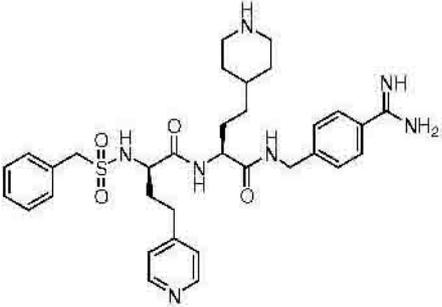
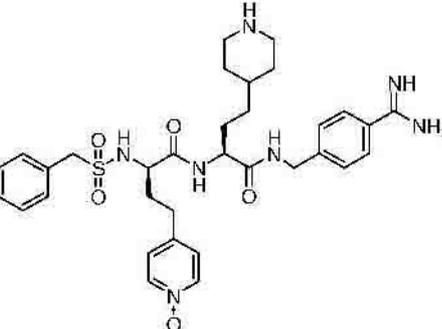
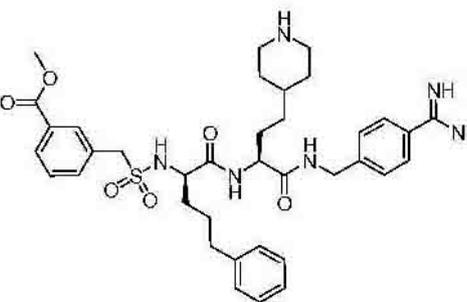
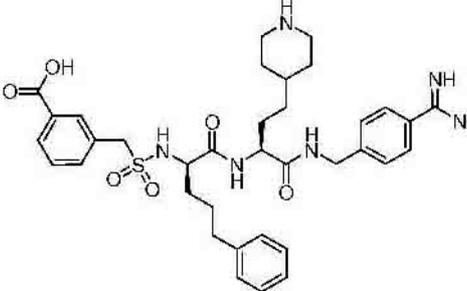
[0105]

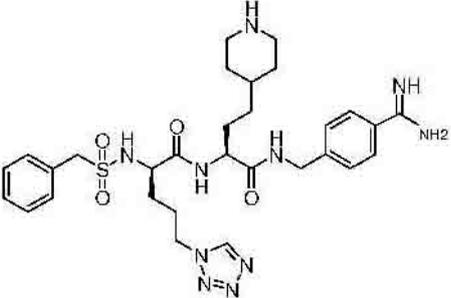
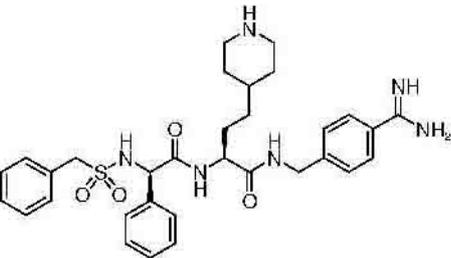
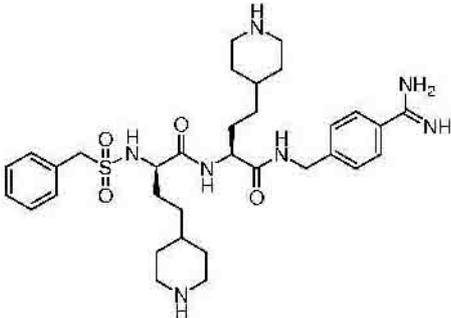
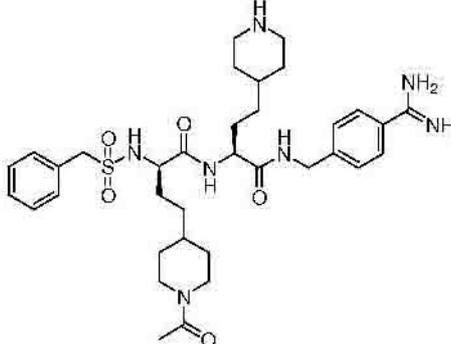


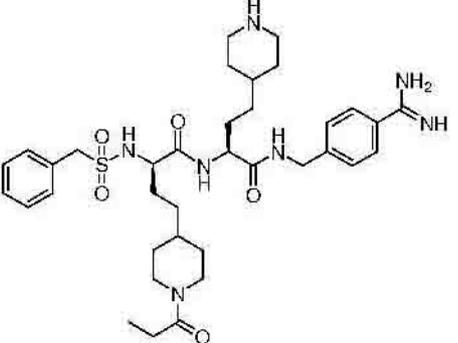
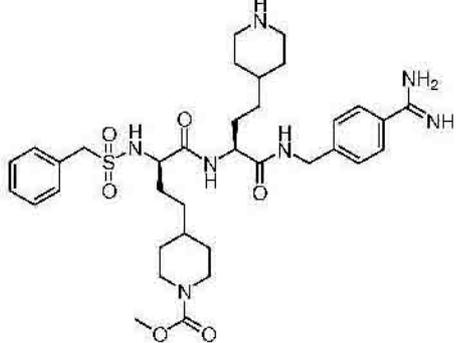
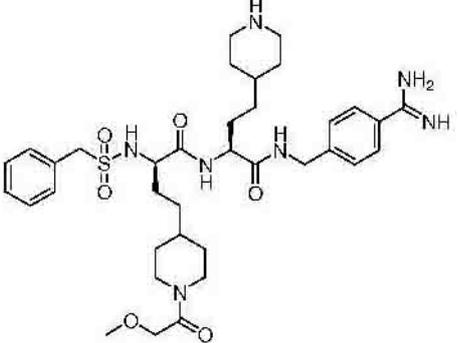
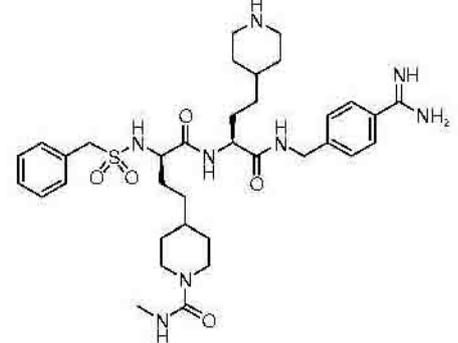
[0106] Se realizó el acoplamiento del compuesto 6.4 y el compuesto 5.1 como se describe anteriormente. Se
 5 añadió m-CPBA (27 mg, 0,15 mmol) a una solución del producto bruto (100 mg) en DCM (10 ml) y se agitó la mezcla
 a temperatura ambiente durante 4 h. Se añadió m-CPBA adicional (15 mg, 0,075 mmol) y se continuó la agitación
 durante 1 h. Se añadió hidrogenosulfito de sodio acuoso al 39 % (0,2 ml) y se evaporó el disolvente a vacío. Se
 disolvió el residuo en acetato de etilo y se lavó con NaHCO₃ acuoso saturado y salmuera. Se secó la fase orgánica
 (Na₂SO₄) y se evaporó el disolvente a vacío. Se hidrogenó y purificó el intermedio protegido según el procedimiento
 10 descrito para 1.1. Se aisló el producto bruto por filtración y se purificó por HPLC en fase inversa. La liofilización
 procuró el compuesto del título. Rendimiento: 7 mg. HPLC anal. 33,4 % de B; EM calc.: 663,3, encontrada 664,1
 (M+H)⁺.

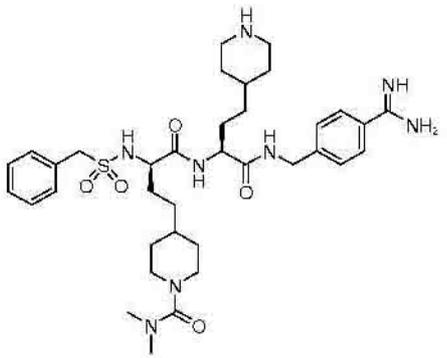
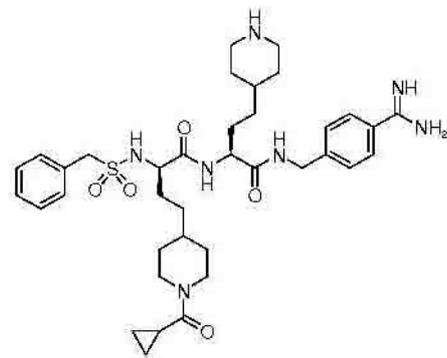
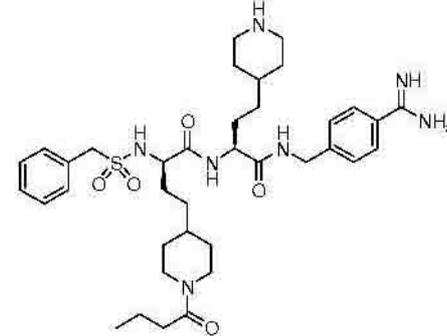
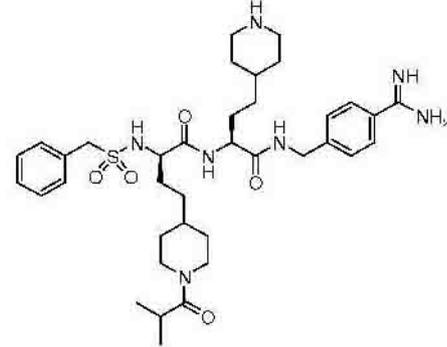
[0107] Se prepararon los compuestos enumerados en la Tabla 5 según el procedimiento descrito para el
 15 compuesto 1.1:

