

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 654 440**

51 Int. Cl.:

C07K 5/078	(2006.01)	C07D 405/12	(2006.01)
A61K 38/05	(2006.01)	C07K 5/06	(2006.01)
A61P 7/06	(2006.01)	C07K 5/072	(2006.01)
A61P 9/00	(2006.01)	A61K 38/00	(2006.01)
C07D 205/04	(2006.01)		
C07D 207/16	(2006.01)		
C07D 211/60	(2006.01)		
C07D 295/192	(2006.01)		
C07D 401/12	(2006.01)		
C07D 403/12	(2006.01)		

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **21.12.2011 PCT/CA2011/001398**
- 87 Fecha y número de publicación internacional: **28.06.2012 WO12083436**
- 96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **21.12.2011 E 11850640 (1)**
- 97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **27.09.2017 EP 2655399**

54 Título: **Inhibidores de serina proteasa de tipo tripsina, su preparación y uso como inhibidores selectivos de los factores de coagulación IIa y Xa**

30 Prioridad:

21.12.2010 US 201061425597 P

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
13.02.2018

73 Titular/es:

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

72 Inventor/es:

**HEROLD, PETER;
JELAKOVIC, STJEPAN;
DAGHISH, MOHAMMED;
REICHEL, CLAUDIA;
SCHULZE, ALEXANDER;
SCHWEINITZ, ANDREA;
LUDWIG, FRIEDRICH-ALEXANDER;
FAR, ADEL RAFAI y
KANG, TING**

74 Agente/Representante:

ELZABURU, S.L.P

ES 2 654 440 T3

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

DESCRIPCIÓN

Inhibidores de serina proteasa de tipo tripsina, su preparación y uso como inhibidores selectivos de los factores de coagulación IIa y Xa

Referencia cruzada a solicitudes relacionadas

- 5 Esta solicitud reivindica el beneficio de la solicitud provisional de EE.UU. nº 61/425.597, presentada el 21 de diciembre, 2010.

Campo de la invención

La invención se refiere a los campos de la química orgánica, serina proteasas (en particular trombina y factor Xa), trombosis y hemostasia, y a la modulación terapéutica de coagulación de la sangre.

10 Antecedentes de la invención

La trombina y el factor Xa son enzimas clave de la coagulación de la sangre. El factor Xa (FXa) es activado a partir de su precursor, el factor X, por el complejo de tenasa intrínseco (factor IXa/factor VIIIa) o el complejo de tenasa extrínseco (factor tisular/FVIIa). El factor Xa activa la protrombina en trombina, una reacción que es potenciada 400.000 veces cuando FXa se incorpora en el complejo de protrombinasa que consiste en el factor Va, calcio y fosfolípidos. La trombina cataliza la conversión del fibrinógeno en fibrina y activa las plaquetas y ambas cosas dan como resultado la formación de coágulos de sangre. La trombina tiene funciones adicionales tanto dentro como fuera del sistema de coagulación. Por activación de los factores VIII, V y XI, la trombina amplifica su generación mientras que la activación de la proteína C por la trombina contribuye a la regulación por disminución de la coagulación. La activación del factor XIII así como del inhibidor de fibrinolisis activable por trombina (TAFI) por la trombina, afecta al sistema fibrinolítico y contribuye a la estabilización del coágulo, y varias funciones celulares e inflamatorias de la trombina son mediadas principalmente por la unión a los receptores activados por proteasa.

25 Tanto la trombina como el factor Xa son objetivos validados para las terapias anticoagulantes. La mayoría de los fármacos anticoagulantes en uso clínico tienen actividad antitrombina o anti-FXa, o ambos. La inhibición directa de la trombina atenúa la formación de fibrina, activación mediada por trombina de factores V, VIII, XI y XIII, y activación de plaquetas inducida por trombina y agregación.

El factor Xa se ha convertido en un objetivo atractivo para la terapia antitrombótica debido a su posición corriente arriba de la trombina en la secuencia de reacciones de coagulación. El hecho de que la activación de una molécula de factor Xa dé como resultado la generación de 1000 moléculas de trombina, sugiere que pequeñas cantidades de un inhibidor del factor Xa puede bloquear eficazmente la generación de trombina sin la necesidad de altos niveles sistémicos de concentraciones de fármaco antitrombótico, mientras que permanecen activos niveles bajos de trombina para asegurar la hemostasia primaria y otras funciones de la trombina. La inhibición selectiva del factor Xa se ha mostrado en numerosos estudios animales que proporciona eficacia antitrombótica con poco o sin efecto en marcadores de la hemostasia primaria (Leadley et al., *Curr. Top. Med. Chem.* 1, 151-159, 2001).

35 La heparina se dirige a múltiples enzimas en la cascada de coagulación incluyendo la trombina y el factor Xa. Ha sido el pilar de la terapia antitrombótica durante más de 60 años, pero su uso está asociado con una serie de desventajas. Las limitaciones de la heparina son resultado de su modo de inhibición indirecto dependiente de antitrombina (AT), así como de la unión no específica a proteínas plasmáticas y células. Las heparinas de bajo peso molecular (actividad anti-Xa y antitrombina) y los pentasacáridos sulfatados (agentes anti-Xa selectivos) no presentan las mismas afinidades de unión no específicas y han sustituido a la heparina no fraccionada en algunos marcos clínicos. Sin embargo, se ha demostrado que la trombina y protrombinasa asociadas a coágulo contribuyen al crecimiento de trombo y generación de trombina (Orfeo et al., *J Biol. Chem.* 283, 9776-9786, 2008 y Brufatto et al., *J. Thromb. Haemost.* 1, 1258-1263, 2003), pero están protegidas frente a los anticoagulantes dependientes de AT como la heparina, LMWH, y pentasacáridos (Weitz et al., *J Clin. Invest.* 86, 385-391, 1990).

45 Los inhibidores directos moléculas pequeñas que se dirigen simultáneamente a la trombina y al factor Xa tienen el potencial de atenuar la generación de trombina y la actividad de la trombina de forma más eficaz que los anticoagulantes dependientes de AT. El concepto de inhibición doble de la trombina y el factor Xa también está apoyado por los descubrimientos de Gould et al. (*J. Thromb. Haemost.* 4, 834-841; 2010) que demuestran un efecto antitrombótico sinérgico de la combinación de dosis bajas de un inhibidor de trombina directo y un inhibidor del factor Xa directo in vitro y en un modelo animal de trombosis. Puesto que el tiempo de hemorragia no aumentaba comparado con el efecto aditivo de cada fármaco solo, los autores de la invención sugieren que la inhibición directa de múltiples enzimas de coagulación puede proporcionar una relación de eficacia a seguridad mejorada. Los resultados de un estudio que compara la heparina no fraccionada, LMWH, un pentasacárido, y un inhibidor del factor Xa selectivo directo in vitro apoya además el concepto de que los agentes politerapéuticos son anticoagulantes más eficaces que determinados agentes de un solo objetivo en la prevención de la formación de coágulo inducido por superficie (Montalescot y Walenga, *Clin. Appl. Thromb. Hemost.* 15, 183-196, 2009).

Durante los últimos 10 años se ha publicado un número creciente de inhibidores selectivos de factor Xa y trombina,

moléculas pequeñas, y se resumen en varios artículos de revisión.

Se han descrito varios inhibidores sintéticos del sitio activo del factor Xa. Se deben distinguir dos clases de inhibidores: inhibidores orales e inhibidores para uso parenteral. Xarelto (Rivaroxaban) con una Ki (frente a FXa) de 0,4 nM, (Perzborn et al., *J. Thromb. Haemost.* 3:514-21, 2005), lanzado en 2008, y Apixaban con una Ki (frente a FXa) de 0,08 nM (BMS 652247, reivindicado en el documento WO-03026652; Abril 2003; Apixaban, un inhibidor del factor Xa directo y altamente selectivo, oral: Estudios antitrombóticos y antihemostáticos in vitro, Wong et al., *J. Thromb. Haemostasis*, 6, 820-829, 2008), son ejemplos de anticoagulantes orales en uso clínico o en desarrollo clínico.

De forma similar, se han descrito inhibidores sintéticos del sitio activo de la trombina (factor IIa), llamados inhibidores directos de la trombina (DTI), tales como Exanta (Ximelagatran; Eriksson et al., *J. Thromb. Haemost.* 1, 2490-2496, 2003) con una Ki 2 nM, que se retiró del mercado en 2006, y Pradaxa (Dabigatran) con una Ki de 0,41 nM; reivindicado por primera vez en el documento WO-9837075; Baetz y Spinler, *Pharmacotherapy*, 28, 1354-1373, 2008).

Argatroban es un DTI molécula pequeña basada en arginina, con una Ki de 27-39 nM (Berry et al., *Br.J.Pharmacol.* 113,1209-14, 1994). Los ejemplos de DTI parenteral en desarrollo son Melagatran (interrumpido; Ki 1,3 nM), Flovagatran (Paion), o NU172 (Nuvelo) (Gross y Weitz, *Clin Pharmacol Therapeut* 86, 139-146, 2009; Weitz, *Thromb. Haemost.* 103, 62-70, 2010).

Igualmente, hay inhibidores de FXa directos selectivos en diferentes etapas de desarrollo tales como Otamixaban (Guertin et al. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 12,1671-1674, 2002) e inhibidores de FXa peptidomiméticos selectivos (Dönneke et al., *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 17, 3322-3329, 2007); US5955576, WO9417817.

Stürzebecher *et al.* han descrito una serie de peptidomiméticos de benzamidina sulfonilada N-terminal que tienen diferentes efectos en serina proteasas. Están incluidos en esta clase los inhibidores del factor Xa, útiles como anticoagulantes y antitrombóticos (patente de EE.UU. n° 6.841.701); inhibidores de uroquinasa, útiles como supresores tumorales (publicación de solicitud de patente de EE.UU. n° 2005/0176993, patente de EE.UU. n° 6.624.169); inhibidores de calicreína plasmática (PK), factor XIa y factor XIIa, útiles como anticoagulantes y antitrombóticos (publicación de solicitud de patente de EE.UU. n° 2006/0148901); e inhibidores de matriptasa, útiles como supresores tumorales (publicación de solicitud de patente de EE.UU. n° 2007/0055065). No se ha descrito el uso clínico de estos inhibidores.

Una característica común de todos estos DTI e inhibidores de FXa es su marcada especificidad hacia solo una enzima, la trombina o FXa. Mientras que la heparina no fraccionada (UFH) inhibe la trombina y el FXa en extensión similar, numerosos inhibidores de FXa y en particular glucosaminoglucanos sulfatados basados en una reducción en la longitud de cadena comparados con heparina de bajo peso molecular (LMWH), tales como Arixtra usado en clínica (Fondaparinux), Fragmin (Dalteparin) o Danaparoid, presentan mayor selectividad hacia la inhibición del FXa (Eikelboom y Weitz, *Circulation*, 121,1523-1532, 2010). Idrabiotaparinux, que es un fondaparinux modificado con un resto de reconocimiento de antídoto, también es un ejemplo de un inhibidor indirecto de FXa. A diferencia de la LMWH, fondaparinux y los inhibidores monoselectivos de trombina o FXa, la UFH inhibe indirectamente no solo la trombina y FXa, sino también factores XIa, en menor extensión, XIIa y por lo tanto es eficaz en modular la ruta de activación del contacto. "Esto podría explicar en parte por qué los intentos previos de usar LMWH para prevenir la coagulación en circuitos de derivación cardiaca no son prometedores y por qué el riesgo de trombosis de catéteres cardiacos es mayor con fondaparinux que con UFH." (Hirsh et al., *Circulation* 116, 552-560, 2007).

A diferencia de los inhibidores con una marcada mono-especificidad, el concepto de un inhibidor doble tiene un atractivo parecido con inhibidores naturales de la coagulación, en particular la heparina, que inhibe tanto la trombina como FXa y tiene igual actividad contra ambas enzimas. Ninguno de los inconvenientes o efectos adversos de la heparina se ha atribuido a su modo de inhibición múltiple. Además, su actividad de múltiples objetivos, que también implica la inhibición de proteasas en la fase de contacto, podría ser una ventaja en situaciones de contacto de la sangre con superficies extrañas sin contribuir a efectos hemorrágicos. Se ha cuestionado la capacidad de los recién desarrollados inhibidores de FXa y trombina sintéticos monoselectivos para reproducir los efectos favorables y el perfil terapéutico de la heparina (Fareed et al., *Semin. Thromb. Hemost.* 34, 58-73, 2008). En ensayos aleatorizados principales, los agentes selectivos hasta ahora no han demostrado superioridad frente a la UFH o LMWH con respecto a criterios de valoración isquémicos, sugiriendo que los compuestos con sitios de acción múltiples como UFH o LMWH, dan mejor resultado isquémico en pacientes con síndrome coronario agudo (ACS) (Cohen, *Am. J. Med.* 123, 103-110, 2010). Los agentes selectivos como el inhibidor del factor tisular/factor VIIa rNAPc2 y el inhibidor indirecto de FXa fondaparinux, han mostrado insuficiente actividad antitrombótica en pacientes con ACS sometidos a PCI (Chan et al., *J. Thromb. Thrombolysis* 28, 366-380, 2009). La mayor incidencia de trombosis por catéter con fondaparinux comparado con UFH sugiere que es necesaria la inhibición adicional de la trombina para prevenir la activación mediada por contacto, un fenómeno que es incluso más importante en la cirugía de derivación cardiopulmonar (CPB).

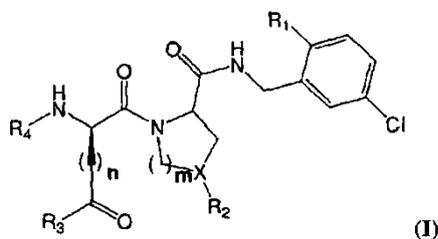
Los datos de un estudio que compara UFH, LMWH, fondaparinux y otamixaban in vitro apoyan el concepto de que los agente politerapéuticos, incluyendo la UFH y enoxaparina, son anticoagulantes más eficaces que algunos

agentes con un solo objetivo en la prevención de la formación de coágulos inducidos por superficie (Montalescot y Walenga, *Clin. Appl. Thromb. Hemost.* 15, 183-196, 2009). La inhibición doble de la trombina y FXa tiene el potencial de suprimir eficazmente la generación de trombina y actividad de la trombina. También se ha demostrado un efecto antitrombótico sinérgico por inhibición simultánea de la trombina y FXa en modelos in vitro y animales, y se ha encontrado que una relación de la actividad anti-Xa/anti-trombina de 2-3 es óptima con respecto a la eficacia y hemorragia (Gould et al., *J. Thromb. Haemost.* 4, 834-841, 2006).

Tanogitran (Linz et al., WO 2004/000818; Ries et al., WO 2004/000310), que se caracteriza por una relación de FXa/trombina de 0,1, RWJ445167 (Tianbao et al., US 7.402.586; Maryanoff et al., *Chem. Biol. Drug Des.* 68: 29-36, 2006)) con una relación de <0,02, una serie de inhibidores dobles basados en oxazolopiridina (Deng et al., *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 15, 4411-4416, 2005), y una serie de inhibidores dobles basados en quinoxalinona (Ries et al., *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 13, 2297-2302, 2003) son inhibidores dobles de trombina/FXa descritos en la bibliografía. También hay dos productos basados en LMWH: M118 (Momenta; Kishimoto et al., *Thromb. Haemost.* 102,900-906, 2009) y EP217609, (Endotis Pharma; Petitou, et al., *Thromb. Haemost.* 102, 804-810,2009), los cuales son equipotentes contra la trombina y FXa y comparten la característica específica de que su acción puede ser controlada por un antídoto.

Breve descripción de la invención

Se ha encontrado que los compuestos de fórmula general I,

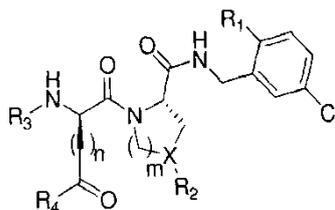


o una de sus sales farmacéuticamente aceptables en donde X, R₁ a R₄, n, y m son como se definen más adelante, son inhibidores dobles eficaces y selectivos de trombina y factor Xa. Por consiguiente, la invención proporciona compuestos de fórmula I, y composiciones farmacéuticas que comprenden los compuestos de fórmula I. La invención proporciona además compuestos de fórmula I para usar en un método para el tratamiento de una afección donde está indicada la anticoagulación, para usar en un método para la prevención de la enfermedad trombótica, para usar en un método para la terapia o prevención de un trastorno cardiovascular o de un suceso tromboembólico, para usar en un método para la prevención de un trastorno cardiovascular o de un suceso tromboembólico durante trasplantes de órganos o procedimientos quirúrgicos cardíacos, para usar en un método para la prevención de un trastorno cardiovascular o de un suceso tromboembólico durante procedimientos quirúrgicos con derivación cardiopulmonar, o para usar en un método para la inhibición doble de trombina y factor Xa. La invención también proporciona el uso de compuestos de fórmula I en la fabricación de una composición para el revestimiento de la superficie de un dispositivo invasivo que se deba insertar en un paciente.