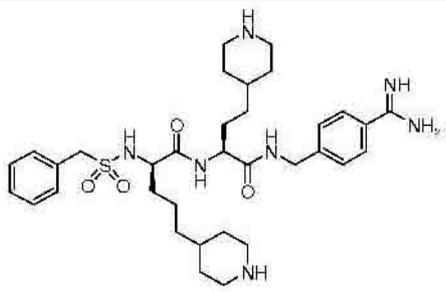
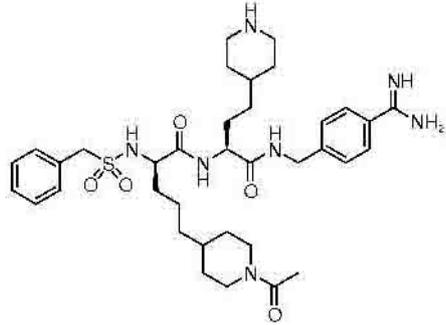
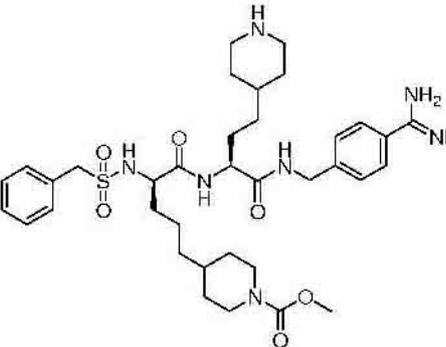
Tabla 5

Nº	Estructura	Precusores/notas	EM calculada/encontrada	% B de HPLC
1.7		a) 5.1 y b) 6.5 Se separaron los diastereómeros por HPLC preparativa	633,3/634,1 (M+H) ⁺	29,7
1.9		Sintetizado a partir del compuesto 1.7 según un procedimiento descrito para el compuesto 1.8	649,3/650,1 (M+H)	31,2
1.4		a) 5.1 y b) 6.2	704,3/705,2 (M+H) ⁺	51,5
1.3		Se hidrolizó el compuesto 1.4 según el procedimiento descrito para el compuesto 3.3	690,3/691,2 (M+H) ⁺	47,1

1.5		a) 5.1 y b) 6.3	638,3/639,1 (M+H) ⁺	37,1
1.6		a) 5.1 y b) 6.8	604,7/605,2 (M+H) ⁺	41,9
2.9		a) 5.3 y b) 6.9	639,4/640,2 (M+H) ⁺	34,1
2.1		a) 5.4 y b) 6.12	681,4/682,1 (M+H) ⁺	43,3

2.2		a) 5.3 y b) 6.11	695,8/696,2 (M+H) ⁺	46,4
2.3		a) 5.1 y b) 6.13	697,4/698,2 (M+H) ⁺	44,7
2.4		a) 5.3 y b) 6.14	711,4/712,4 (M+H) ⁺	43,4
2.5		a) 5.1 y b) 6.15	696,4/697,7 (M+H) ⁺	42,6

2.6		a) 5.1 y b) 6.16	710,4/711,2 (M+H) ⁺	43,4
2.10		a) 5.3 y b) 6.17	707,4/708,2 (M+H) ⁺	44,5
2.12		a) 5.3 y b) 6.18	709,4/710,2 (M+H) ⁺	50,1
2.11		a) 5.2 y b) 6.19	709,4/710,2 (M+H) ⁺	50,5

2.8		a) 5.3 y b) 6.6	653,4/645,3 (M+H) ⁺	35,8
2.7		a) 5.3 y b) 6.20	695,4/696,0 (M+H) ⁺	45,7
2.13		a) 5.3 y b) 6.21	711,4/712,2 (M+H) ⁺	52,8

Determinación de las constantes de inhibición para plasmina humana (plasmina h) y caliceína plasmática humana (CP h)

- 5 **[0108]** Se determinó el efecto inhibitor de las enzimas individuales en analogía con un procedimiento dado a conocer anteriormente (Stürzebecher y col., *J. Med. Chem.*, 40, 3091-3099 (1997)). Se llevaron a cabo las reacciones para determinar la inhibición de plasmina humana y caliceína plasmática humana en la siguiente mezcla a 25 °C:
- 10 **[0109]** 200 µl de TBS (trishidroximetilaminometano 0,05 M; NaCl 0,154 M, 2 % de etanol, pH 8,0).
- [0110]** 25 µl de sustrato (tosil-Gly-Pro-Lys-pNA 4 mM, 2 mM y 1 mM = Chromozym PL de LOXO para plasmina y H-D-Pro-Phe-Arg-pNA 3 mM, 1,5 mM y 1 mM= S2302 de Chromogenix para CP, disuelto en H₂O).
- 15 **[0111]** 2 µl de solución de compuesto de ensayo en DMSO/agua al 50 % v/v.
- [0112]** 50 µl de solución enzimática (plasmina de Calbiochem: 1,7 mU/ml en NaCl 0,154 M + 0,1 % de BSA m/v; caliceína plasmática de Enzyme Research Lab.: 62 ng/ml en NaCl 0,154 M + 0,1 % de BSA m/v).
- 20 **[0113]** Para una cinética de orden cero, se detuvo la reacción después de 20 min añadiendo 15 µl de ácido acético (80 % v/v) y se determinó la absorción a 405 nm usando un lector de microplacas (Multiscan Ascent™ de Thermo). En el caso de una cinética de pseudoprimer orden, se determinaron las velocidades de reacción en estado de equilibrio mediante el registro continuo del cambio de absorbancia a 405 nm. Se calcularon los valores de K_i

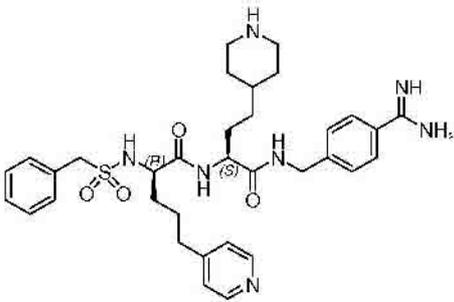
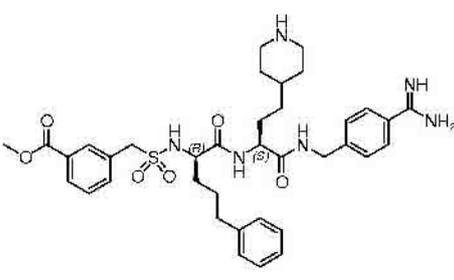
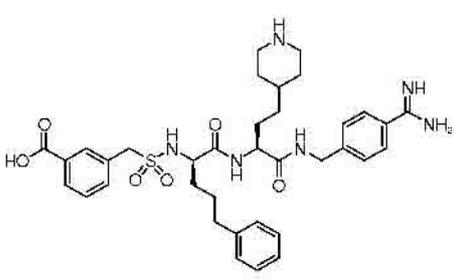
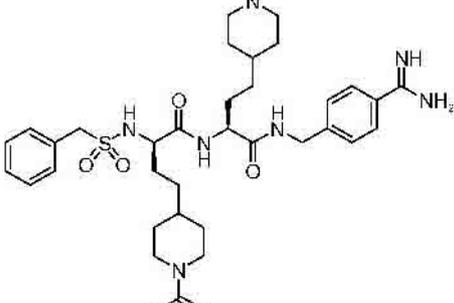
mediante ajuste paramétrico de acuerdo con la ecuación de velocidades para inhibición competitiva usando el software GraFit, versión 4. Los valores de K_i son la media de al menos tres determinaciones.

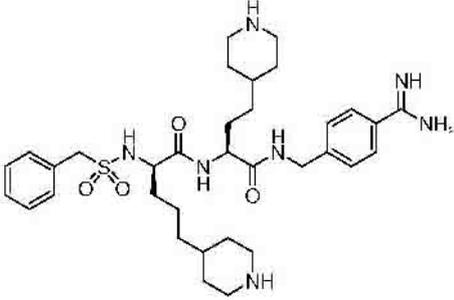
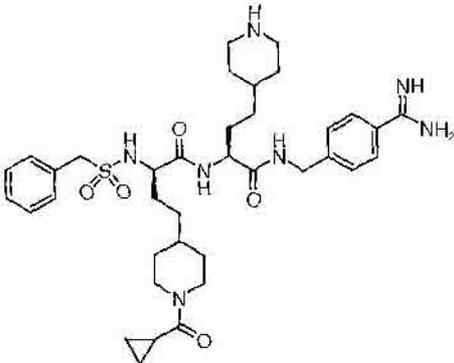
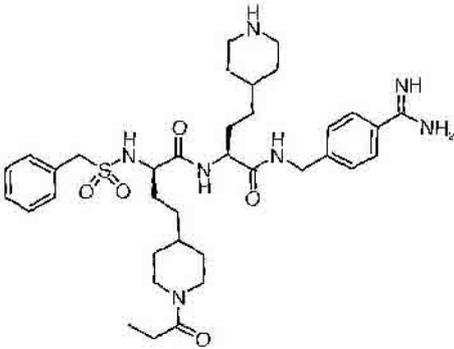
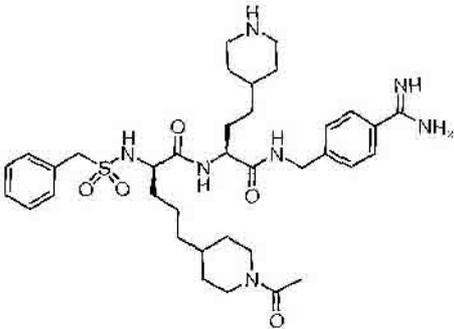
Determinación de las constantes de inhibición para las enzimas de referencia

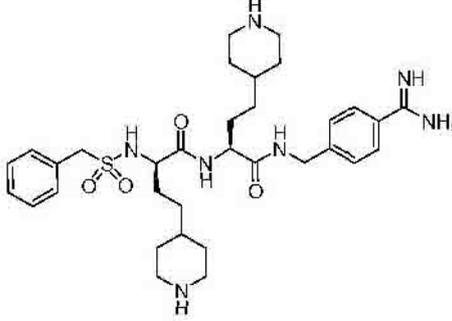
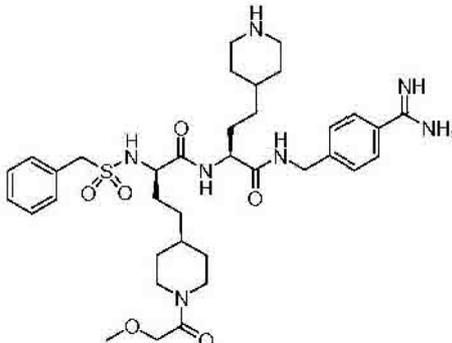
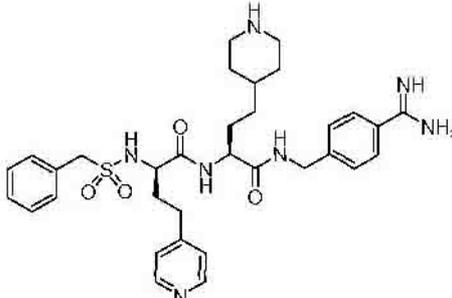
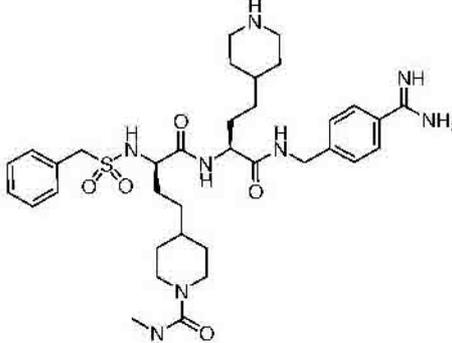
- 5 **[0114]** Proteína C activada humana (PCa h): Se determinó la inhibición de la PCa humana mediante el procedimiento descrito en [0092]-[0098] usando proteína C activada humana de Enzyme Research Laboratories a 2,2 nM y H-D-Lys(Cbo)-Pro-Arg-pNA (Pefachrome PCa) a 2 mM, 1 mM y 0,5 mM como sustrato; se reseñan los resultados como valores de K_i (nanomolar).
- 10 **[0115]** Calicreína urinaria humana (KKu h): Se determinó la inhibición de la KKu mediante el procedimiento descrito en [0092]-[0098] usando calicreína urinaria humana de Lee Biosolutions a 7,5 nM y H-D-Val-Leu-Arg-pNA (S-2266) a 1 mM, 0,5 mM y 0,25 mM como sustrato; se reseñan los resultados como valores de K_i (nanomolar).
- 15 **[0116]** Subcomponente "s" del componente de complemento 1 humano (C1s h): Se determinó la inhibición del C1s humano mediante el procedimiento descrito en [0092]-[0098] usando el componente de complemento C1s activado humano nativo de Calbiochem a 29 nM y Val-Ser-Arg-pNA (S2314) a 8 mM, 6 mM y 4 mM como sustrato; se reseñan los resultados como valores de K_i (nanomolar).
- 20 **[0117]** Subcomponente "r" del componente de complemento 1 humano (C1r h): Se determinó la inhibición del C1r humano mediante el procedimiento descrito en [0092]-[0098] usando el componente de complemento C1r activado humano nativo de Calbiochem a 100 nM y Val-Ser-Arg-pNA (S2314) a 16 mM, 12 mM y 8 mM como sustrato; se reseñan los resultados como valores de K_i (nanomolar).
- 25 **[0118]** Factor IIa humano (FIIa h): Se determinó la inhibición del FIIa humano mediante el procedimiento descrito en [0092]-[0098] usando alfa-trombina humana de Enzyme Research Laboratories a 0,1 U NIH/ml y Mes-d-Cha-Gly-Arg-pNA (Pefachrome tPA) a 2 mM, 1 mM y 0,5 mM como sustrato; se reseñan los resultados como valores de K_i (nanomolar).
- 30 **[0119]** Factor Xa humano (FXa h): Se determinó la inhibición del FXa humano mediante el procedimiento descrito en [0092]-[0098] usando factor X humano activado de Enzyme Research Laboratories a 5 mUI/ml y MeOCO-d-Cha-Gly-Arg-pNA (Pefachrome FXa) a 2 mM, 1 mM y 0,5 mM como sustrato; se reseñan los resultados como valores de K_i (nanomolar).
- 35 **[0120]** Factor XIa humano (FXIa h): Se determinó la inhibición del FXIa humano mediante el procedimiento descrito en [0092]-[0098] usando factor XI humano activado de Enzyme Research Laboratories a 96 ng/ml y H-D-Lys(Cbo)-Pro-ArgpNA (Pefachrome PCa) a 5 mM, 4 mM y 2 mM como sustrato; se reseñan los resultados como valores de K_i (nanomolar).
- 40 **[0121]** Factor XIIa humano (FXIIa h): Se determinó la inhibición del alfa-FXIIa humano mediante el procedimiento descrito en [0092]-[0098] usando factor alfa-XII humano activado (factor de Hageman activado) de Enzyme Research Laboratories a 50 mUEP/ml y CHA-Gly-Arg-pNA a 2 mM, 1 mM y 0,5 mM como sustrato; se reseñan los resultados como valores de K_i (nanomolar).
- 45 **[0122]** Activador de plasminógeno de tipo tejido humano (t-PA h): Se determinó la inhibición de t-PA humano mediante el procedimiento descrito en [0092]-[0098] usando activador de plasminógeno de tipo tejido humano recombinante (Actilyse®) de Boehringer Ingelheim a 290 U/ml y Mes-d-Cha-Gly-Arg-pNA (Pefachrome tPA) a 4 mM, 2 mM y 1 mM como sustrato; los resultados se reseñan como valores de K_i (nanomolar).
- 50 **[0123]** Se muestran en la Tabla 6 los resultados de compuestos ejemplares de la invención.