Los sujetos que se pueden tratar con las composiciones o compuestos de la invención incluyen, pero no se limitan a pacientes que experimentan enfermedad trombótica y tromboembólica, pacientes en situaciones que requieren el establecimiento de perfusión o retrasar la oclusión de la circulación sanguínea tal como pacientes que experimentan síndrome coronario agudo, fibrilación auricular, trombosis venosa profunda y embolia pulmonar, coagulación intravascular diseminada aguda y trombocitopenia inducida por heparina (HIT), y pacientes que requieren intervención coronaria percutánea, derivación cardiopulmonar para cirugía cardíaca, un circuito de oxigenación de membrana extracorpórea para soporte vital extracorpóreo, cardiología intervencionista (angioplastia e implante de stent) y hemofiltración.

Descripción detallada de la invención

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



o una de sus sales farmacéuticamente aceptables;

en donde:

n es un número entero entre 1 y 2 inclusive;

m es un número entero entre 0 y 2 inclusive;

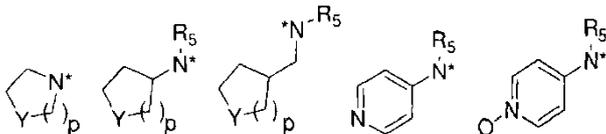
X se selecciona del grupo que consiste en CH o N;

R₁ se selecciona del grupo que consiste en -CH₂NH₂, y  ;

5 R₂ se selecciona del grupo que consiste en -H, -OH, -NH₂ y acetilo;

R₃ se selecciona del grupo que consiste en -H, benciloxicarbonilo y bencilsulfonilo; y

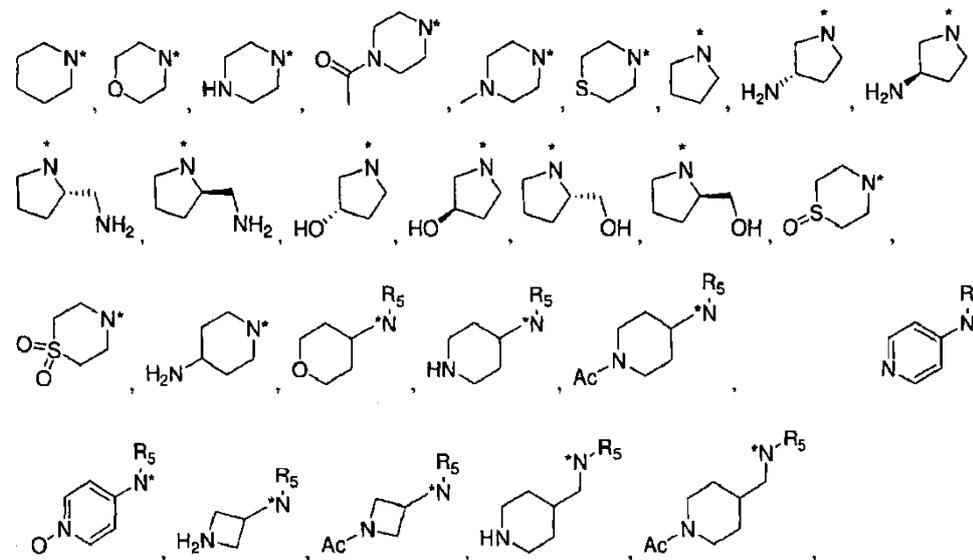
R₄ se selecciona del grupo que consiste en -OH,

 , en donde p es un número entero entre 0 y 2 inclusive, Y se selecciona del grupo que consiste en -O-, -S-, -S(=O)-, -SO₂-, metileno, -CH(OH)-, -CH(NH₂)-, -CH(CH₂OH)-, -CH(CH₂-NH₂)- o -N(R₆)-. R₅ se selecciona del grupo que consiste en -H o un alquilo (C₁-C₃) simple y R₆ se selecciona del grupo que consiste en -H; un alquilo (C₁-C₃) simple o un acilo (C₁-C₃) simple

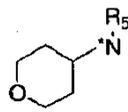
10

En realizaciones preferidas, R₃ se selecciona del grupo que consiste en benciloxicarbonilo y bencilsulfonilo.

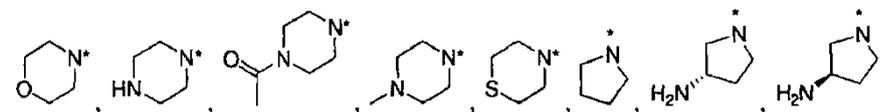
En otras realizaciones preferidas, R₄ se selecciona del grupo de

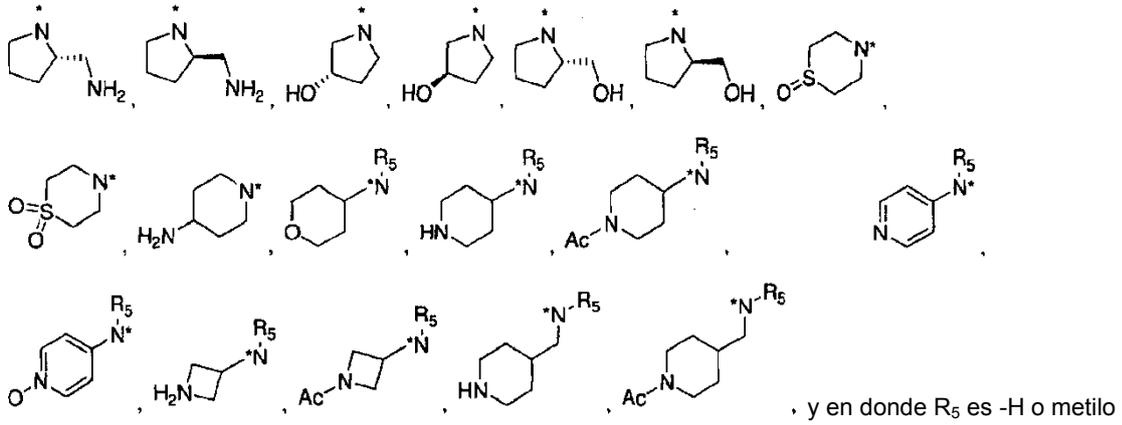


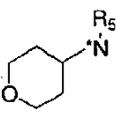
en donde R₅ es -H o metilo.

20 Los compuestos en donde R₄ es  no están comprendidos por la presente invención, pero se describen en la presente memoria.

En otra realización preferida, R₁ es -CH₂NH₂, y R₄ se selecciona del grupo de 

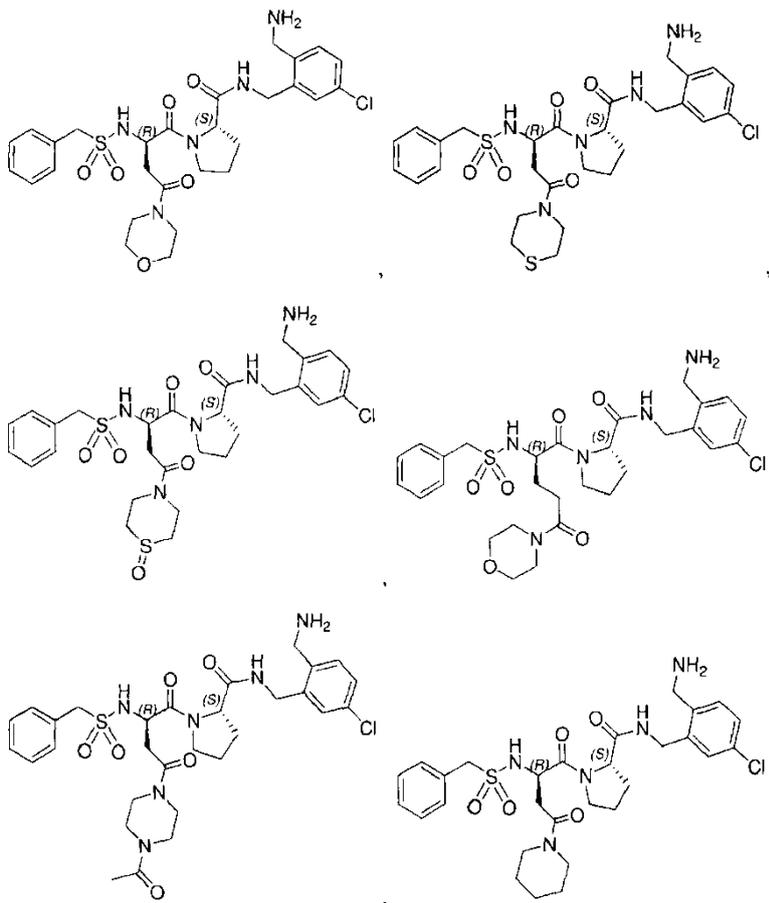


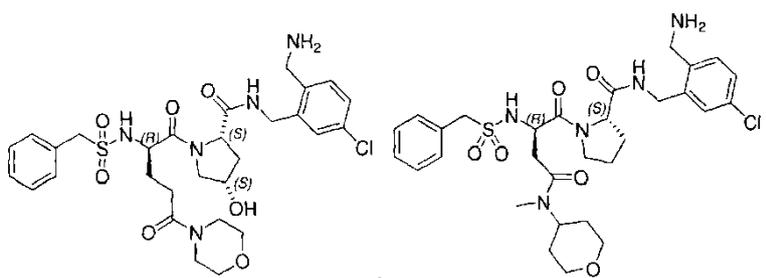
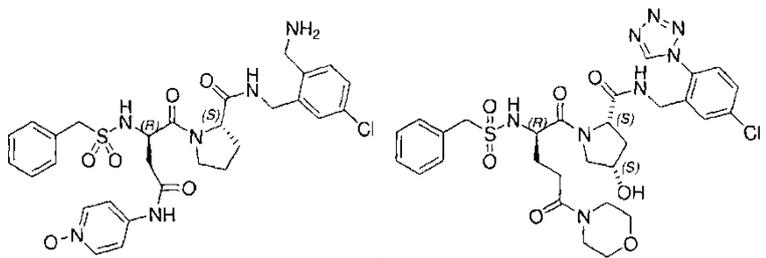
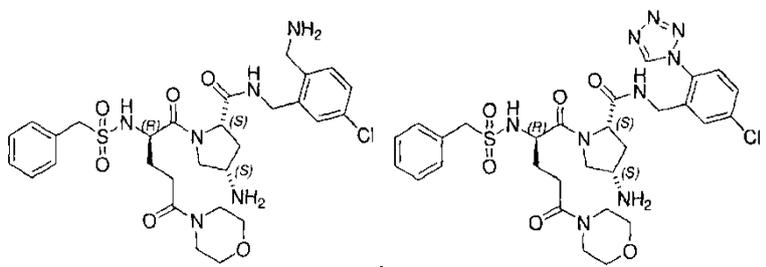
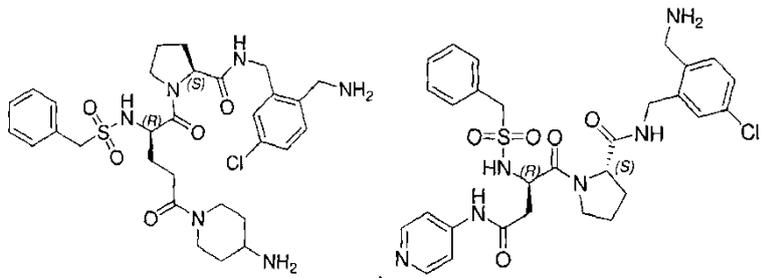
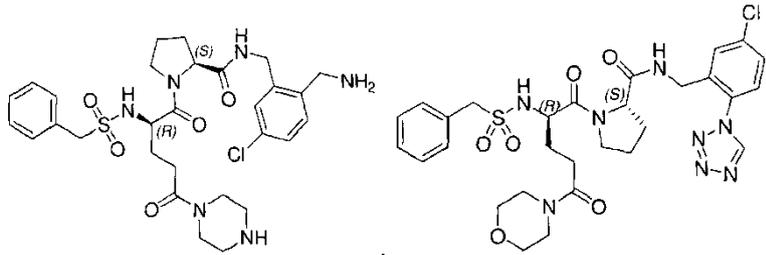
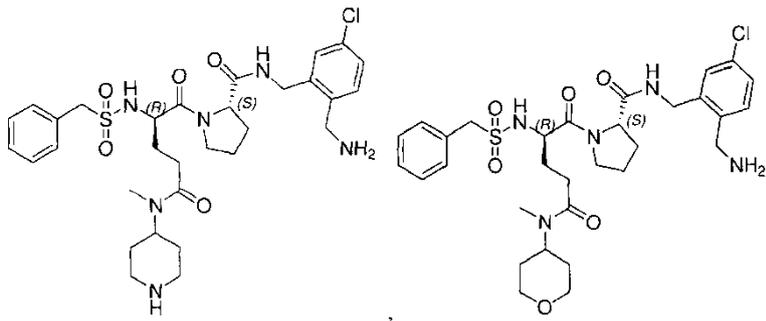