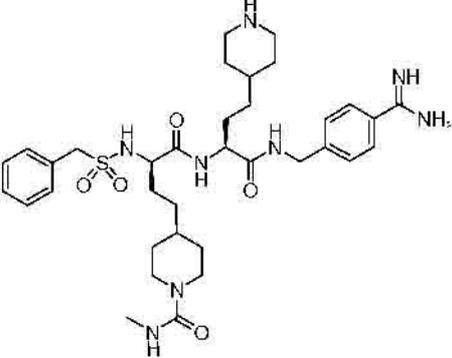
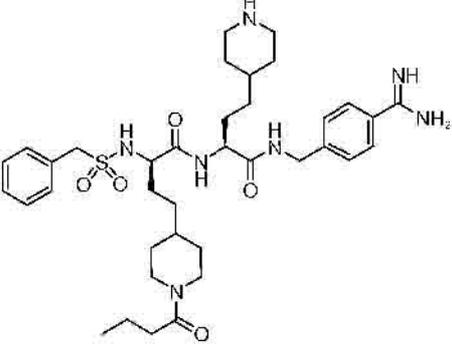
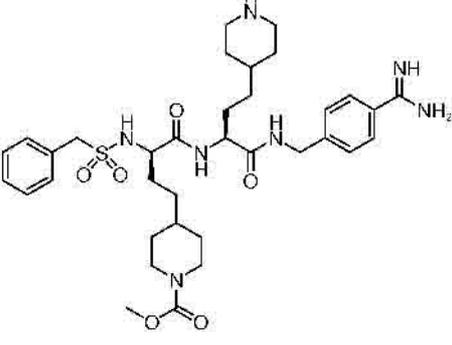
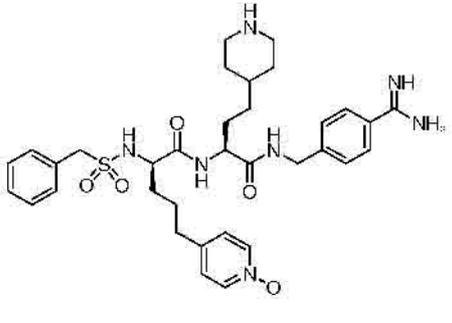
Tabla 6

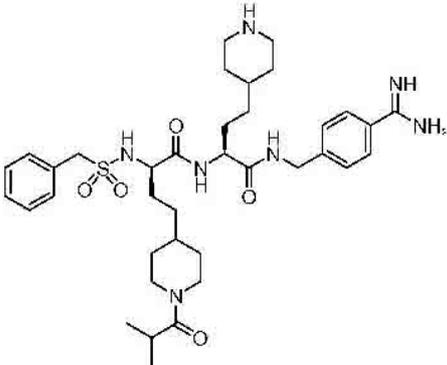
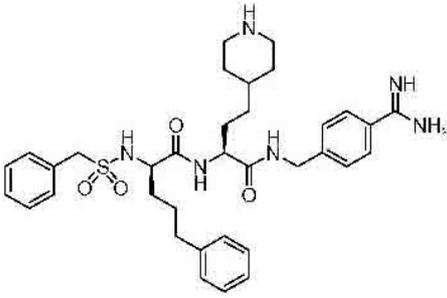
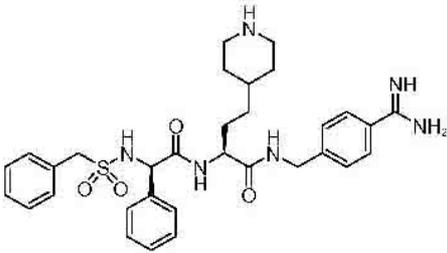
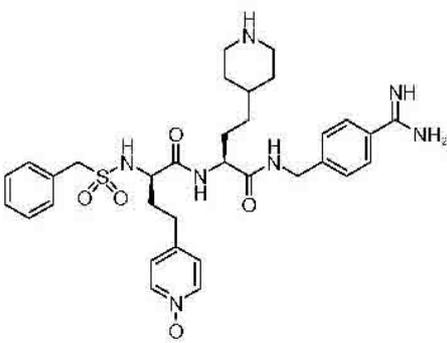
	plasmina h	Ki; nM	8
	CP h	Ki; nM	5.3
	PCa h	Ki; nM	1,300
	KKu h	Ki; nM	> 200,000
	C1s h	Ki; nM	> 10,000
	C1r h	Ki; nM	n.d.
	FIIa h	Ki; nM	4,700
	FXa h	Ki; nM	2,400
	FXIa h	Ki; nM	1,400
	FXIIa h	Ki; nM	n.d.
	t-PA h	Ki; nM	n.d.

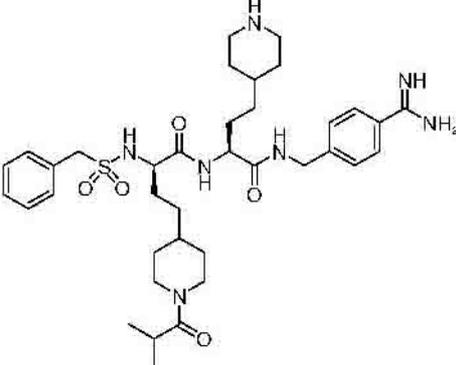
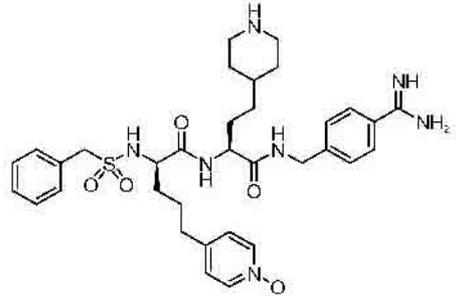
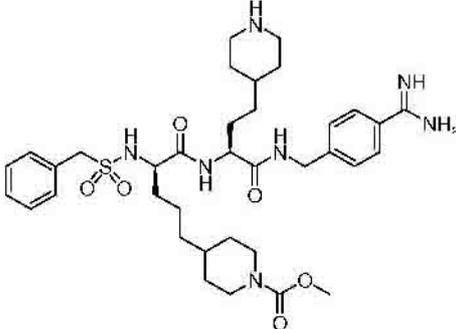
	<table border="1"> <tbody> <tr><td>plasmina h</td><td>Ki; nM</td><td>0,4</td></tr> <tr><td>CP h</td><td>Ki; nM</td><td>2,7</td></tr> <tr><td>PCa h</td><td>Ki; nM</td><td>600</td></tr> <tr><td>KKu h</td><td>Ki; nM</td><td>> 80.000</td></tr> <tr><td>C1s h</td><td>Ki; nM</td><td>4.950</td></tr> <tr><td>C1r h</td><td>Ki; nM</td><td>> 50.000</td></tr> <tr><td>FIIa h</td><td>Ki; nM</td><td>1.200</td></tr> <tr><td>FXa h</td><td>Ki; nM</td><td>850</td></tr> <tr><td>FXIa h</td><td>Ki; nM</td><td>500</td></tr> <tr><td>FXIIa h</td><td>Ki; nM</td><td>1.500</td></tr> <tr><td>t-PA h</td><td>Ki; nM</td><td>2.300</td></tr> </tbody> </table>	plasmina h	Ki; nM	0,4	CP h	Ki; nM	2,7	PCa h	Ki; nM	600	KKu h	Ki; nM	> 80.000	C1s h	Ki; nM	4.950	C1r h	Ki; nM	> 50.000	FIIa h	Ki; nM	1.200	FXa h	Ki; nM	850	FXIa h	Ki; nM	500	FXIIa h	Ki; nM	1.500	t-PA h	Ki; nM	2.300
plasmina h	Ki; nM	0,4																																
CP h	Ki; nM	2,7																																
PCa h	Ki; nM	600																																
KKu h	Ki; nM	> 80.000																																
C1s h	Ki; nM	4.950																																
C1r h	Ki; nM	> 50.000																																
FIIa h	Ki; nM	1.200																																
FXa h	Ki; nM	850																																
FXIa h	Ki; nM	500																																
FXIIa h	Ki; nM	1.500																																
t-PA h	Ki; nM	2.300																																
	<table border="1"> <tbody> <tr><td>plasmina h</td><td>Ki; nM</td><td>2,7</td></tr> <tr><td>CP h</td><td>Ki; nM</td><td>9,4</td></tr> <tr><td>PCa h</td><td>Ki; nM</td><td>570</td></tr> <tr><td>KKu h</td><td>Ki; nM</td><td>> 20.000</td></tr> <tr><td>C1s h</td><td>Ki; nM</td><td>4.800</td></tr> <tr><td>C1r h</td><td>Ki; nM</td><td>>30.000</td></tr> <tr><td>FIIa h</td><td>Ki; nM</td><td>920</td></tr> <tr><td>FXa h</td><td>Ki; nM</td><td>5.900</td></tr> <tr><td>FXIa h</td><td>Ki; nM</td><td>500</td></tr> <tr><td>FXIIa h</td><td>Ki; nM</td><td>> 10.000</td></tr> <tr><td>t-PA h</td><td>Ki; nM</td><td>3.900</td></tr> </tbody> </table>	plasmina h	Ki; nM	2,7	CP h	Ki; nM	9,4	PCa h	Ki; nM	570	KKu h	Ki; nM	> 20.000	C1s h	Ki; nM	4.800	C1r h	Ki; nM	>30.000	FIIa h	Ki; nM	920	FXa h	Ki; nM	5.900	FXIa h	Ki; nM	500	FXIIa h	Ki; nM	> 10.000	t-PA h	Ki; nM	3.900
plasmina h	Ki; nM	2,7																																
CP h	Ki; nM	9,4																																
PCa h	Ki; nM	570																																
KKu h	Ki; nM	> 20.000																																
C1s h	Ki; nM	4.800																																
C1r h	Ki; nM	>30.000																																
FIIa h	Ki; nM	920																																
FXa h	Ki; nM	5.900																																
FXIa h	Ki; nM	500																																
FXIIa h	Ki; nM	> 10.000																																
t-PA h	Ki; nM	3.900																																
	<table border="1"> <tbody> <tr><td>plasmina h</td><td>Ki; nM</td><td>3,8</td></tr> <tr><td>CP h</td><td>Ki; nM</td><td>3</td></tr> <tr><td>PCa h</td><td>Ki; nM</td><td>310</td></tr> <tr><td>KKu h</td><td>Ki; nM</td><td>> 20.000</td></tr> <tr><td>C1s h</td><td>Ki; nM</td><td>1.200</td></tr> <tr><td>C1r h</td><td>Ki; nM</td><td>> 20.000</td></tr> <tr><td>FIIa h</td><td>Ki; nM</td><td>4.400</td></tr> <tr><td>FXa h</td><td>Ki; nM</td><td>2.400</td></tr> <tr><td>FXIa h</td><td>Ki; nM</td><td>70</td></tr> <tr><td>FXIIa h</td><td>Ki; nM</td><td>n.d.</td></tr> <tr><td>t-PA h</td><td>Ki; nM</td><td>n.d.</td></tr> </tbody> </table>	plasmina h	Ki; nM	3,8	CP h	Ki; nM	3	PCa h	Ki; nM	310	KKu h	Ki; nM	> 20.000	C1s h	Ki; nM	1.200	C1r h	Ki; nM	> 20.000	FIIa h	Ki; nM	4.400	FXa h	Ki; nM	2.400	FXIa h	Ki; nM	70	FXIIa h	Ki; nM	n.d.	t-PA h	Ki; nM	n.d.
plasmina h	Ki; nM	3,8																																
CP h	Ki; nM	3																																
PCa h	Ki; nM	310																																
KKu h	Ki; nM	> 20.000																																
C1s h	Ki; nM	1.200																																
C1r h	Ki; nM	> 20.000																																
FIIa h	Ki; nM	4.400																																
FXa h	Ki; nM	2.400																																
FXIa h	Ki; nM	70																																
FXIIa h	Ki; nM	n.d.																																
t-PA h	Ki; nM	n.d.																																
	<table border="1"> <tbody> <tr><td>plasmina h</td><td>Ki; nM</td><td>1,8</td></tr> <tr><td>CP h</td><td>Ki; nM</td><td>5</td></tr> <tr><td>PCa h</td><td>Ki; nM</td><td>1.200</td></tr> <tr><td>KKu h</td><td>Ki; nM</td><td>> 20.000</td></tr> <tr><td>C1s h</td><td>Ki; nM</td><td>> 20.000</td></tr> <tr><td>C1r h</td><td>Ki; nM</td><td>> 40.000</td></tr> <tr><td>FIIa h</td><td>Ki; nM</td><td>8.000</td></tr> <tr><td>FXa h</td><td>Ki; nM</td><td>1.900</td></tr> <tr><td>FXIa h</td><td>Ki; nM</td><td>1.400</td></tr> <tr><td>FXIIa h</td><td>Ki; nM</td><td>530</td></tr> <tr><td>t-PA h</td><td>Ki; nM</td><td>4.800</td></tr> </tbody> </table>	plasmina h	Ki; nM	1,8	CP h	Ki; nM	5	PCa h	Ki; nM	1.200	KKu h	Ki; nM	> 20.000	C1s h	Ki; nM	> 20.000	C1r h	Ki; nM	> 40.000	FIIa h	Ki; nM	8.000	FXa h	Ki; nM	1.900	FXIa h	Ki; nM	1.400	FXIIa h	Ki; nM	530	t-PA h	Ki; nM	4.800
plasmina h	Ki; nM	1,8																																
CP h	Ki; nM	5																																
PCa h	Ki; nM	1.200																																
KKu h	Ki; nM	> 20.000																																
C1s h	Ki; nM	> 20.000																																
C1r h	Ki; nM	> 40.000																																
FIIa h	Ki; nM	8.000																																
FXa h	Ki; nM	1.900																																
FXIa h	Ki; nM	1.400																																
FXIIa h	Ki; nM	530																																
t-PA h	Ki; nM	4.800																																