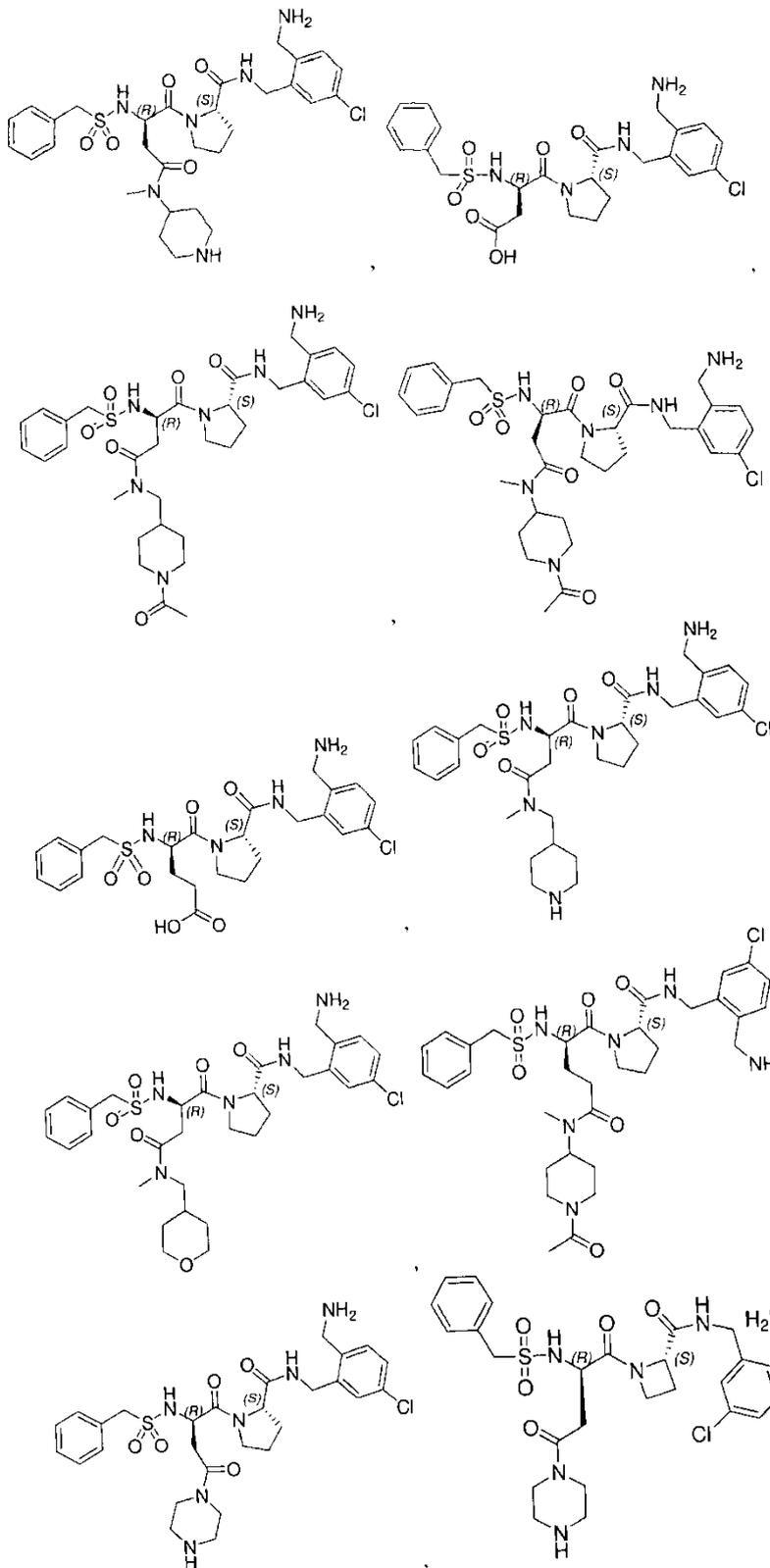
Los compuestos en donde R₄ es 

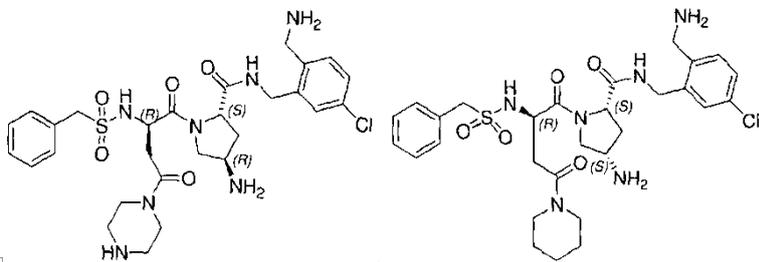
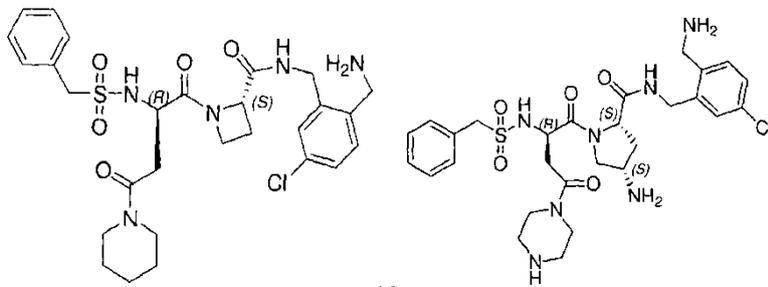
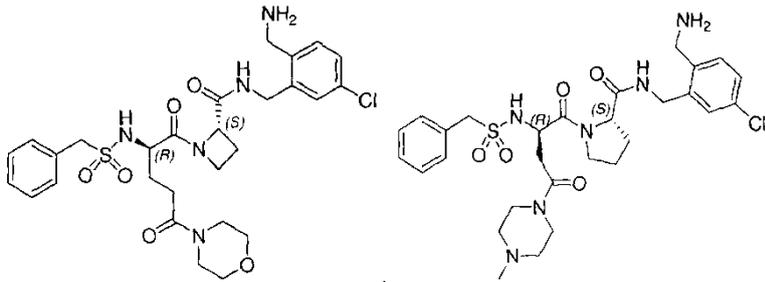
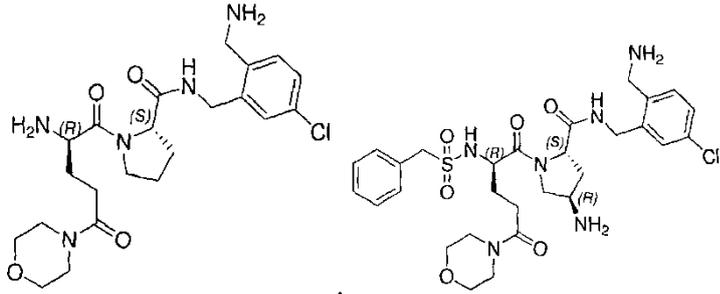
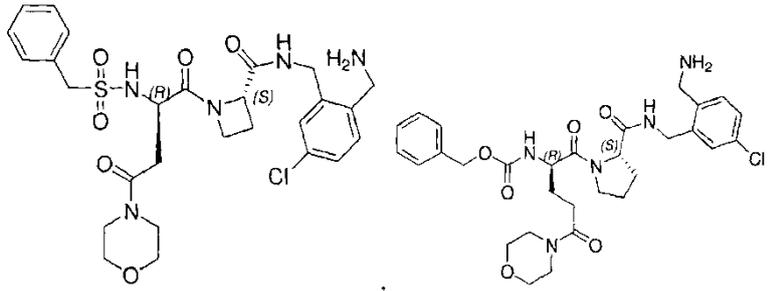
5 no están comprendidos por la presente invención, pero se describen en la presente memoria.

Se exponen a continuación ejemplos representativos de los compuestos de la invención.

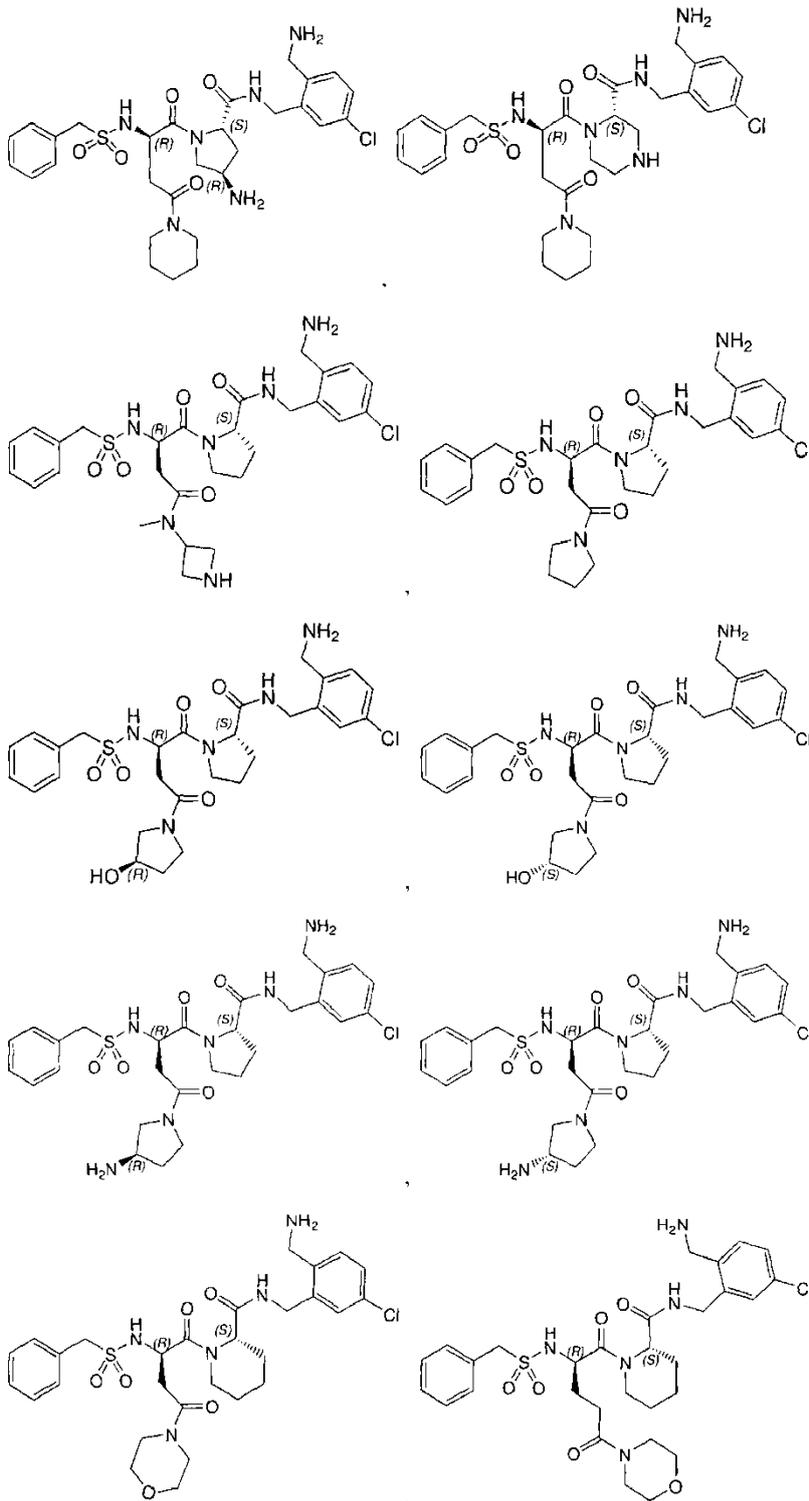


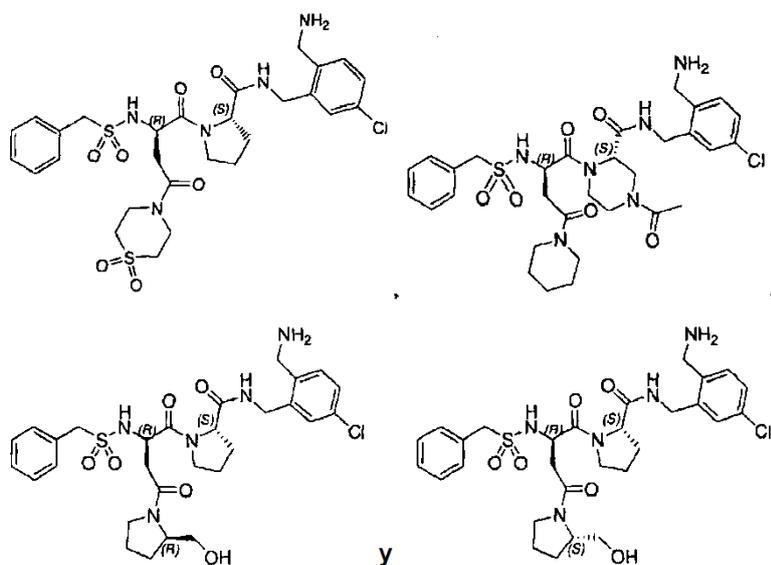






□





aceptables.

, o una de sus sales farmacéuticamente

- 5 Las sales farmacéuticamente aceptables de los compuestos de la invención se forman preferiblemente por adición de cualquier ácido que se sabe que es útil en la formación de sales farmacéuticas. Los ácidos preferidos para la formación de sales incluyen HCl, HBr, ácido sulfúrico, ácido fosfórico, ácido acético, ácido cítrico, ácido metanosulfónico, ácido trifluoroacético y ácido p-toluenosulfónico.

- 10 La invención también proporciona una composición farmacéutica que comprende uno o más compuestos de la invención, en combinación con uno o más vehículos o excipientes farmacéuticamente aceptables. Dichos excipientes incluyen, pero no se limitan a cargas, agentes aglutinantes, lubricantes, conservantes, agua, tampones y disgregantes. Las composiciones pueden estar en forma de sólidos o líquidos, preparadas para administración oral, o soluciones o suspensiones adecuadas para administración parenteral. En particular, se proporciona una solución salina tamponada adecuada para administración parenteral, así como composiciones en forma de polvo o liofilizadas para reconstituir en una solución salina tamponada.

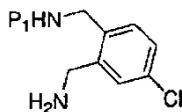
- 15 Los vehículos y excipientes farmacéuticamente aceptables son compuestos, soluciones, sustancias o materiales que se pueden usar para producir formulaciones de los compuestos de la presente invención que son adecuados para administrar a un sujeto. En particular, los vehículos y excipientes descritos en la presente invención son aquellos que son útiles en la preparación de una composición farmacéutica que sea en general segura, no tóxica y no sea indeseable biológicamente ni de otra forma, y que pueda presentar perfiles farmacológicamente favorables, e incluye
- 20 vehículos y excipientes que son aceptables para uso veterinario así como para uso farmacéutico humano. Los vehículos y excipientes farmacéuticamente aceptables son bien conocidos en la técnica y los pueden determinar los expertos en la técnica según requiera la situación clínica. El experto en la técnica entenderá que los diluyentes están incluidos dentro del alcance de los términos vehículos y excipientes. Los ejemplos de vehículos y excipientes incluyen disolución salina, disolución salina tamponada, dextrosa, glicerol, etanol, propilenglicol, polisorbato 80
- 25 (Tween-80™), polietilenglicol 300 y 400 (PEG 300 y 400), aceite de ricino PEGilado (p. ej. Cremophor EL), poloxámero 407 y 188, una ciclodextrina o un derivado de ciclodextrina (que incluye HPCD ((2-hidroxiopropil)-ciclodextrina) y (2-hidroxietil)-ciclodextrina; véase, p. ej., la publicación de solicitud de patente de EE.UU. 20060194717), vehículos hidrófilos e hidrófobos, y combinaciones de los mismos. Los vehículos hidrófobos incluyen, por ejemplo, emulsiones grasas, lípidos, fosfolípidos PEGilados, matrices poliméricas, polímeros biocompatibles,
- 30 liposferas, vesículas, partículas y liposomas.

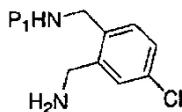
- Los excipientes incluidos en una formulación tienen diferentes fines dependiendo, por ejemplo, de la naturaleza del fármaco y del modo de administración. Los ejemplos de excipientes usados en general incluyen, sin limitación:
- 35 agentes estabilizantes, agentes solubilizantes y tensioactivos, tampones, antioxidantes y conservantes, agentes de tonicidad, agentes de carga, agentes lubricantes, emulsionantes, agentes de suspensión o viscosidad, diluyentes inertes, cargas, agentes disgregantes, agentes aglutinantes, agentes humectantes, agentes lubricantes, antibacterianos, agentes quelantes, edulcorantes, agentes perfumantes, agentes aromatizantes, agentes colorantes, auxiliares de administración y combinaciones de los mismos. Las composiciones pueden contener vehículos y excipientes comunes, tales como almidón de maíz o gelatina, lactosa, sacarosa, celulosa microcristalina, caolín, manitol, fosfato dicálcico, cloruro sódico, ácido alginico, croscarmelosa sódica y glicolato sódico de almidón. El
- 40 vehículo, diluyente o excipiente particular usados dependerá de los medios y fines para los que se vaya a aplicar el ingrediente activo. Los excipientes farmacéuticamente aceptables también incluyen agentes de tonicidad que hacen a la composición compatible con la sangre. Los agentes de tonicidad son particularmente convenientes en formulaciones inyectables.

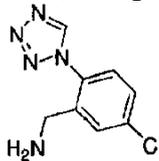
Los compuestos de fórmula general I se pueden preparar por formación secuencial de enlaces amida y sulfonamida usando grupos protectores seleccionados de forma adecuada. La expresión "grupo protector" se refiere a un grupo químico que presenta las siguientes características: 1) reacciona con un grupo funcional específico para dar un sustrato protegido que es estable frente a las reacciones previstas para las que se desea la protección; 2) se puede eliminar selectivamente del sustrato protegido para dar el grupo funcional deseado; y 3) se puede eliminar con buen rendimiento mediante reactivos compatibles con otro u otros grupos funcionales presentes o generados en dichas reacciones previstas. Los ejemplos de grupos protectores adecuados se pueden encontrar en Wuts y Greene (2007) Greene's Protective Groups in Organic Synthesis, 4ª Ed. (John Wiley & Sons, Inc., New York). Los grupos protectores de amino preferidos incluyen, pero no se limitan a bencetoiloxicarbonilo (CBz), t-butiloxicarbonilo (Boc), t-butildimetilsililo (TBDMS), 9-fluorenilmetil-oxicarbonilo (Fmoc), 6-nitroveratriloxicarbonilo (Nvoc), nitropiperonilo, pirenilmetoxicarbonilo, bencilo, nitrobencilo, dimetoxibencilo, 5-bromo-7-nitroindolinilo, y similares. Los grupos protectores de hidroxilo preferidos incluyen acetilo, benzoilo, bencilo, tetrahidropiranilo, TBDMS, éter de metoxi o etoximetilo y similares. Los grupos protectores de carboxilo preferidos incluyen, pero no se limitan a ésteres de metilo, etilo, bencilo, TBDMS, 2,2,2-tricloroetilo, 2-(trimetilsilil)etilo, (2-(trimetilsilil)etoxi)metilo, fenilo y nitrofenilo, tioésteres de etilo, metilo y fenilo, y similares.

Los compuestos de la invención se pueden preparar de varias formas. Los procedimientos sintéticos preferidos implican la formación de enlaces amida y sulfonamida entre componentes presintetizados.

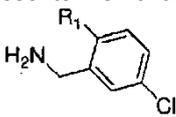
Como se usa en la presente memoria, la expresión "un ácido carboxílico activado" derivado de un ácido dado se refiere a derivados de ácidos carboxílicos que son reactivos frente a aminas, incluyendo pero no limitado a ésteres activos, anhídridos mixtos y haluros de ácido, como es conocido en la técnica de la síntesis de péptidos. Los ejemplos adecuados incluyen, pero no se limitan a ésteres de N-hidroxibenzotriazol, isoureas O-aciladas, ésteres de pentacloro- y pentafluoro-fenilo, cloruros de acilo y anhídridos mixtos con ácidos impedidos y monoésteres de ácido carbónico. Los ejemplos adecuados adicionales son sales de aciloxifosfonio. Los ácidos carboxílicos activados preferidos son el anhídrido mixto obtenido por reacción con cloroformiato de isobutilo, o el éster de N-hidroxibenzotriazol. Estos derivados de ácido carboxílico activados se pueden usar en forma pura o se pueden producir transitoriamente en la mezcla de reacción usando métodos que son bien conocidos para los expertos en la técnica.