	plasmina h CP h PCa h Kku h C1s h C1r h FIIa h FXa h FXIa h FXIIa h t-PA h	Ki; nM Ki; nM	2 7,5 400 > 50.000 8.000 > 50.000 800 300 800 n.d. n.d.
	plasmina h CP h PCa h Kku h C1s h C1r h FIIa h FXa h FXIa h FXIIa h t-PA h	Ki; nM Ki; nM	0,6 0,3 1.500 > 50.000 19.000 > 50.000 8.500 2.300 650 1.100 6.100
	plasmina h CP h PCa h Kku h C1s h C1r h FIIa h FXa h FXIa h FXIIa h t-PA h	Ki; nM Ki; nM	0,8 0,9 1.200 > 60.000 >25.000 >35.000 5.600 2.300 720 650 5.100
	plasmina h CP h PCa h Kku h C1s h C1r h FIIa h FXa h FXIa h FXIIa h t-PA h	Ki; nM Ki; nM	1,5 2 1.100 > 500.000 9.000 > 100.000 3.800 750 870 630 3.000

	plasmina h CP h PCa h Kku h C1s h C1r h FIIa h FXa h FXIa h FXIIa h t-PA h	Ki; nM Ki; nM	3 7,5 60 > 100.000 > 25.000 > 100.000 4.200 90 1.400 n.d. n.d.
	plasmina h CP h PCa h Kku h C1s h C1r h FIIa h FXa h FXIa h FXIIa h t-PA h	Ki; nM Ki; nM	1,2 1,3 1.200 > 100.000 20.000 > 50.000 4.500 1.600 1.400 680 4.700
	plasmina h CP h PCa h Kku h C1s h C1r h FIIa h FXa h FXIa h FXIIa h t-PA h	Ki; nM Ki; nM	1,5 9 27 > 200.000 2.000 > 20.000 3.900 20 500 n.d. n.d.
	plasmina h CP h PCa h Kku h C1s h C1r h FIIa h FXa h FXIa h FXIIa h t-PA h	Ki; nM Ki; nM	0,8 4 1.600 > 200.000 13.000 > 50.000 13.000 2.500 1.500 2.000 8.300

	<p>plasma h CP h PCa h KKu h C1s h C1r h FIIa h FXa h FXIa h FXIIa h t-PA h</p>	<p>Ki; nM Ki; nM</p>	<p>1 2 1.100 > 200.000 > 20.000 > 20.000 4.800 1.700 1.300 550 5.300</p>
	<p>plasma h CP h PCa h KKu h C1s h C1r h FIIa h FXa h FXIa h FXIIa h t-PA h</p>	<p>Ki; nM Ki; nM</p>	<p>0,6 2 1.100 > 200.000 > 10.000 > 15.000 5.500 2.200 870 800 6.100</p>
	<p>plasma h CP h PCa h KKu h C1s h C1r h FIIa h FXa h FXIa h FXIIa h t-PA h</p>	<p>Ki; nM Ki; nM</p>	<p>0,7 2 1.350 > 200.000 > 10.000 > 20.000 13.000 2.000 720 1.600 6.600</p>
	<p>plasma h CP h PCa h KKu h C1s h C1r h FIIa h FXa h FXIa h FXIIa h t-PA h</p>	<p>Ki; nM Ki; nM</p>	<p>1 4 850 > 200.000 10.000 > 30.000 4.900 400 1.400 870 2.400</p>

	plasmina h CP h PCa h KKu h C1s h C1r h FIIa h FXa h FXIa h FXIIa h t-PA h	Ki; nM Ki; nM	0,6 1,5 1.700 > 200.000 > 25.000 > 30.000 13.000 3.200 920 1 300 6.500
	plasmina h CP h PCa h KKu h C1s h C1r h FIIa h FXa h FXIa h FXIIa h t-PA h	Ki; nM Ki; nM	0,25 1,5 555 > 50.000 > 5.000 n.d. 240 1.100 135 3.000 1.700
	plasmina h CP h PCa h KKu h C1s h C1r h FIIa h FXa h FXIa h FXIIa h t-PA h	Ki; nM Ki; nM	2,2 20 210 n.d. n.d. n.d. 1.700 1.600 1.000 n.d. n.d.
	plasmina h CP h PCa h KKu h C1s h C1r h FIIa h FXa h FXIa h FXIIa h t-PA h	Ki; nM Ki; nM	5 20 250 > 100.000 4.200 > 50.000 9.000 120 2.500 n.d. n.d.