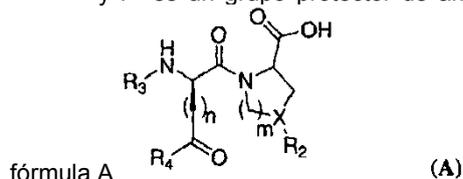
Los compuestos de estructura , en donde P¹ es un grupo protector de amino son bien conocidos en la técnica y se pueden obtener, por ejemplo, por los métodos descritos en Nelson et al., *J. Org. Chem.* 69, 3620-

3627, 2004 y Selnik et al., WO 02/50056, 2002. Los compuestos de estructura  son igualmente conocidos en la técnica y se pueden obtener por los métodos descritos en Young et al., *J. Med. Chem.* 47, 2995-3008, 2004.

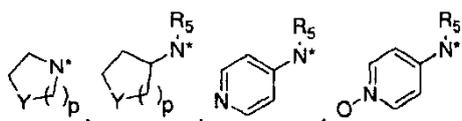
Como se describe en la presente memoria, los compuestos de la invención se pueden preparar por acilación de un

compuesto de estructura , en donde R₁ se selecciona del grupo que consiste en -CH₂NHP¹, y

 y P¹ es un grupo protector de amino, con un derivado de ácido carboxílico activado a partir del ácido de



en donde n es un número entero entre 1 y 2 inclusive; m es un número entero entre 0 y 2 inclusive; X se selecciona del grupo que consiste en CH o N; R₂ se selecciona del grupo que consiste en -H, -OH y -NHP² si X es CH y -P² o acetilo si X es N; R₃ se selecciona del grupo que consiste en -H, benciloxicarbonilo y bencilulfonilo; y R₄ se selecciona del grupo que consiste en -OP³,



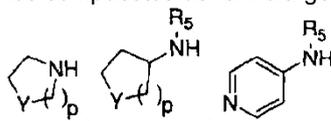
5 en donde p es un número entero entre 1 y 2 inclusive, Y se selecciona del grupo que consiste en -O-, -S-, -S(=O)-, -SO₂-, metileno, -CH(OH)-, -CH(NHP²)- o -N(R₆)- y R₅ se selecciona del grupo que consiste en -H o un alquilo (C₁-C₃) simple, y R₆ se selecciona del grupo que consiste en -P², un alquilo (C₁-C₃) simple o un acilo (C₁-C₃) simple; cada P² es independientemente un grupo protector de acilo; y P³ es un grupo protector de carboxilo. La posterior eliminación de los grupos protectores de amino P¹ y P² o los grupos protectores de amino P¹ y P² y el grupo protector de carboxilo P³ da los compuestos de la invención.

10 [00034] Si P¹ y uno o todos los grupos P² son el mismo grupo protector de amino, o los grupos protectores se eliminan en las mismas condiciones, entonces la desprotección final se puede llevar a cabo como una sola etapa. Por ejemplo, si P¹ y P² son todos grupos protectores terc-butiloxicarbonilo, se pueden eliminar todos en una sola etapa protolítica, por tratamiento con un ácido fuerte como ácido trifluoroacético en diclorometano o ácido clorhídrico en dioxano. De forma similar, si P¹ es un grupo protector terc-butiloxicarbonilo y uno o todos los grupos P² son grupos benciloxicarbonilo, se pueden eliminar todos en una sola etapa sintética por tratamiento con un ácido fuerte tal como ácido bromhídrico en ácido acético. En cambio, se puede llevar a cabo la eliminación de los grupos protectores en dos etapas separadas. Por lo tanto, si P¹ es un grupo protector terc-butiloxicarbonilo y uno o todos los grupos P² son grupos 9-fluorenilmetiloxicarbonilo, entonces la eliminación de P² se puede llevar a cabo con un reactivo fuertemente básico, tal como piperidina sola o en dimetilformamida, y en una etapa posterior, se puede llevar a cabo la eliminación de P¹ por tratamiento con un ácido fuerte, tal como ácido trifluoroacético en diclorometano o ácido clorhídrico en dioxano.

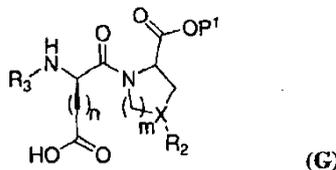
20 De forma similar, P³ se puede eliminar conjuntamente con P¹ y/o P² o se puede eliminar en una etapa separada. Por ejemplo, si P³ es un grupo protector terc-butilo y P¹ es un grupo terc-butiloxicarbonilo, se puede eliminar todos por tratamiento con un ácido fuerte tal como ácido trifluoroacético en diclorometano o ácido clorhídrico en dioxano. En cambio, P³ se puede eliminar en una etapa separada de la eliminación de P¹ y/o P². Por lo tanto si P³ es un grupo metilo y P¹ es un grupo terc-butiloxicarbonilo, entonces P³ se puede eliminar por tratamiento con un nucleófilo fuerte, tal como hidróxido de litio en dioxano/agua, y P¹ se puede eliminar en una etapa separada, por tratamiento con un ácido fuerte tal como ácido trifluoroacético en diclorometano o ácido clorhídrico en dioxano.

La purificación final de los compuestos de la invención se lleva a cabo preferiblemente por cromatografía de fase inversa preparativa, cristalización y/o recristalización. En particular, la selección de una sal cristalina adecuada de los compuestos de la invención puede ser un método preferido para la purificación final de los compuestos de la invención a gran escala, como es habitual en la técnica.

30 Como se describe en la presente memoria, los compuestos de fórmula general A se pueden preparar además por la



35 acilación de una amina de fórmula general en donde p es un número entero entre 1 y 2 inclusive, Y se selecciona del grupo que consiste en -O-, -S-, -S(=O)-, -SO₂-, metileno, -CH(OH)-, -CH(NHP²)- o -N(R₆)-. R₅ se selecciona del grupo que consiste en -H o un alquilo (C₁-C₃) simple y R₆ se selecciona del grupo que consiste en -P²; un alquilo (C₁-C₃) simple o un acilo (C₁-C₃) simple, con un ácido carboxílico activado derivado de la estructura G

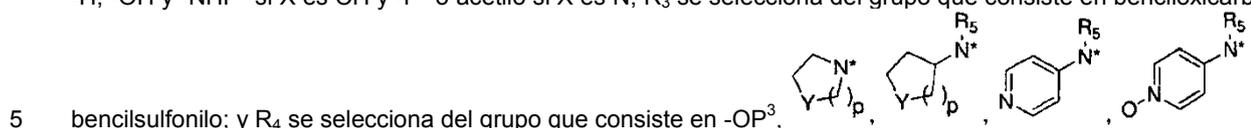


40 en donde n es un número entero entre 1 y 2 inclusive; m es un número entero entre 0 y 2 inclusive; X se selecciona del grupo que consiste en CH o N; R₂ se selecciona del grupo que consiste en -H, -OH y -NHP² si X es CH y -P² o acetilo si X es N; R₃ se selecciona del grupo que consiste en benciloxicarbonilo y bencilulfonilo; P¹ es un grupo protector de carboxilo; y cada P² es independientemente un grupo protector de amino. La posterior eliminación de los grupos protectores P¹; da los compuestos de fórmula general A. La secuencia de etapas de desprotección se describe, p. ej., en el párrafo [00034].

En una realización adicional de la invención, los compuestos de fórmula general A se pueden preparar además por acilación de una amina de fórmula H con un ácido carboxílico activado derivado del ácido de fórmula I

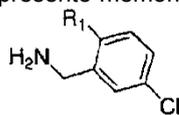


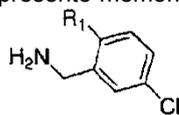
en donde n es un número entero entre 1 y 2 inclusive; m es un número entero entre 0 y 2 inclusive; X se selecciona del grupo que consiste en CH o N; P¹ es un grupo protector de carboxilo; R₂ se selecciona del grupo que consiste en -H, -OH y -NHP² si X es CH y -P² o acetilo si X es N; R₃ se selecciona del grupo que consiste en benciloxicarbonilo y



en donde p es un número entero entre 1 y 2 inclusive, Y se selecciona del grupo que consiste en -O-, -S-, -S(=O)-, -SO₂- metileno, -CH(OH)-, -CH(NHP²)- o -N(R₆)-, R₅ se selecciona del grupo que consiste en -H o un alquilo (C₁-C₃) simple y R₆ se selecciona del grupo que consiste en -P², un alquilo (C₁-C₃) simple o un acilo (C₁-C₃) simple; cada P² es independientemente un grupo protector de amino; y P³ es un grupo protector de carboxilo. La posterior eliminación del grupo protector P¹ da los compuestos de fórmula general **A**. La secuencia de etapas de desprotección se describe en el párrafo [00034].

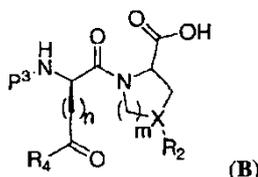
Como se describe en la presente memoria, los compuestos de la invención se pueden preparar por acilación de un



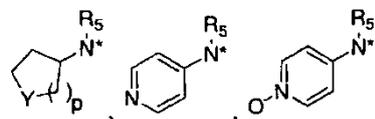
compuesto de estructura , en donde R₁ se selecciona del grupo que consiste en -CH₂NHP¹, y



y P¹ es un grupo protector de amino, con un ácido carboxílico activado derivado del ácido de fórmula **B**

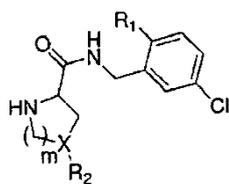


15 en donde n es un número entero entre 1 y 2 inclusive; m es un número entero entre 0 y 2 inclusive; X se selecciona del grupo que consiste en CH o N; R₂ se selecciona del grupo que consiste en -H, -OH y -NHP² si X es CH y -P² o acetilo si X es N; R₄ se selecciona del grupo que consiste en -OP⁴,

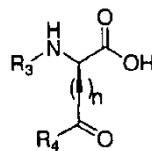


20 que consiste en -O-, -S-, -S(=O)-, -SO₂- metileno, -CH(OH)-, -CH(NHP²)- o -N(R₆)-, R₅ se selecciona del grupo que consiste en -H o un alquilo (C₁-C₃) simple y R₆ se selecciona del grupo que consiste en -P², un alquilo (C₁-C₃) simple o un acilo (C₁-C₃) simple; cada P² es independientemente un grupo protector de amino; P³ es un grupo protector de amino que se puede escindir en presencia de P¹, P² y P⁴; y P⁴ es un grupo protector de carboxilo. El grupo protector de amino P³ posteriormente se elimina y el grupo amino desprotegido resultante se trata con haluro de bencilsulfonilo, antes de la escisión de los grupos protectores de amino P¹ y P² y el grupo protector de carboxilo P⁴. La secuencia de etapas de desprotección se describe, p. ej., en el párrafo [00034].

Como se describe en la presente memoria, los compuestos de la invención se pueden preparar por acilación de una amina de fórmula **D** con un ácido carboxílico activado derivado del ácido de fórmula **E**



(D)

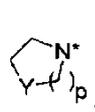
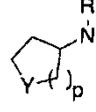
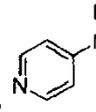
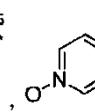


(E)

en donde n es un número entero entre 1 y 2 inclusive; m es un número entero entre 0 y 2 inclusive; X se selecciona

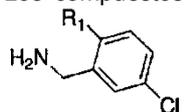
del grupo que consiste en CH o N; R₁ se selecciona del grupo que consiste en -CH₂NHP¹, y  y P¹ es un grupo protector de amino; R₂ se selecciona del grupo que consiste en -H, -OH y -NHP² si X es CH y -P² o acetilo si X es N; R₃ se selecciona del grupo que consiste en benciloxicarbonilo y bencilsulfonilo; y R₄ se selecciona del grupo que

5

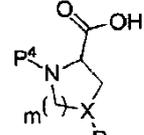
consiste en -OP³, , , , , en donde p es un número entero entre 1 y 2 inclusive, Y se selecciona del grupo que consiste en -O-, -S-, -S(=O)-, -SO₂-, metileno, -CH(OH)-, -CH(NHP²)- o -N(R₆)-, R₅ se selecciona del grupo que consiste en -H o un alquilo (C₁-C₃) simple y R₆ se selecciona del grupo que consiste en -P², un alquilo (C₁-C₃) simple o un acilo (C₁-C₃) simple; cada P² es independientemente un grupo protector de amino; y P³ es un grupo protector de carboxilo. La posterior eliminación de los grupos protectores P¹, P² y P³ da los compuestos de la invención. La secuencia de etapas de desprotección se describe en el párrafo [00034].

10

Los compuestos de fórmula general D se pueden obtener además por acilación de un compuesto de estructura

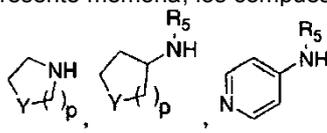


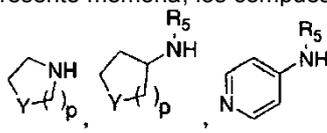
, en donde R₁ se selecciona del grupo que consiste en -CH₂NHP¹, y  y P¹ es un grupo

protector de amino, con un ácido carboxílico activado derivado de un compuesto de estructura  en donde m es un número entero entre 0 y 2 inclusive, X se selecciona del grupo que consiste en CH o N, R₂ se selecciona del grupo que consiste en -H, -OH y -NHP² si X es CH y -P² o acetilo si X es N, y cada P² y P⁴ son cada uno grupos protectores de amino de modo que P⁴ se puede eliminar selectivamente en presencia de P²; y la posterior escisión del grupo protector P⁴.

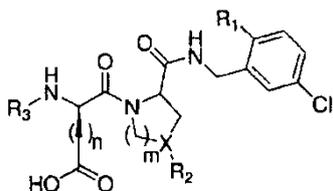
15

Como se describe en la presente memoria, los compuestos de la invención se pueden preparar por acilación de una



amina de fórmula general  en donde p es un número entero entre 1 y 2 inclusive, Y se selecciona del grupo que consiste en -O-, -S-, -S(=O)-, -SO₂-, metileno, -CH(OH)-, -CH(NHP²)- o -N(R₆)-, R₅ se selecciona del grupo que consiste en -H o un alquilo (C₁-C₃) simple y R₆ se selecciona del grupo que consiste en -P², un alquilo (C₁-C₃) simple o un acilo (C₁-C₃) simple con un ácido carboxílico activado derivado de estructura F

25



(F)

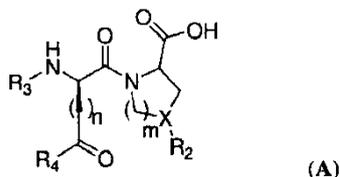
en donde n es un número entero entre 1 y 2 inclusive; m es un número entero entre 0 y 2 inclusive; X se selecciona

del grupo que consiste en CH o N; R₁ se selecciona del grupo que consiste en -CH₂NHP¹, y , en donde P¹ es un grupo protector de amino; R₂ se selecciona del grupo que consiste en -H, -OH y -NHP² si X es CH y -P² o acetilo si X es N; R₃ se selecciona del grupo que consiste en benciloxicarbonilo y bencilsulfonilo; y cada P² es independientemente un grupo protector de amino. La posterior escisión de los grupos protectores de amino P¹ y P² da los compuestos de la invención. La secuencia de etapas de desprotección se describe en el párrafo [00034].

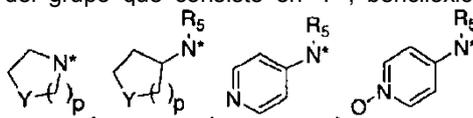
30

Los compuestos de fórmula general **F** se pueden preparar por cualquiera de los procedimientos descritos en los párrafos [00033] a [00042], en donde R_4 es OP^3 y P^3 es un grupo protector de carboxilo que se puede eliminar en presencia de todos los demás grupos protectores. La posterior eliminación de P^3 da los compuestos de fórmula general **F**.

- 5 Los productos intermedios clave usados en los procedimientos descritos en los párrafos [00033] a [00043] que conducen a los compuestos de la invención son ellos mismos realizaciones de la invención. Esto incluye el compuesto que tiene la fórmula general **A**



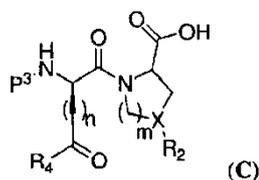
- 10 en donde n es un número entero entre 1 y 2 inclusive; m es un número entero entre 0 y 2 inclusive; X se selecciona del grupo que consiste en CH o N; R_2 se selecciona del grupo que consiste en -H, -OH y -NHP² si X es CH y -P² o acetilo si X es N; R_3 se selecciona del grupo que consiste en -P², benciloxycarbonilo y bencilulfonilo; y R_4 se



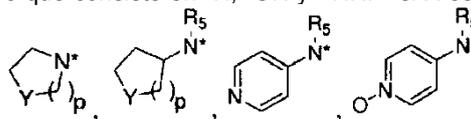
- 15 selecciona del grupo que consiste en $(Y)_p$, $(Y)_p$, $(Y)_p$, $(Y)_p$, en donde p es un número entero entre 1 y 2 inclusive, Y se selecciona del grupo que consiste en -O-, -S-, -S(=O)-, -SO₂ metileno, -CH(OH)-, -CH(NHP²)- o -N(R₆)-, R_5 se selecciona del grupo que consiste en -H o un alquilo (C₁-C₃) simple y R_6 se selecciona del grupo que consiste en -P², un alquilo (C₁-C₃) simple o un acilo (C₁-C₃) simple; y cada P₂ es independientemente un grupo protector de amino.

Los compuestos, en donde R_4 es -OP³, en donde P³ es un grupo protector de carboxilo, se describen en la presente memoria.

- 20 De forma similar, también están incluidos como realizaciones de la invención compuestos que tienen la fórmula general **C**

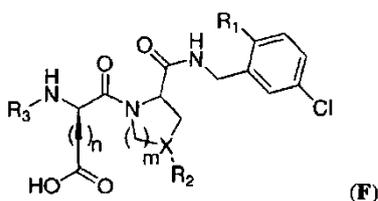


en donde n es un número entero entre 1 y 2 inclusive; m es un número entero entre 0 y 2 inclusive; X se selecciona del grupo que consiste en CH o N; R_2 se selecciona del grupo que consiste en -H, -OH y -NHP² si X es CH y -P² o



- 25 acetilo si X es N; R_4 se selecciona del grupo que consiste en $(Y)_p$, $(Y)_p$, $(Y)_p$, $(Y)_p$, en donde p es un número entero entre 1 y 2 inclusive, Y se selecciona del grupo que consiste en -O-, -S-, -S(=O)-, -SO₂-, metileno, -CH(OH)-, -CH(NHP²)- o -N(R₆)-, R_5 se selecciona del grupo que consiste en -H o un alquilo (C₁-C₃) simple y R_6 se selecciona del grupo que consiste en -P², un alquilo (C₁-C₃) simple o un acilo (C₁-C₃) simple; cada P² es independientemente un grupo protector de amino; y P³ es un grupo protector de amino que se puede escindir en presencia de cada P². Los compuestos, en donde R_4 es -OP⁴, en donde P⁴ es un grupo protector de carboxilo, se describen en la presente memoria.

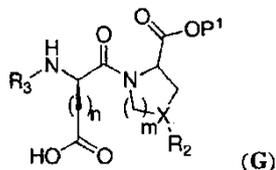
De forma similar, también están incluidos como realizaciones de la invención compuestos que tienen la fórmula general **F**



en donde n es un número entero entre 1 y 2 inclusive; m es un número entero entre 0 y 2 inclusive; X se selecciona

del grupo que consiste en CH o N; R₁ se selecciona del grupo que consiste en -CH₂NHP¹, y , en donde P¹ es un grupo protector de amino; R₂ se selecciona del grupo que consiste en -H, -OH y -NHP² si X es CH y -P² o acetilo si X es N; R₃ se selecciona del grupo que consiste en -P², benciloxicarbonilo y bencilulfonilo; y cada P² es independientemente un grupo protector de amino.

5 La invención describe compuestos que tienen la siguiente fórmula G



10 en donde n es un número entero entre 1 y 2 inclusive; m es un número entero entre 0 y 2 inclusive; X se selecciona del grupo que consiste en CH o N; R₂ se selecciona del grupo que consiste en -H, -OH y -NHP² si X es CH y -P² o acetilo si X es N; R₃ se selecciona del grupo que consiste en -P², benciloxicarbonilo y bencilulfonilo; P¹ es un grupo protector de carboxilo; y cada P² es independientemente un grupo protector de amino.

Los ejemplos representativos de los compuestos intermedios usados en la preparación de los compuestos de la invención se describen, pero no se limitan a los compuestos en la sección de ejemplos. Estos compuestos intermedios son ellos mismos compuestos de la invención.

15 Los compuestos de la invención son útiles para el tratamiento o prevención de una enfermedad cardiovascular, un trastorno trombótico o suceso tromboembólico en un paciente, de modo que se administra una cantidad eficaz de al menos un compuesto de fórmula I a un paciente que lo necesite.

Los compuestos de la invención son útiles para establecer la reperfusión o para retrasar la reoclusión de la circulación de la sangre en un paciente, de modo que el paciente pueda ser sometido a trasplante de órgano o procedimiento quirúrgico cardiaco, o un procedimiento quirúrgico con derivación cardiopulmonar.

20 Los compuestos de la invención son útiles para la modulación terapéutica de la cascada de coagulación de la sangre. Como se usa en la presente memoria, la "modulación terapéutica" incluye una afección en la que está indicada la anticoagulación, y la estabilización o promoción in vivo de actividades hemostáticas innatas. En particular, los compuestos son útiles para la terapia o prevención de un trastorno cardiovascular, una enfermedad trombótica o un suceso tromboembólico en un paciente. En estos pacientes, es necesario establecer la reperfusión o retrasar la reoclusión de la circulación de la sangre en un paciente, lo que se puede llevar a cabo por la administración de los compuestos de la invención. Los pacientes que necesitan dicho tratamiento incluyen los sometidos a cirugía, en particular trasplante de órgano y procedimiento quirúrgico cardiaco, y los que padecen un trastorno de la hemostasia adquirido o congénito.

30 Los sujetos que se pueden tratar con las composiciones de la invención incluyen, pero no se limitan a pacientes que experimentan síndrome coronario agudo, fibrilación auricular, trombosis venosa profunda y embolia pulmonar, coagulación intravascular diseminada aguda y trombocitopenia inducida por heparina (HIT), y pacientes que requieren intervención coronaria percutánea, derivación cardiopulmonar para cirugía cardíaca, un circuito de oxigenación de membrana extracorpórea para soporte vital extracorpóreo, cardiología intervencionista (angioplastia e implante de endoprótesis vascular) y hemofiltración.

35 Los compuestos de la invención son útiles para inhibir de forma doble la trombina y el factor Xa en un paciente o en la sangre extracorpórea, de modo que la inhibición puede servir para tratar o prevenir un trastorno cardiovascular o suceso tromboembólico en un paciente.

40 En otras realizaciones preferidas, los compuestos de la invención se pueden usar para tratar o prevenir la inflamación inducida por trombina en un paciente o en sangre extracorpórea, incluyendo en situaciones en donde dicha inflamación es causada por una enfermedad seleccionada del grupo que consiste en síndrome de dificultad respiratoria del adulto, choque séptico, septicemia y daño por reperfusión; se pueden usar para inhibir la acreción de trombos en un paciente causado por trombina unida a un coágulo; se pueden usar para inhibir la trombosis dependiente de plaquetas en un paciente; y se pueden usar para tratar o prevenir la coagulación intravascular diseminada en un paciente.

45 Preferiblemente, el compuesto o compuestos se administran en forma de una composición farmacéutica como se ha descrito antes. Los expertos en la técnica apreciarán que las dosis adecuadas variarán con el compuesto particular, la vía de administración, la afección que se va a tratar y el estado hemostático del paciente. En general, serán eficaces dosis diarias en el intervalo de 1 mg a 500 mg. Los niveles de dosis eficaces se pueden determinar mediante estudios de intervalo de dosis, que son rutinarios y de acuerdo con el criterio de los expertos en la técnica. La dosis puede ser continua (p. ej., por un catéter intravenoso), o se pueden administrar dosis unitarias una o más

veces al día, según sea necesario para mantener una concentración eficaz in vivo. Preferiblemente, la dosis se ajusta de modo que se mantenga un nivel en la sangre medio en el intervalo de 0,01 a 10 g/ml durante el periodo para el que se desea la modulación terapéutica de la cascada de coagulación de la sangre.

5 Los compuestos de la invención son útiles para la inhibición doble de la trombina y factor Xa humanos, en un paciente que lo necesite, de modo que se administra una cantidad eficaz de uno o más compuestos de fórmula I a un paciente que lo necesite. Las dosis efectivas se determinan como se ha descrito antes.

Los compuestos de la invención son útiles para la modulación terapéutica de la cascada de coagulación de la sangre, la inhibición doble de la trombina y factor Xa humanos.

10 En otra realización de la invención, los compuestos de la invención se pueden usar en la fabricación de una composición para el revestimiento de la superficie de un dispositivo invasivo que se va a insertar en un paciente. En una realización preferida, el dispositivo invasivo es un dispositivo invasivo que se pone en contacto con la sangre. Los ejemplos de dichos dispositivos son prótesis, endoprótesis, derivaciones, catéteres o dispositivos de suministro de fármacos local. Como se usa en la presente memoria, un dispositivo invasivo puede ser cualquier dispositivo médico que se pueda implantar en un paciente humano o veterinario. Los ejemplos de dichos dispositivos
15 implantables incluyen, pero no se limitan a endoprótesis autoexpandibles, endoprótesis expandibles con balón, endoprótesis-injerto, injertos (p. ej., injertos aórticos), prótesis valvular cardiaca, derivaciones de líquido cefalorraquídeo, electrodos de marcapasos, catéteres, derivaciones endocordiales, dispositivos anastomóticos y conectores, implantes ortopédicos tales como tornillos, implantes espinales, y dispositivos electroestimuladores. La estructura subyacente del dispositivo puede ser prácticamente de cualquier diseño. El dispositivo puede estar hecho
20 de un material metálico o una aleación, tal como, pero no limitado a acero inoxidable, titanio, tántalo, aleación de níquel-aluminio, aleación de platino-iridio, oro, magnesio, o combinaciones de los mismos. También se podrían usar dispositivos hechos de polímeros, incluyendo polímeros bioabsorbibles o bioestables, con las realizaciones de la presente invención.

En realizaciones preferidas, el paciente tratado con los compuestos de la invención es un ser humano.

25 Los siguientes ejemplos se presentan a modo de ejemplo.

Ejemplos

Ejemplo 1: Síntesis de inhibidores dobles de trombina/factor Xa

Métodos analíticos

A.1.1 HPLC analítico 1

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

30

A.1.2 HPLC analítico 2

Variable	Parámetros
Dispositivo	Agilent 1100 series LC/MSD
Columna	Columna Phenomenex Onyx monolítica C ₁₈ , 2,0 × 50 mm
Fase móvil	A: ácido fórmico, 0,1%(v/v) en agua; B: ácido fórmico, 0,1 %(v/v) en metanol
Método	Gradiente lineal de 15 a 13,3% de B por min
Caudal	0,6 ml/min
Longitud de onda de detección	UV 220 nm
Temperatura de la columna	25°C
Volumen de inyección	20 µl

ES 2 654 440 T3

A.1.3 HPLC preparativa

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

A.1.4 Espectroscopía de masas

5 Los espectros de masas se registraron en un Esquire HCT ESI-MS (Bruker Daltonics) o en un ESI-MS de un cuadrupolo de Agilent.

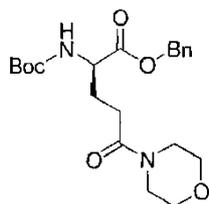
Abreviaturas

	Ac	Acetilo
	Amb(2-AMe[Boc]-5-Cl)	éster de terc-butilo del ácido (2-aminometil-4-clorobencil)-carbámico
	Amb(2-AMe-5-Cl)	4-Cloro-1,2-bencenodimetanamina
10	Asp	Ácido aspártico
	Aze	Ácido azetidina-2-carboxílico
	Bn	Bencilo
	Boc	terc-Butiloxicarbonilo
	Bzls	Bencilsulfonilo
15	CAS	Número de registro del servicio de Chemical Abstracts
	Cbz	Benciloxicarbonilo
	DCM	Diclorometano
	DIEA	Diisopropiletilamina
	DMF	N,N-Dimetilformamida
20	EDCxHCl	Hidrocloreuro de la 1-etil-3-(3-dimetilaminopropil)carbodiimida
	EtOH	etanol
	Fmoc	Fluorenilmetiloxicarbonilo
	Glu	Ácido glutámico
	HBTU	Hexafluorofosfato de O-benzotriazol-N,N',N'-tetrametiluronio
25	HOBt	Hidroxibenzotriazol
	HPLC	Cromatografía líquida de alto rendimiento
	Hyp	Ácido 4-Hidroxipirrolidina-2-carboxílico
	iPrOH	2-propanol
	mCPBA	Ácido 3-cloroperoxibenzoico
30	Me	Metilo
	MeOH	metanol
	MS	Espectroscopía de masas

NMM	N-Metilmorfolina
Pro	Prolina
PyBop	Hexafluorofosfato de benzotriazol-1-il-oxitripirrolidinofosfonio
sat.	saturado
5 tBu	terc-Butilo
TEA	Trietilamina
TFA	Ácido trifluoroacético
THF	tetrahidrofurano
TLC	Cromatografía de capa fina.

10 1. Síntesis de precursores

1.1 Boc-D-Glu(morfolino)-OBn

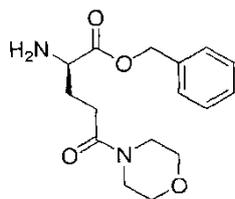


15 A una disolución de Boc-D-Glu-OBn (3,4 g, 10,0 mmol) y morfolina (0,9 ml, 10,0 mmol) en DMF seca (60 ml) se añadió HBTU (4,2 g, 11,0 mmol) y DIEA (4,3 ml, 25,0 mmol) a 0°C. La mezcla se agitó a 0°C durante 15 min y a temperatura ambiente durante 2,0 h. El disolvente se evaporó a vacío, el residuo se disolvió en acetato de etilo y se lavó consecutivamente con disolución acuosa de KHSO_4 al 5%, disolución acuosa saturada de NaHCO_3 , y salmuera. La capa orgánica se secó sobre Na_2SO_4 y el disolvente se evaporó a vacío.

Rendimiento: 4,4 g (> 100 %, polvo blanco)

HPLC: 76,7% de B HPLC 1; MS calc.: 406,5, encontrado 407,1 (M+H)⁺

20 1.2 H-D-Glu(morfolino)-OBn x TFA

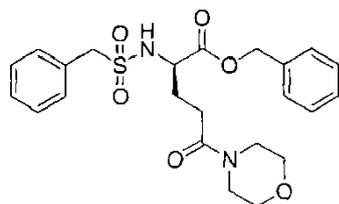


A una disolución del compuesto 1.1 (4,1 g, 10,0 mmol) en DCM (10 ml) se añadió TFA (10 ml). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 1,0 h. El disolvente se evaporó a vacío para obtener el compuesto del título bruto.

Rendimiento: 4,0 g (98 %, aceite)

25 HPLC: 44,7% de B HPLC 1; MS calc.: 306,2, encontrado 307,0 (M+H)⁺

1.3 BzIs-D-Glu(morfolino)-OBn



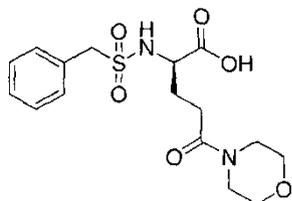
A una disolución del compuesto 1.2 (3,0 g, 7,1 mmol) en DCM (50 ml) se añadió cloruro de BzIs (2,0 g, 10,7 mmol) y TEA (3,0 ml, 21,4 mmol) a 0°C y la mezcla se agitó durante 3 h. El disolvente se evaporó a vacío, el residuo se

disolvió en acetato de etilo, se lavó con disolución acuosa de KHSO_4 al 5%, disolución acuosa saturada de NaHCO_3 y salmuera. La capa orgánica se secó sobre Na_2SO_4 y se concentró a sequedad para dar el compuesto del título.

Rendimiento: 3,0 g (92 %, aceite).

HPLC: 73,4% de B HPLC 1; MS calc.: 460,5, encontrado 461,0 (M+H)⁺

5 1.4 Bzls-D-Glu(morfolino)-OH

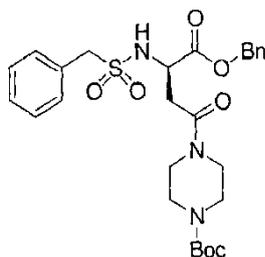


10 A una disolución del compuesto 1.3 (3,0 g, 6,5 mmol) en etanol (30 ml) se añadió Pd/C al 10% (30 mg) a temperatura ambiente en atmósfera de nitrógeno. El nitrógeno se sustituyó por hidrógeno y la mezcla se agitó a temperatura ambiente 4 h. La mezcla se lavó por barrido con nitrógeno, se filtró a través de Celite y el disolvente se evaporó a vacío para dar el compuesto del título bruto.

Rendimiento: 2,3 g (95%, sólido).