	<p>plasma h CP h PCa h KKu h C1s h C1r h FIIa h FXa h FXIa h FXIIa h t-PA h</p>	<p>Ki; nM Ki; nM</p>	<p>0,6 1,5 1.700 > 200.000 > 25.000 > 30.000 13.000 3.200 920 1.300 6.500</p>
	<p>plasma h CP h PCa h KKu h C1s h C1r h FIIa h FXa h FXIa h FXIIa h t-PA h</p>	<p>Ki; nM Ki; nM</p>	<p>1 4 850 > 200.000 9.500 > 30.000 4.900 400 1.400 870 2.400</p>
	<p>plasma h CP h PCa h KKu h C1s h C1r h FIIa h FXa h FXIa h FXIIa h t-PA h</p>	<p>Ki; nM Ki; nM</p>	<p>1 1,5 800 > 100.000 6.500 > 100.000 3.600 400 600 400 n.d.</p>

Referencias adicionales

5 [0124] Las siguientes referencias proporcionan información de los antecedentes, que puede ser útil en la comprensión del estado de la técnica antes de la presente invención:

Ashgar y col., *Biochim. Biophys. Acta* 438, 250-264, 1976

10 Collen y col., *J. Lab. Clin. Med.* 99, 76-83, 1982

Dixon, *Biochem. J.* 55, 170-171, 1953

Eriksson y col., *J. Thromb. Haemostasis* 1, 2490-2496, 2003

15

Fareed y col., *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 370, 765-784, 1981

- Francis y col., New Engl. J. Med. 349, 1703-1712, 2003
- Garrett y col., Bioorg. Med. Chem. Lett. 9, 301-306, 1999
- 5 Garrett y col., J. Pept. Res. 52, 60-71, 1998
- Griffin, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 75, 1998-2002, 1978
- 10 Gustafsson y col., Nature Reviews 3, 649-659, 2004
- Isobe, Blood & Vessel 12, 135-138, 1981
- Kaplan, Prog. Hemostasis Thromb. 4, 127-175, 1978
- 15 Kettner y col., J. Biol. Chem. 265, 18289-18297, 1990
- Kettner y Shaw, Biochemistry 17, 4778-4784, 1978
- 20 Künzel y col., Bioorg. Med. Chem. Lett., 12, 645-648, 2002
- Lawson y col., Folia Haematol. (Leipzig) 109, 52-60, 1982
- Muramatu y col. Hoppe-Seyler's Z. Physiol. Chem. 363, 203-211, 1982
- 25 Muramatu y Fuji, Biochim. Biophys. Acta 242, 203 -208, 1971
- Muramatu y Fuji, Biochim. Biophys. Acta 268, 221-224, 1972
- 30 Ohno y col., Thromb. Res. 19, 579-588, 1980
- Okada y col., Bioorg. Med. Chem. Lett. 10, 2217-2221, 2000
- Okada y col., Biopolymers 51, 41-50, 1999
- 35 Ratnoff, Blood 57, 55-58, 1981
- Robinson y Saiah, Ann. Rep. Med. Chem. 37, 85-94, 2002
- 40 Satoh y col., Chem. Pharm. Bull. 33, 647-654, 1985
- Schechter y Berger, Biochem. Biophys. Res. Comm. 27, 157-162, 1967
- Silverberg y Kaplan, Blood 60, 64-70, 1982
- 45 Stürzebecher y col., Brazilian J. Med. Biol. Res., 27, 1929-1934, 1994
- Stürzebecher y col., J. Med. Chem. 40, 3091-3099, 1997
- 50 Stürzebecher y col., Zbl. Pharm. Pharmakother. Lab. Diagn. 122, 240-241, 1983
- Sucker H. y col., "Pharmazeutische Technologic, 2ª tirada (1991), Georg Thieme Verlag, Stuttgart
- Tada y col., Biol. Pharm. Bull. 24, 520-524, 2001
- 55 Teno y col. Chem. Pharm. Bull. 39, 2930-2936, 1991
- Thromb. Res., Supl. VIII, 131-141, 1988

Tsuda y col., Chem. Pharm. Bull. 49, 1457-1463, 2001

Weitz, Circulation, 110, I-19 - I-26, 2008

5 WO 1994/29336

WO 2000/041531

WO 2000/058346

10

WO 2001/096286

WO 2001/096366

15 WO 2002/062829

WO 2002/014349

WO 2003/076391

20

WO 2003/076457

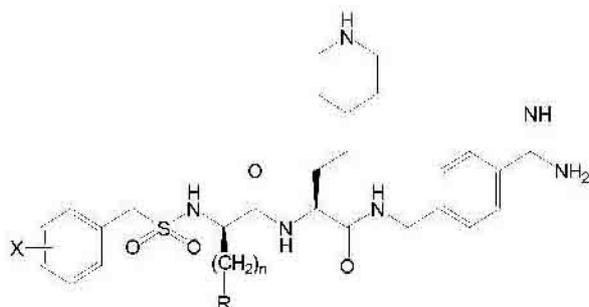
DE 10212555

25 EP 1364960

US 6.586.405

REIVINDICACIONES

1. Un compuesto que tiene la siguiente fórmula



5

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en la que X se selecciona del grupo consistente en H, CO₂H y CO₂R'; n oscila de 0 a 3 y R se selecciona del grupo consistente en fenilo, piridilo, tetrazolilo y piperidinilo; en la que R puede estar no sustituida o puede estar sustituida con uno o más sustituyentes seleccionados del grupo
 10 consistente en halógeno, R', OR', SR', S(=O)R', S(=O)₂R', S(=O)₂NHR', S(=O)₂NR'₂, CN, NH₂, NHR', NR'₂, NHS(=O)₂R', NHC(=O)R', NHC(=O)OR', NHC(=O)NHR', NHC(=O)NR'₂, C(=O)R', C(=O)CH₂OR', CO₂R', C(=O)NHR' y C(=O)NR'₂; en los que, cuando R es piridilo, puede ser *N*-óxido de piridina y en los que cada R' es independientemente CF₃ o alquilo inferior C₁ a C₄ o cicloalquilo.

- 15 2. Un compuesto según la reivindicación 1, en el que n es 2 o 3; preferiblemente en el que n es 3.

3. Un compuesto según la reivindicación 1, en el que R se selecciona del grupo consistente en fenilo, 4-piridilo, *N*-óxido de piridilo y 4-piperidinilo.

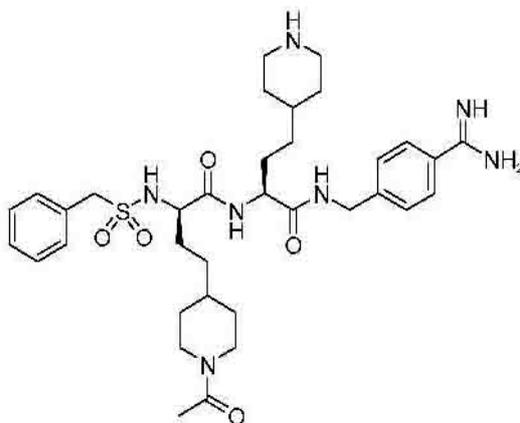
- 20 4. Un compuesto según la reivindicación 2, en el que R se selecciona del grupo consistente en fenilo, 4-piridilo, *N*-óxido de piridilo y 4-piperidinilo; preferiblemente en el que R se selecciona del grupo consistente en fenilo no sustituido, 4-piridilo no sustituido, *N*-óxido de piridilo no sustituido y 4-piperidinilo no sustituido.

5. Un compuesto según la reivindicación 3, en el que R se selecciona del grupo consistente en fenilo no
 25 sustituido, 4-piridilo no sustituido, *N*-óxido de 4-piridilo no sustituido y 4-piperidinilo no sustituido.

6. Un compuesto según la reivindicación 1, en el que n es 0 y R es fenilo; o un compuesto según la reivindicación 1, en el que n es 2 o 3 y R es 4-piperidinilo; en el que el nitrógeno de dicho piperidinilo porta un sustituyente seleccionado del grupo consistente en C(=O)R', C(=O)CH₂OR', CO₂R', C(=O)NHR' y C(=O)NR'₂.