HPLC: 64,3% de B HPLC 1; MS calc.: 370,4, encontrado 370,9 (M+H)⁺

1.5 Bzls-D-Asp(l-Boe-Piperazin-4-il)-OBn

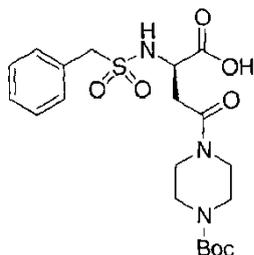


15 El compuesto del título se preparó de acuerdo con el procedimiento descrito para el compuesto 1.1 usando el compuesto 1.24 (0,62 g, 1,65 mmol), Boc-piperazina y PyBop como reactivo de acoplamiento.

Rendimiento: 1,4 g (88%, espuma blanca)

HPLC: 77,0% de B HPLC 1; MS calc.: 545,2, encontrado 544,0 (M-H)⁻

1.6 Bzls-D-Asp(1-Boc-Piperazin-4-il)-OH



20 Una mezcla del éster de bencilo 1.5 (1,42 g, 2,6 mmol) en dioxano (5 ml) y disolución acuosa de LiOH 1 M (5 ml) se agitó a temperatura ambiente durante 4 h. La reacción se detuvo por la adición de 5 ml de HCl 1 N, el disolvente se evaporó a vacío, el residuo se disolvió en acetato de etilo y se lavó consecutivamente con disolución acuosa de KHSO_4 al 5%, y salmuera. La capa orgánica se secó sobre Na_2SO_4 y el disolvente se evaporó a vacío para dar el compuesto del título.

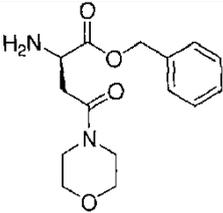
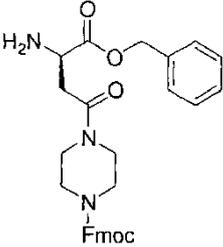
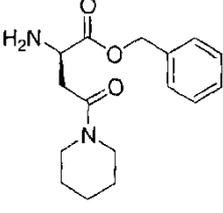
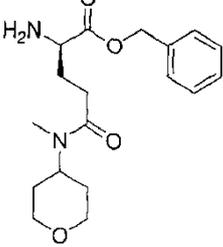
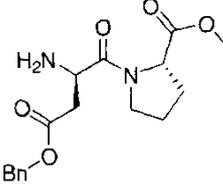
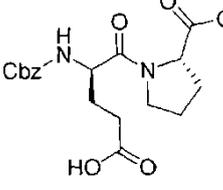
Rendimiento: 1,1 g (90%, espuma blanca)

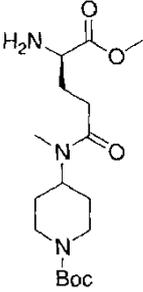
HPLC: 63,9% de B HPLC 1; MS calc.: 455,2, encontrado 453,9 (M-H)⁻

Los compuestos indicados en la tabla 1 se prepararon de acuerdo con el procedimiento descrito para el compuesto

1.1 y la desprotección de los compuestos intermedios se hizo de acuerdo con el procedimiento descrito para el compuesto 1.2 o 1.4:

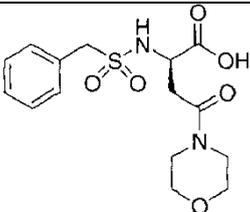
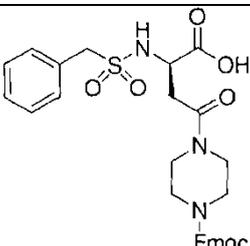
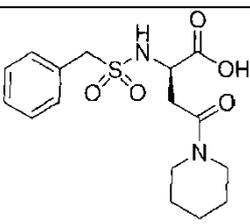
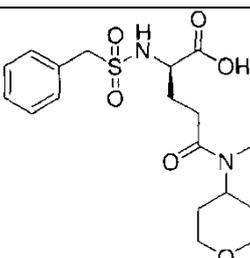
Tabla 1

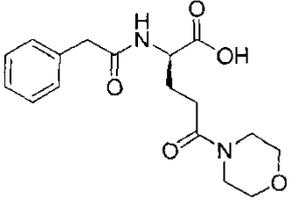
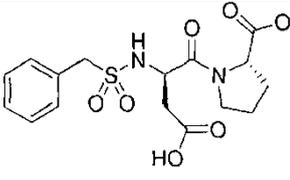
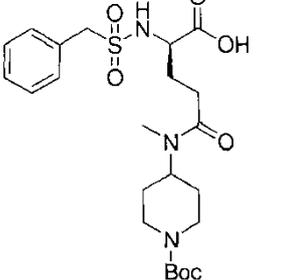
n°	Estructura	Precursores	MS calculado/ encontrado	HPLC % de B
1.7		a) Boc-D-Asp-OBn b) Morfolina desprotección realizada como para la desprotección realizada para 1.2	292,1/293,2 (M+H) ⁺	30,9 HPLC 2
1.8		a) Boc-D-Asp-OBn b) Fmoc-Piperazina desprotección realizada como para 1.2	513,2/514,3 (M+H) ⁺	86,9 HPLC 2
1.9		a) Boc-D-Asp-OBn b) Piperidina desprotección realizada como para 1.2	290,2/291,1 (M+H) ⁺	48,5 HPLC 2
1.10		a) Boc-D-Glu-OBn b) CAS 220641-87-2 desprotección realizada como para 1.2	334,2/335,1 (M+H) ⁺	26,8 HPLC 1
1.11		a) Boc-D-Asp(OBn)-OH b) H-Pro-OMe desprotección realizada como para 1.2	334,2/335,1 (M+H) ⁺	28,6 HPLC 1
1.12		a) Cbz-D-Glu(OtBu)-OH b) H-Pro-OMe desprotección realizada como para 1.2	392,2/415,0 (M+Na) ⁺	68,4 HPLC 1

n°	Estructura	Precusores	MS calculado/ encontrado	HPLC % de B
1.13		a) Cbz-D-Glu-OMe b) 1-Boc-4-Metil-aminopiperidine desprotección realizada como para 1.4	357,2/358,1 (M+Na) ⁺	45,7 HPLC 1

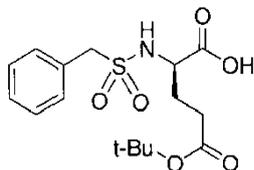
Los compuestos indicados en la tabla 2 se prepararon de acuerdo con el procedimiento descrito para el compuesto 1.3 y la desprotección de los compuestos intermedios se hizo de acuerdo con el procedimiento descrito para el compuesto 1.2, 1.4 o 1.6:

5 Tabla 2

n°	Estructura	Precusores	MS calculado/ encontrado	HPLC % de B
1.14		a) 1.7 b) Cloruro de BzIs desprotección realizada como para 1.4	356,1/357,1 (M+H) ⁺	56,0 HPLC 2
1.15		a) 1.8 b) Cloruro de BzIs desprotección realizada como para 1.4	577,2/578,2 (M+H) ⁺	100,0 HPLC 2
1.16		a) 1.9 b) Cloruro de BzIs desprotección realizada como para 1.4	354,1/355,0 (M+H) ⁺	74,1 HPLC 2
1.17		a) 1.10 b) Cloruro de BzIs desprotección realizada como para 1.6	398,2/397,0 (M-H) ⁻	64,1 HPLC 1

n°	Estructura	Precusores	MS calculado/ encontrado	HPLC % de B
1.18		a) 1.2 b) Cloruro de fenacetilo desprotección realizada como para 1.4 usando etanol/ácido acético 1:1 como disolvente	334,2/335,0 (M+H) ⁺	63,3 HPLC 1
1.19		a) H-D-Asp(OBn)-L-Pro-OMe b) Cloruro de Bzls desprotección realizada como para 1.4	398,1/399,0 (M+H) ⁺	50,8 HPLC 1
1.20		a) 1.13 b) Cloruro de Bzls desprotección realizada como para 1.6	497,2/496,1 (M-H) ⁻	71,0 HPLC 1

1.21 Bzls-D-Glu(OtBu)-OH



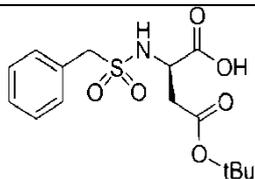
5 A una mezcla de H-D-Glu(OtBu)-OH x H₂O (1,0 g, 4,5 mmol), disolución acuosa de NaOH 1 M (4,5 ml, 4,5 mmol), dioxano (30 ml) y agua (15 ml) se añadió una disolución de cloruro de Bzls (4,9 g, 25,8 mmol) en 30 porciones a lo largo de 24 h. El pH se mantuvo entre 8-9 por adición de disolución acuosa de NaOH 1 M. Se continuó agitando hasta que no se detectó más material de partida por TLC. El disolvente se evaporó a vacío y el residuo se repartió entre acetato de etilo y disolución acuosa de KHSO₄ al 5%. La capa orgánica se lavó con disolución acuosa de KHSO₄ al 5% y salmuera, se secó sobre Na₂SO₄, y se evaporó a vacío para dar el compuesto del título.

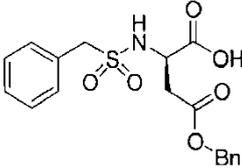
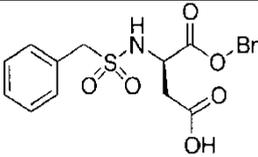
10 Rendimiento: 1,6 g (100%, sólido blanco).

HPLC: 66,5% de B HPLC 1; MS calc.: 357,1, encontrado 355,8 (M-H)⁻

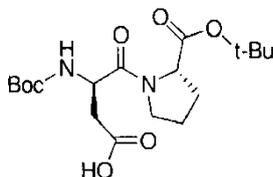
Los compuestos indicados en la tabla 3 se prepararon de acuerdo con el procedimiento descrito para el compuesto 1.21.

Tabla 3

n°	Estructura	Precusores	MS calculado/ encontrado	HPLC % de B
1.22		a) H-D-Asp(OtBu)-OH b) Cloruro de Bzls	343,1/342,0 (M-H) ⁻	34,4 HPLC 2

n°	Estructura	Precusores	MS calculado/ encontrado	HPLC % de B
1.23		a) H-D-Asp(OBn)-OH b) Cloruro de Bzls	377,1/375,9 (M-H) ⁻	60,1 HPLC 1
1.24		a) H-D-Asp-OBn b) Cloruro de Bzls	377,1/377,8 (M+H) ⁺	55,2 HPLC 1

1.25 Boc-D-Asp-L-Pro-OtBu

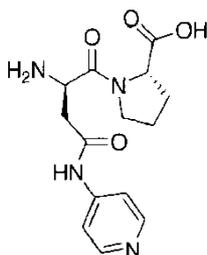


5 A una mezcla de Boc-D-Asp(OBn)-OH (2,0 g, 6,2 mmol), L-Pro-OtBu (1,3 g, 6,2 mmol) y HOBt (125 mg, 0,9 mmol) en EtOH (15 ml) se añadió DIEA (2,4 ml, 13,6 mmol). La mezcla se agitó hasta disolución completa y se enfrió en un baño de hielo. Se añadió EDCxHCl (1,4 g, 7,4 mmol) y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 6,0 h. La mezcla se concentró a vacío, se recogió en 100 ml de acetato de etilo y 50 ml de NaH₂PO₄ al 5%. La capa orgánica se recogió, se lavó con 50 ml de NaH₂PO₄ al 5% y 2 x 50 ml de disolución saturada de NaHCO₃, se secó sobre Na₂SO₄ y se concentró a vacío. Después de purificación por cromatografía en SiO₂ (1% de TEA en DCM), la desprotección del compuesto intermedio resultante se hizo de acuerdo con el procedimiento descrito para el compuesto 1.4 usando MeOH como disolvente para dar el compuesto del título.

Rendimiento: 1,82 g (72%, espuma blanca)

HPLC: 93,3% de B HPLC 2; MS calc.: 386,2, encontrado 385,0 (M-H)⁻

1.26 H-D-Asp(4-amino-piridina)-L-Pro-OH

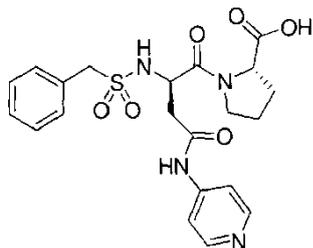


15 A una disolución del compuesto 1.25 (908 mg, 2,4 mmol) en THF (40 ml) se añadió TEA (360 µl, 2,6 mmol). A -10 °C (temperatura del baño) se añadió gota a gota cloroformiato de isobutilo (307 µl, 2,4 mmol). La mezcla se agitó durante 1 h a -10 °C. Se añadió 4-aminopiridina (221 mg, 2,4 mmol) en una porción. La mezcla se dejó llegar a temperatura ambiente por sí sola y se agitó a esa temperatura durante un total de 6 h. Los compuestos volátiles se separaron a vacío. La mezcla se disolvió en 100 ml de acetato de etilo, seguido de 50 ml de disolución saturada de NaHCO₃. El pH se ajustó a 9 con Na₂CO₃. Se separó la capa orgánica, y la capa acuosa se extrajo con 3x50 ml de CHCl₃:iPrOH 4:1. Las capas orgánicas combinadas se secaron sobre Na₂SO₄, se filtraron a través de una almohadilla de SiO₂:celite 1:1 y se concentraron a vacío. El compuesto intermedio resultante se desprotegió de acuerdo con el procedimiento descrito para el compuesto 1.2 para dar el compuesto del título, que se usó directamente en la siguiente etapa.

Rendimiento: no aplicable (usado en forma bruta, jarabe).

HPLC: 34,6% de B HPLC 2; MS calc.: 306,1, encontrado 307,0 (M+H)⁺

1.27 Bzls-D-Asp(4-amino-piridina)-L-Pro-OH



5 El compuesto 1.27 se preparó de acuerdo con el procedimiento descrito para el compuesto 1.21 usando el compuesto intermedio bruto 1.26 sin tratamiento. El compuesto intermedio bruto resultante se usó directamente en la siguiente etapa.

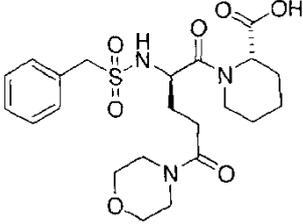
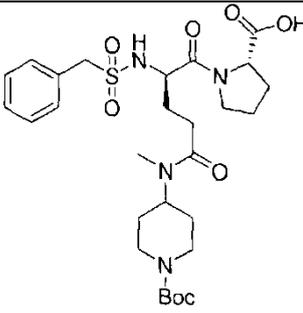
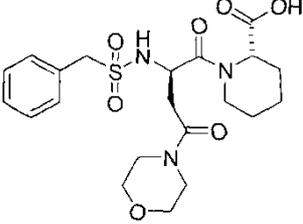
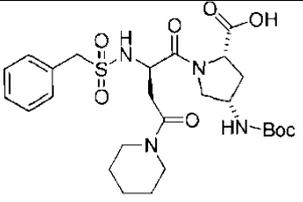
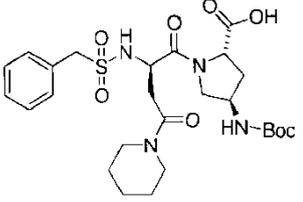
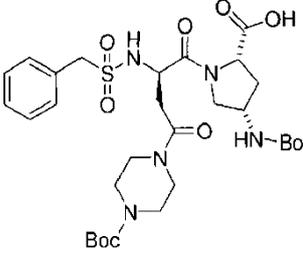
Rendimiento: no aplicable (usado en forma bruta, goma).

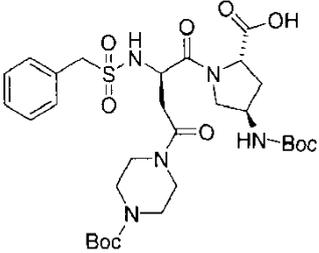
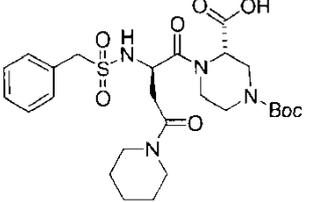
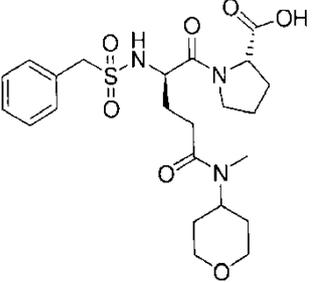
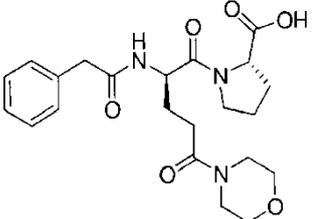
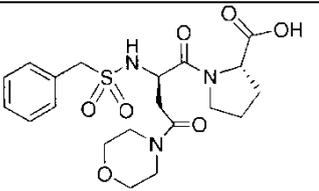
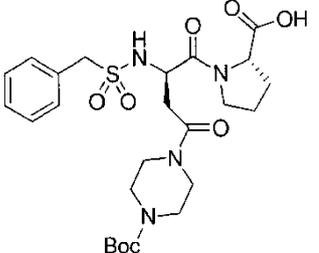
HPLC: 37,4% de B HPLC 2; MS calc.: 460,1, encontrado 461,2 (M+H)⁺

10 Los compuestos indicados en la tabla 4 se prepararon de acuerdo con el procedimiento descrito para el compuesto 1.1 y la desprotección de los compuestos intermedios se hizo de acuerdo con el procedimiento descrito para el compuesto 1.2, 1.4 o 1.6.

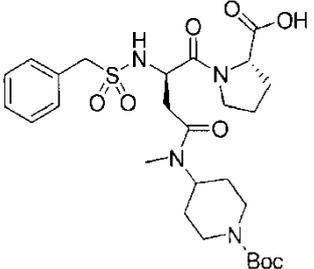
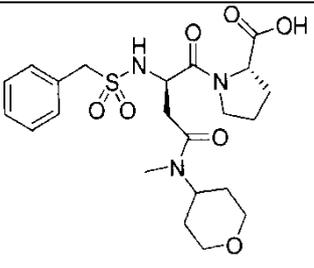
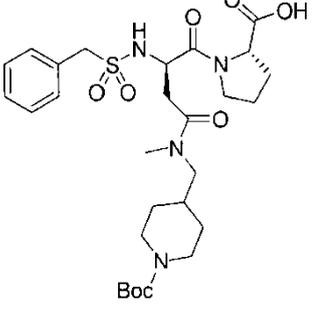
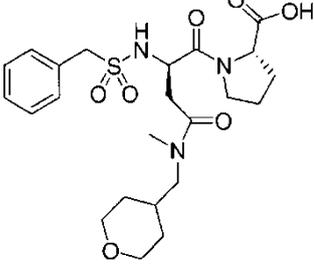
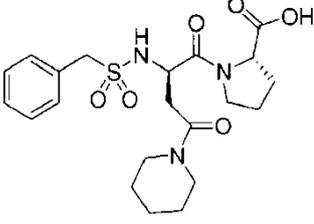
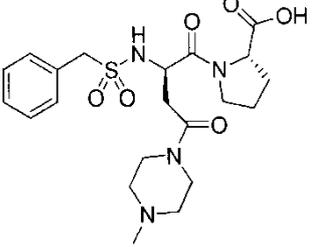
Tabla 4

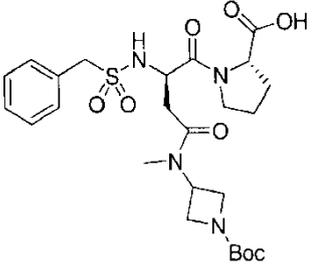
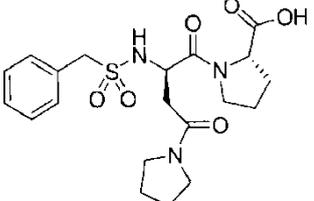
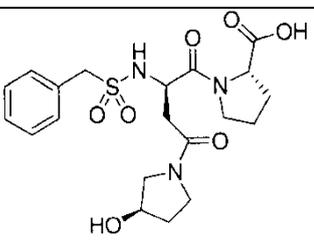
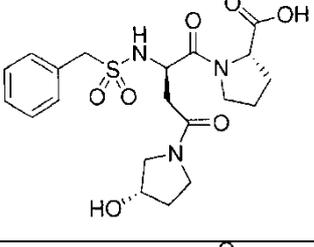
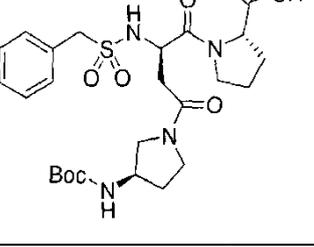
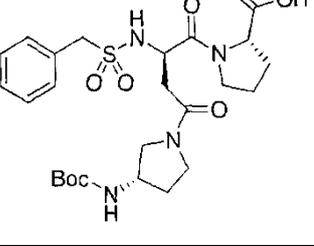
n°	Estructura	Precusores	MS calculado/ encontrado	HPLC % de B
1.28		a) 1.4 b) H-L-Pro-OMe desprotección realizada como para 1.6	467,2/468,0 (M+H) ⁺	68,7 HPLC 1
1.29		a) 1.4 b) H-cis-Hyp-OMe x HCl desprotección realizada como para 1.6	483,2/481,9 (M-H) ⁻	60,5 HPLC 1
1.30		a) 1.4 b) CAS 168263-82-9 desprotección realizada como para 1.6	582,2/581,1 (M-H) ⁻	68,2 HPLC 1
1.31		a) 1.4 b) CAS 473806-21-2 desprotección realizada como para 1.6	582,2/583,2 (M+H) ⁺	64,8 HPLC 1

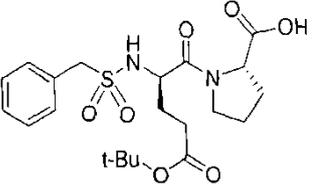
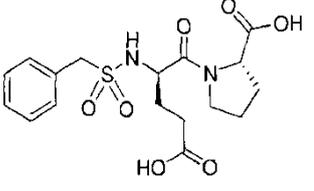
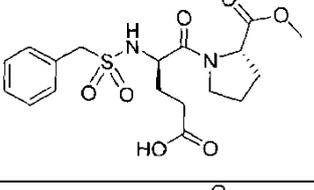
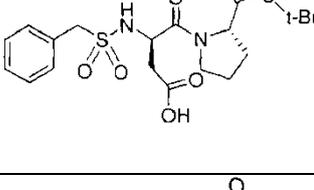
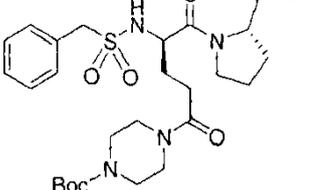
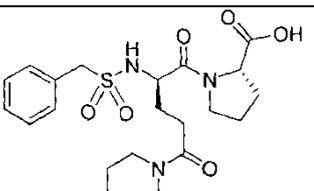
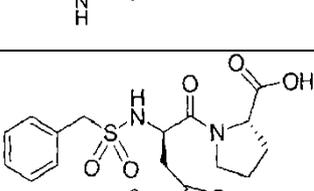
n°	Estructura	Precusores	MS calculado/ encontrado	HPLC % de B
1.32		a) 1.4 b) CAS 18650-39-0 desprotección realizada como para 1.6	481,2/482,2 (M+H) ⁺	74,0 HPLC 2
1.33		a) 1.20 b) H-L-Pro-OMe desprotección realizada como para 1.6	594,3/617,1 (M+Na) ⁺	69,88 HPLC 1
1.34		a) 1.14 b) CAS 18650-39-0 desprotección realizada como para 1.6	467,2/468,1 (M+H) ⁺	73,1 HPLC 2
1.35		a) 1.16 b) CAS 168263-82-9 desprotección realizada como para 1.6	566,2/567,1 (M+H) ⁺	90,7 HPLC 2
1.36		a) 1.16 b) CAS 473806-21-2 desprotección realizada como para 1.6	566,2/567,1 (M+H) ⁺	92,9 HPLC 2
1.37		a) 1.6 b) CAS 168263-82-9 desprotección realizada como para 1.6	667,3/668,1 (M+H) ⁺	74,9% B HPLC 1

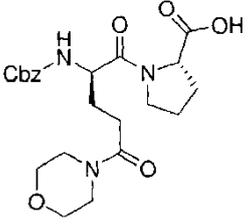
n°	Estructura	Precusores	MS calculado/ encontrado	HPLC % de B
1.38		a) 1.6 b) CAS 473806-21-2 desprotección realizada como para 1.6	667,3/668,1 (M+H) ⁺	74,9% B HPLC 18
1.39		a) 1.16 b) CAS 314741-39-4 desprotección realizada como para 1.6	566,2/567,1 (M+H) ⁺	91,0 HPLC 2
1.40		a) 1.17 b) H-L-Pro-OtBu desprotección realizada como para 1.2	495,2/496,1 (M+H) ⁺	52,6 HPLC 1
1.41		a) 1.18 b) H-L-Pro-OtBu desprotección realizada como para 1.2	431,2/429,9 (M-H) ⁻	61,2 HPLC 1
1.42		a) 1.14 b) H-L-Pro-OtBu desprotección realizada como para 1.2	453,2/452,4 (M-H) ⁻	51,0 HPLC 1
1.43		a) 1.19 b) Boc-Piperazina desprotección realizada como para 1.6	552,2/551,1 (M-H) ⁻	55,7 HPLC 1

ES 2 654 440 T3

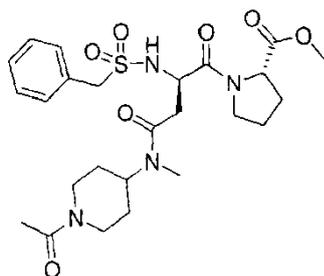
n°	Estructura	Precusores	MS calculado/ encontrado	HPLC % de B
1.44		a) 1.19 b) Boc-4-Metilamino-piperidina desprotección realizada como para 1.6	580,3/579,1 (M-H) ⁻	55,2 HPLC 1
1.45		a) 1.19 b) CAS 220641-87-2 desprotección realizada como para 1.6	481,2/482,1 (M+H) ⁺	52,8 HPLC 1
1.46		a) 1.19 b) CAS 138022-02-3 desprotección realizada como para 1.6	594,3/595,3 (M+H) ⁺	92,8 HPLC 2
1.47		a) 1.19 b) CAS 439081-52-4 desprotección realizada como para 1.6	495,2/496,3 (M+H) ⁺	74,6 HPLC 2
1.48		a) 1.19 b) Piperidina desprotección realizada como para 1.6	451,2/452,2 (M+H) ⁺	78,4 HPLC 2
1.49		a) 1.19 b) 1-Metil-piperazina desprotección realizada como para 1.6	466,2/467,3 (M+H) ⁺	53,2 HPLC 1

n°	Estructura	Precusores	MS calculado/ encontrado	HPLC % de B
1.50		a) 1.19 b) CAS 454703-20-9 desprotección realizada como para 1.6	552,2/551,2 (M-H) ⁻	46,3 HPLC 1
1.51		a) 1.19 b) Pirrolidina desprotección realizada como para 1.6	437,2/435,9 (M-H) ⁻	50,2 HPLC 1
1.52		a) 1.19 b) (R)-3-Pirrolidinol desprotección realizada como para 1.6	453,2/454,13 (M+H) ⁺	46,4 HPLC 1
1.53		a) 1.19 b) (S)-3-Pirrolidinol desprotección realizada como para 1.6	453,2/454,0 (M+H) ⁺	46,3 HPLC 1
1.54		a) 1.19 b) (R)-3-(Boc-amino)pirrolidina desprotección realizada como para 1.6	552,2/551,0 (M-H) ⁻	65,0 HPLC 1
1.55		a) 1.19 b) (S)-3-(Boc-amino)pirrolidina desprotección realizada como para 1.6	552,2/551,0 (M-H) ⁻	64,7 HPLC 1

n°	Estructura	Precusores	MS calculado/ encontrado	HPLC % de B
1.56		a) 1.21 b) H-L-Pro-OMe desprotección realizada como para 1.6	454,2/455,1 (M+H) ⁺	67,9 HPLC 1
1.57		subproducto de 1.56	398,1/399,0 (M+H) ⁺	59,2 HPLC 1
1.58		a) 1.21 b) H-L-Pro-OMe desprotección realizada como para 1.2	468,2/491,1 (M+Na) ⁺	71,8 HPLC 1
1.59		a) 1.23 b) H-L-Pro-OtBu desprotección realizada como para 1.4 (60°C en lugar de temperatura ambiente)	440,2/439,3 (M-H) ⁻	71,1 HPLC 1
1.60		a) 1.58 b) H-L-Pro-OMe desprotección realizada como para 1.6	566,2/567,0 (M+H) ⁺	64,6 HPLC 1
1.61		a) 1.58 b) 4-N-Boc-Aminopiperidina desprotección realizada como para 1.6	580,3/579,1 (M-H) ⁻	60,2 HPLC 1
1.62		a) 1.59 b) Acetil-piperazina desprotección realizada como para 1.2	494,2/492,9 (M-H) ⁻	51,8 HPLC 1

n°	Estructura	Precusores	MS calculado/ encontrado	HPLC % de B
1.63		a) 1.12 b) Morfolina desprotección realizada como para 1.6	447,2/470,1 (M+Na) ⁺	54,8 HPLC 1

1.64 Bzls-D-Asp(N-[1-Ac-Piperidin-4-il]-N-[metil]amida)-L-Pro-OMe

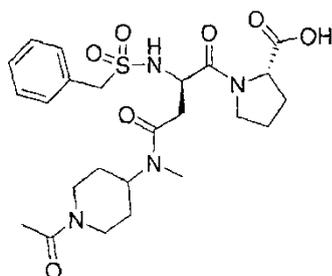


5 El éster metílico precursor del compuesto 1.44 se desprotegió de acuerdo con 1.2. A una disolución del compuesto intermedio resultante (470 mg, 0,8 mmol) en DCM (50 ml) se añadió TEA (0,6 ml, 4,5 mmol) y anhídrido acético (181 mg, 1,7 mmol). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 3,0 h. El disolvente se evaporó a vacío, el residuo se disolvió en acetato de etilo y se lavó consecutivamente con disolución acuosa de KHSO₄ al 5%, disolución acuosa saturada de NaHCO₃, y salmuera. La capa orgánica se secó sobre Na₂SO₄ y el disolvente se evaporó a vacío para dar el compuesto del título.

10 Rendimiento: 413 mg (100%, aceite)

HPLC: 51,7% de B HPLC 1; MS calc.: 536,2, encontrado 537,2 (M+H)⁺

1.65 Bzls-D-Asp(N-(1-Ac-Piperidin-4-il)-N-aminometil)-L-Pro-OH



15 El compuesto 1.64 (780 mg, 1,5 mmol) se convirtió en el compuesto del título de acuerdo con el procedimiento descrito para el compuesto 1.6.

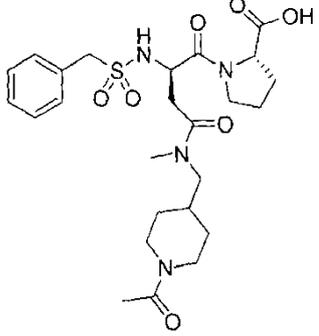
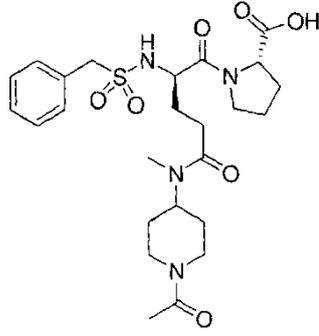
Rendimiento: 135 mg (18%, aceite)

HPLC: 51,7% de B HPLC 1; MS calc.: 522,2, encontrado 523,2 (M+H)⁺

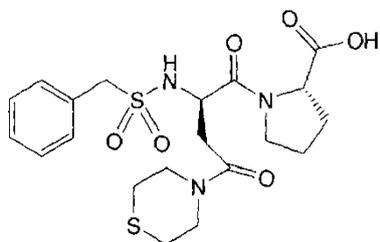
Los compuestos indicados en la tabla 5 se prepararon de acuerdo con el procedimiento descrito para el compuesto 1.64 y seguido de desprotección de acuerdo con el procedimiento descrito para el compuesto 1.6:

20

Tabla 5

n°	Estructura	Precusores	MS calculado/ encontrado	HPLC % de B
1.66		a) éster metílico precursor de 1.46 b) cloruro de acetilo	536,2/537,1 (M+H) ⁺	72,0 HPLC 2
1.67		a) éster metílico precursor de 1.33 b) anhídrido acético	536,2/537,2 (M+H) ⁺	50,0 HPLC 1

1.68 Bzls-D-Asp(tiomorfolino)-L-Pro-OtBu

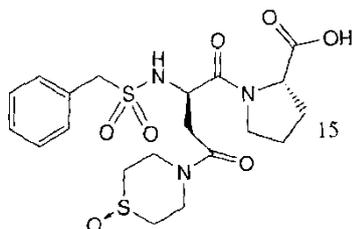


- 5 El compuesto 1.59 (442 mg, 1,0 mmol) y tiomorfolina se acoplaron de acuerdo con el procedimiento descrito para el compuesto 1.1 usando PyBop como reactivo de acoplamiento, y el compuesto intermedio resultante se convirtió en el compuesto del título de acuerdo con el procedimiento descrito para el compuesto 1.2.