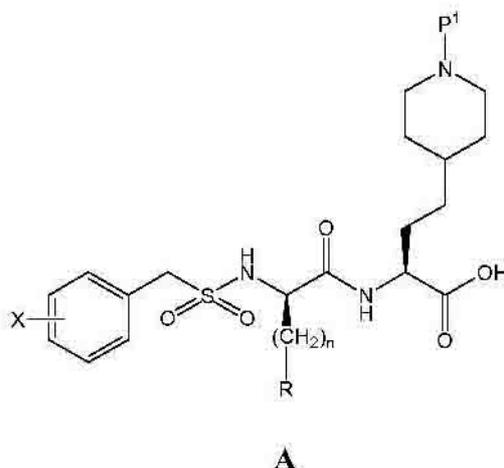
30

7. Un compuesto según la reivindicación 1, en el que el compuesto tiene la siguiente fórmula



o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

- 5 **8.** Una composición farmacéutica que comprende uno o más compuestos según una cualquiera de las reivindicaciones 1-7, que comprende además uno o más portadores o excipientes farmacéuticamente aceptables.
- 9.** Uno o más compuestos según una cualquiera de las reivindicaciones 1-7, para uso en un procedimiento para la modulación terapéutica de la cascada de coagulación sanguínea o fibrinólisis en un paciente.
- 10 **10.** Uno o más compuestos según una cualquiera de las reivindicaciones 1-7, para uso en un procedimiento para el tratamiento de una afección hiperfibrinolítica en un paciente.
- 11.** Uno o más compuestos según una cualquiera de las reivindicaciones 1-7, para uso en un procedimiento para controlar la pérdida de sangre en un paciente; preferiblemente en los que dicho paciente está experimentando un trasplante de órganos o procedimiento quirúrgico cardíaco; o preferiblemente en los que dicho paciente está experimentando un procedimiento quirúrgico con derivación cardiopulmonar.
- 15 **12.** Uno o más compuestos según una cualquiera de las reivindicaciones 1-7, para uso en un procedimiento para inhibir la plasmina humana y/o la calicreína plasmática en un paciente.
- 20 **13.** Un adhesivo de fibrina que comprende al menos un compuesto según una cualquiera de las reivindicaciones 1-7.
- 14.** Al menos un compuesto según una cualquiera de las reivindicaciones 1-7 para uso como adhesivo de fibrina.
- 15.** Un proceso para preparar un compuesto según cualquiera de las reivindicaciones 1-7, que comprende las siguientes etapas:
- 30 (a) acilación de una 4-(metilamino)benzamidina protegida en el amidino con un ácido carboxílico activado derivado del ácido de fórmula **A**



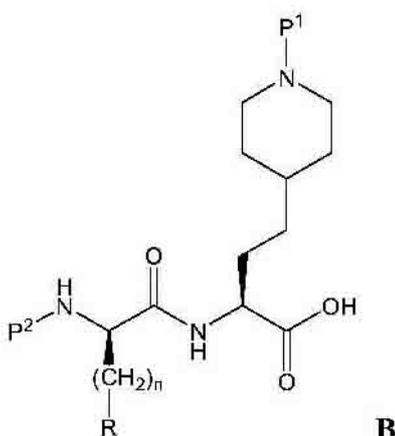
en la que P¹ es un grupo protector de amino; X es H o CO₂R'; n oscila de 0 a 3 y R se selecciona del grupo consistente en fenilo, piridilo, tetrazolilo y piperidinilo; en la que R puede estar no sustituido o puede estar sustituido con uno o más sustituyentes seleccionados del grupo consistente en halógeno, R', OR', SR', S(=O)R', S(=O)₂R', S(=O)₂NHR', S(=O)₂NR'₂, CN, NH₂, NHR', NR'₂, NHS(=O)₂R', NHC(=O)R', NHC(=O)OR', NHC(=O)NHR', NHC(=O)NR'₂, C(=O)R', C(=O)CH₂OR', CO₂R', C(=O)NHR' o C(=O)NR'₂; en los que, cuando R es piridilo, puede ser N-óxido de piridina y en los que cada R' es independientemente CF₃ o alquilo inferior C₁ a C₄; y, en cualquier orden,

10 (b) escisión del grupo protector de amino P¹; y

(c) escisión del grupo protector de la benzamidina.

16. Un proceso para preparar un compuesto según cualquiera de las reivindicaciones 1-7, que comprende las siguientes etapas:

(a) acilación de una 4-(metilamino)benzamidina protegida en el amidino con un ácido carboxílico activado derivado del ácido de fórmula **B**



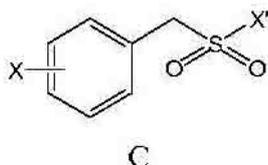
20

en la que P¹ y P² son grupos protectores de amino mutuamente ortogonales; n oscila de 0 a 3 y R se selecciona del grupo consistente en fenilo, piridilo, tetrazolilo y piperidinilo; en la que R puede estar no sustituido o puede estar sustituido con uno o más sustituyentes seleccionados del grupo consistente en halógeno, R', OR', SR', S(=O)R', S(=O)₂R', S(=O)₂NHR', S(=O)₂NR'₂, CN, NH₂, NHR', NR'₂, NHS(=O)₂R', NHC(=O)R', NHC(=O)OR', NHC(=O)NHR', NHC(=O)NR'₂, C(=O)R', C(=O)CH₂OR', CO₂R', C(=O)NHR' y C(=O)NR'₂; en los que, cuando R es piridilo, puede ser

un *N*-óxido de piridina; y en los que cada R' es independientemente CF₃ o alquilo inferior C₁ a C₄;

(b) escisión del grupo protector de amino P²;

5 (c) sulfonilación del grupo amino desprotegido resultante con un agente sulfonilante de fórmula **C**:



en la que X' es un grupo saliente y X es H o CO₂R'; y, en cualquier orden,

10

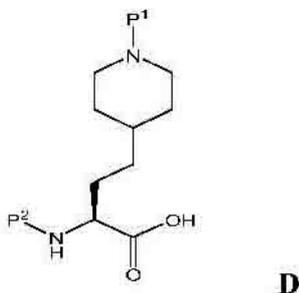
(d) escisión del grupo protector de amino P¹; y

(e) escisión del grupo protector de la benzamidina.

15 **17.** Un proceso para preparar un compuesto según cualquiera de las reivindicaciones 1-7, que comprende las siguientes etapas:

(a) acilación de una 4-(metilamino)benzamidina protegida en el amidino con un ácido carboxílico activado derivado del ácido de fórmula **D**

20

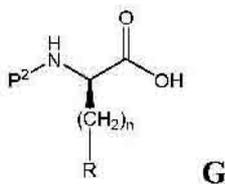


en la que P¹ y P² son grupos protectores de amino mutuamente ortogonales, y

25 (b) escisión del grupo protector P²;

que comprende opcionalmente además las etapas de

(c) acilación con un ácido carboxílico activado derivado de la estructura **G**



30

en la que P² es un grupo protector de amino; n oscila de 0 a 3 y R se selecciona del grupo consistente en fenilo, piridilo, tetrazolilo y piperidinilo; en la que R puede estar no sustituido o sustituido con uno o más sustituyentes seleccionados del grupo consistente en halógeno, R', OR', SR', S(=O)R', S(=O)₂R', S(=O)₂NHR', S(=O)₂NR'₂, CN,

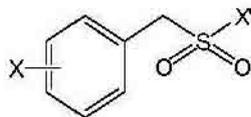
35 NH₂, NHR', NR'₂, NHS(=O)₂R', NHC(=O)R', NHC(=O)OR', NHC(=O)NHR', NHC(=O)NR'₂, C(=O)R', C(=O)CH₂OR',

$\text{CO}_2\text{R}'$, $\text{C}(=\text{O})\text{NHR}'$ o $\text{C}(=\text{O})\text{NR}'_2$; en los que, cuando R es piridilo, puede ser un *N*-óxido de piridina;

Y en los que cada R' es independientemente CF_3 o alquilo inferior C_1 a C_4 ;

5 (d) escisión del grupo protector de amino P^2 ;

(e) sulfonilación del grupo amino desprotegido resultante con un agente sulfonilante de fórmula **C**:



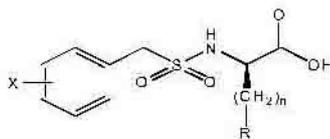
C

10

en la que X' es un grupo saliente y X es H o $\text{CO}_2\text{R}'$; y, en cualquier orden,

(f) escisión del grupo protector de amino P^1 ; y

15 (g) escisión del grupo protector de la benzamidina; o que comprende opcionalmente las etapas de acilación (c) con un derivado de ácido carboxílico activado derivado de la estructura **F**



F

20 en la que n oscila de 0 a 3 y R se selecciona del grupo consistente en fenilo, piridilo, tetrazolilo y piperidinilo; en los que R puede estar no sustituido o sustituido con uno o más sustituyentes seleccionados del grupo consistente en halógeno, R', OR', SR', S(O)R', S(O)₂R', S(O)₂NHR', S(O)₂NR'₂, CN, NH₂, NHR', NR'₂, NHS(O)₂R', NHC(O)R', NHC(O)OR', NHC(O)NHR', NHC(O)NR'₂, C(O)R', C(O)CH₂OR', CO₂R', C(O)NHR' o C(O)NR'₂; en los que, cuando R es piridilo, puede ser un *N*-óxido de piridina; y en los que cada R' es independientemente CF_3 o alquilo inferior C_1 a C_4 y, en cualquier orden,

(d) escisión del grupo protector de amino P^1 ; y

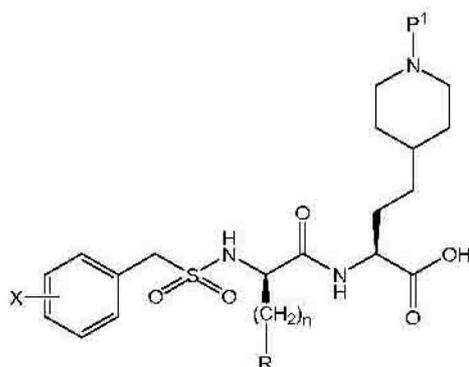
(e) escisión del grupo protector de la benzamidina.

30

18. El proceso de una cualquiera de las reivindicaciones 15-17, en el que el grupo protector de amidino es un grupo *N*-acetoxilo o en el que el grupo protector de amidino es un anillo de 1,2,4-oxadiazol-5-ona.

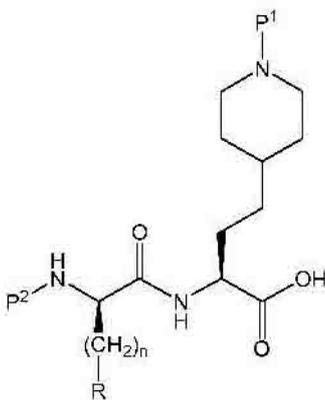
19. Un compuesto de fórmula

35



en la que P¹ es un grupo protector de amino; X es H o CO₂R'; n oscila de 0 a 3 y R se selecciona del grupo consistente en fenilo, piridilo, tetrazolilo y piperidinilo; en la que R puede estar no sustituido o puede estar sustituido con uno o más sustituyentes seleccionados del grupo consistente en halógeno, R', OR', SR', S(=O)R', S(=O)₂R', S(=O)₂NHR', S(=O)₂NR'₂, CN, NH₂, NHR', NR'₂, NHS(=O)₂R', NHC(=O)R', NHC(=O)OR', NHC(=O)NHR', NHC(=O)NR'₂, C(=O)R', C(=O)CH₂OR', CO₂R', C(=O)NHR' o C(=O)NR'₂; en los que, cuando R es piridilo, puede ser un N-óxido de piridina; y en los que cada R' es independientemente CF₃ o alquilo inferior C₁ a C₄; o un compuesto de fórmula

10

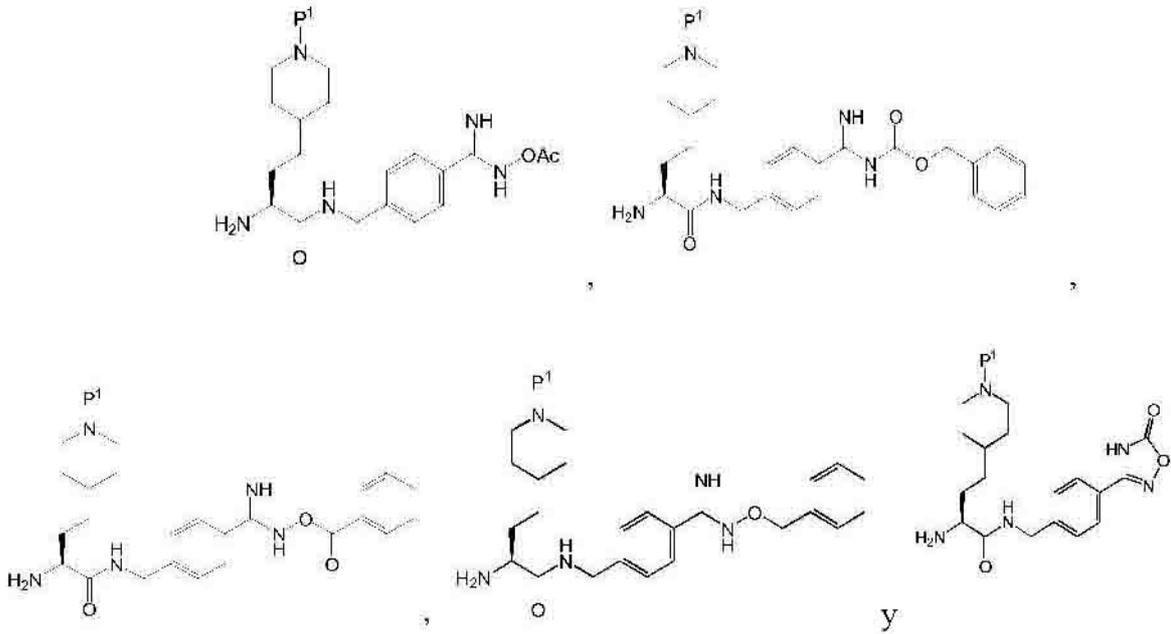


en la que P¹ y P² son grupos protectores de amino mutuamente ortogonales; n oscila de 0 a 3 y R se selecciona del grupo consistente en fenilo, piridilo, tetrazolilo y piperidinilo;

15

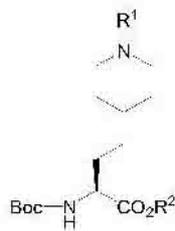
en la que R puede estar no sustituido o puede estar sustituido con uno o más sustituyentes seleccionados del grupo consistente en halógeno, R', OR', SR', S(=O)R', S(=O)₂R', S(=O)₂NHR', S(=O)₂NR'₂, CN, NH₂, NHR', NR'₂, NHS(=O)₂R', NHC(=O)R', NHC(=O)OR', NHC(=O)NHR', NHC(=O)NR'₂, C(=O)R', C(=O)CH₂OR', CO₂R', C(=O)NHR' y C(=O)NR'₂; en los que, cuando R es piridilo, puede ser un N-óxido de piridina; y en los que cada R' es independientemente CF₃ o alquilo inferior C₁ a C₄; o un compuesto seleccionado del grupo consistente en

20



en los que P¹ es un grupo protector de amino; o

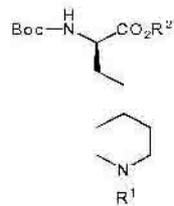
5 un compuesto de fórmula



en la que R¹ es H, benciloicarbonylo o 4-nitrobenciloicarbonylo y R² se selecciona del grupo consistente en H, metilo, etilo, *terc*-butilo y bencilo; o

10

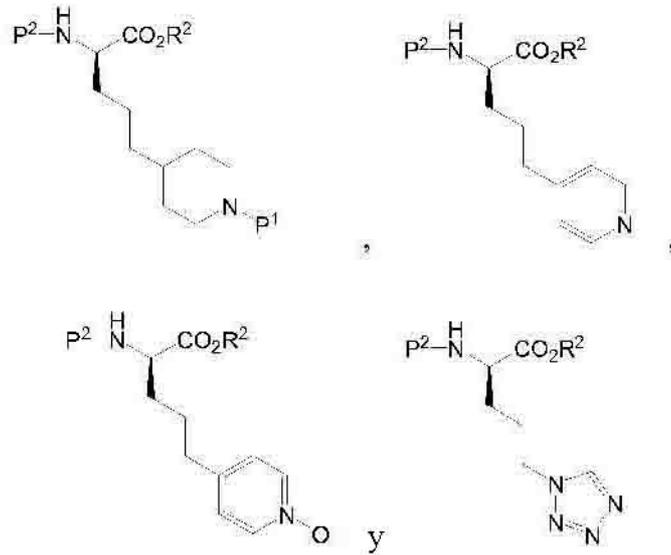
un compuesto de fórmula



15

en la que R¹ es H, benciloicarbonylo o 4-nitrobenciloicarbonylo, y R² se selecciona del grupo consistente en H, metilo, etilo, *terc*-butilo y bencilo; o

un compuesto seleccionado del grupo consistente en



en la que P¹ y P² son cada uno independientemente H o un grupo protector de amino y R² se selecciona del grupo 5 consistente en H, metilo, etilo, *terc*-butilo y bencilo.