Rendimiento: 465 mg (99%, aceite)

HPLC: 58,4% de B HPLC 1; MS calc.: 469,1, encontrado 467,9 (M-H)⁻

10 1.69 Bzls-D-Asp(1-oxido-tiomorfolin-4-il)-L-Pro-OtBu



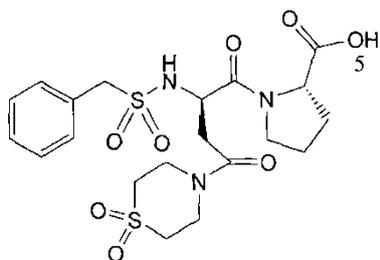
- 15 A una disolución del éster terc-butílico precursor de 1.68 (205 mg, 0,4 mmol) en EtOH (5 ml) se añadió NaIO₄ (111 mg, 0,5 mmol) a 0°C. La mezcla se agitó durante 1 h a 0°C y después a temperatura ambiente durante la noche. La mezcla se disolvió en 150 ml de acetato de etilo y 80 ml de agua. La capa orgánica se separó y se lavó con 3x50 ml de agua y 2x50 ml de salmuera saturada, se secó sobre Na₂SO₄, y se evaporó a vacío. El compuesto intermedio

resultante se convirtió en el compuesto del título de acuerdo con el procedimiento descrito para el compuesto 1.2.

Rendimiento: 150 mg (77%, aceite)

HPLC: 50,4% de B HPLC 1; MS calc.: 485,1, encontrado 483,9 (M-H)⁻

1.70 Bzls-D-Asp(1,1-dioxido-tiomorfolin-4-il)-L-Pro-OtBu



5

10

A una disolución del éster terc-butílico precursor de 1.68 (208 mg, 0,4 mmol) en DCM (5 ml) se añadió mCPBA al 75% (191 mg, 0,8 mmol) a temperatura ambiente y la mezcla se agitó durante 4 d. La mezcla se disolvió en 50 ml de DCM y 50 ml de agua. La capa orgánica se separó, se lavó con 2x50 ml de NaHSO₃, 3x50 ml de NaHCO₃ sat. y 2x50 ml de salmuera, se secó sobre Na₂SO₄ y se evaporó a vacío. El compuesto intermedio resultante se convirtió en el compuesto del título de acuerdo con el procedimiento descrito para el compuesto 1.2.

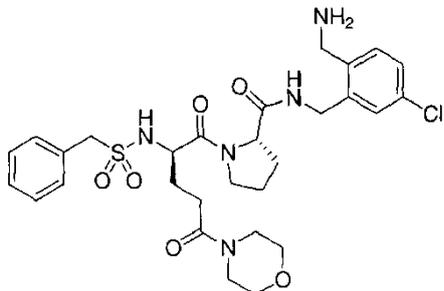
10

Rendimiento: 52 mg (26%, sólido)

HPLC: 57,1% de B HPLC 1; MS calc.: 501,1, encontrado 499,9 (M-H)⁻

2. Síntesis de los inhibidores

2.1 Bzls-D-Glu(morfolino)-L-Pro-Amb(2-AMe-5-Cl) x 1 TFA



15

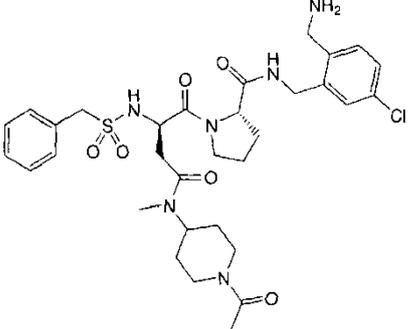
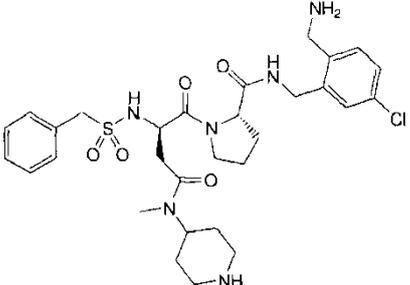
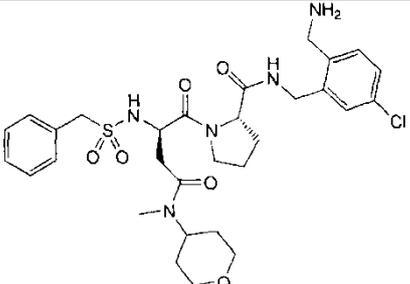
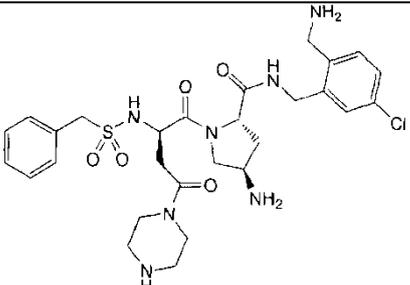
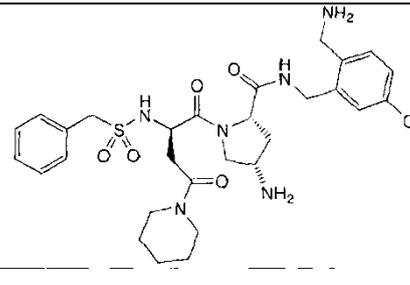
El compuesto 1.28 (193 mg, 0,41 mmol) y el éster terc-butílico del ácido (2-aminometil-4-clorobencil)-carbámico (CAS 439116-15-1) se acoplaron de acuerdo con el procedimiento descrito para el compuesto 1.1. El compuesto intermedio resultante se desprotegió de acuerdo con el procedimiento descrito para el compuesto 1.2 y se purificó por HPLC de fase inversa preparativa, para dar el compuesto del título.

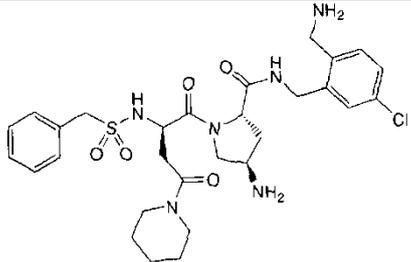
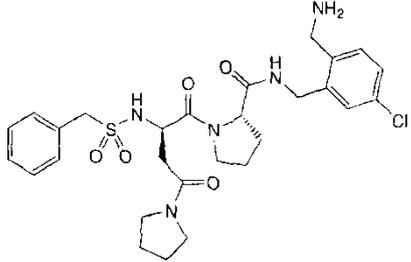
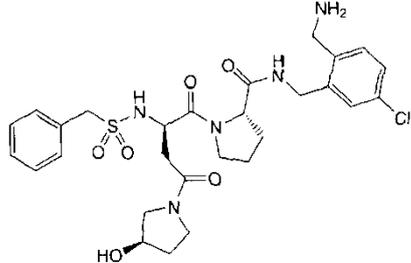
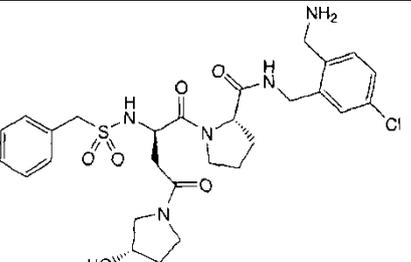
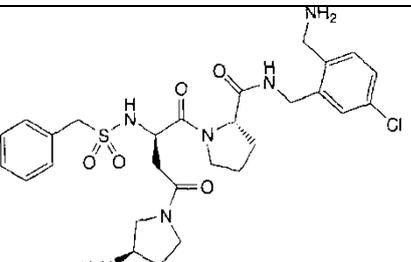
20 Rendimiento: 170 mg (56%, sólido blanco)

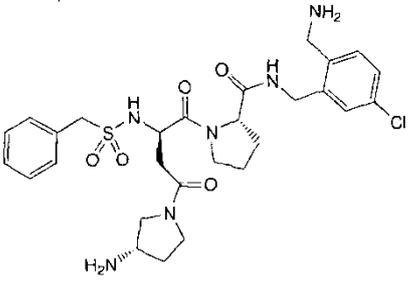
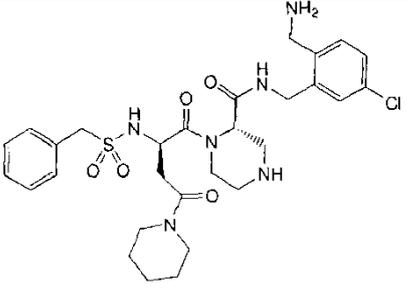
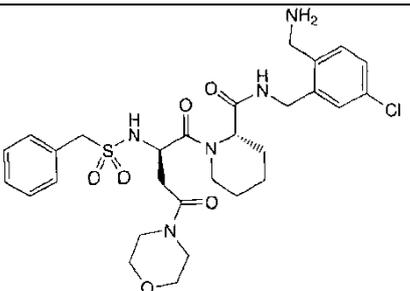
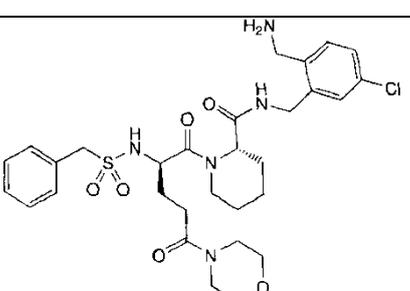
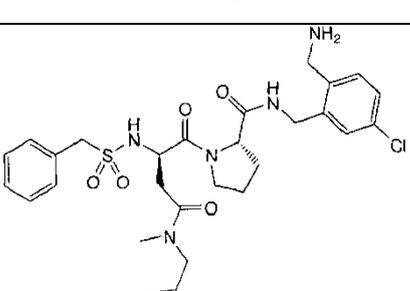
HPLC: 52,2% de B HPLC 1; MS calc.: 619,2, encontrado 620,3 (M+H)⁺

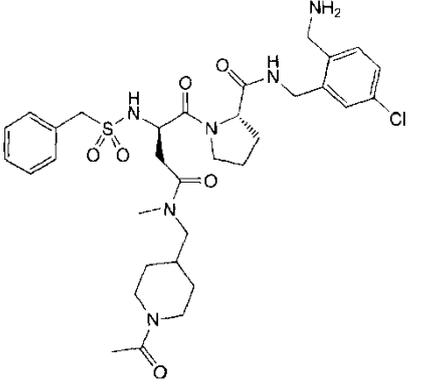
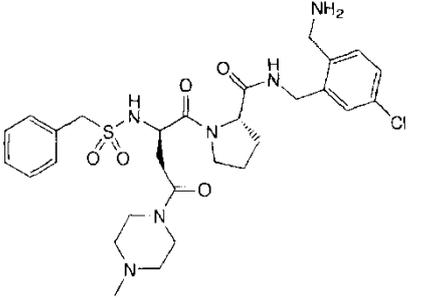
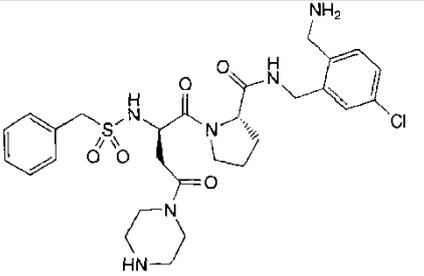
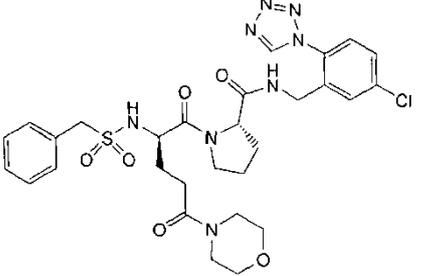
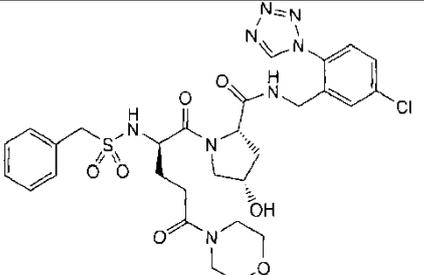
Los compuestos indicados en la tabla 6 se prepararon de acuerdo con el procedimiento descrito para el compuesto 2.1:

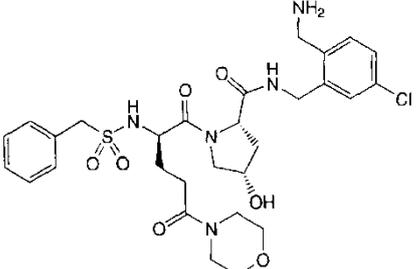
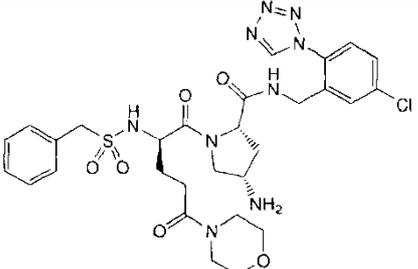
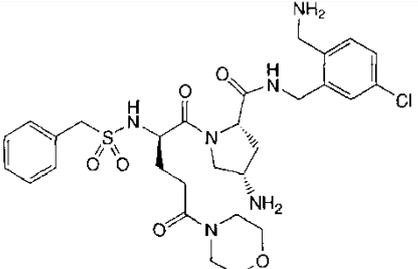
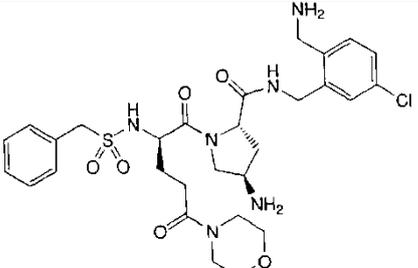
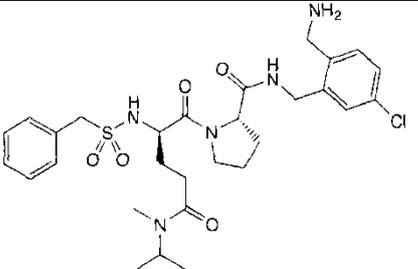
Tabla 6

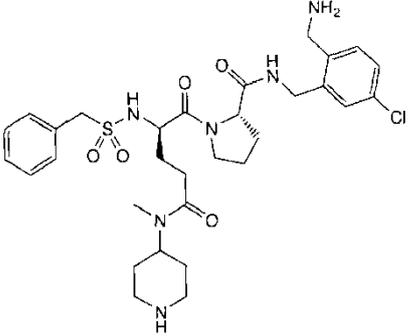
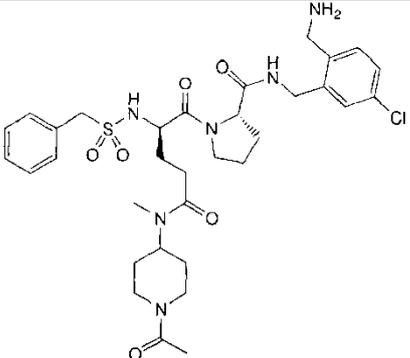
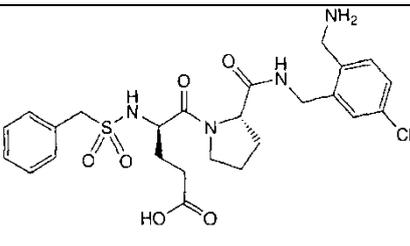
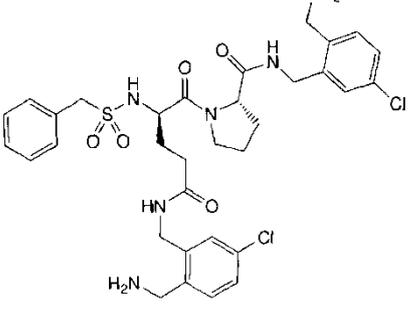
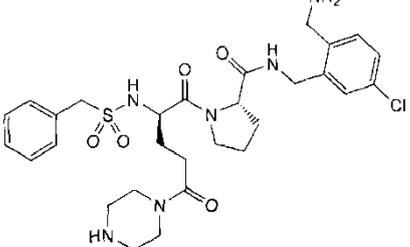
n°	Estructura	Precusores	MS calculado/ encontrado	HPLC % de B
2.2		a) 1.65	674,3/675,3 (M+H) ⁺	56,6 HPLC 1
2.3		a) 1.44	632,3/633,2 (M+H) ⁺	49,0 HPLC 1
2.4		a) 1.45	633,2/634,2 (M+H) ⁺	54,8 HPLC 1
2.5		a) 1.38	619,2/620,2 (M+H) ⁺	38,3 HPLC 1
2.6		a) 1.35	618,2/619,0 (M+H) ⁺	60,8 HPLC 2

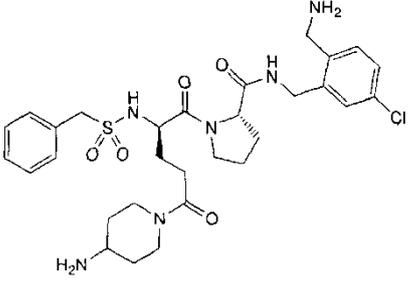
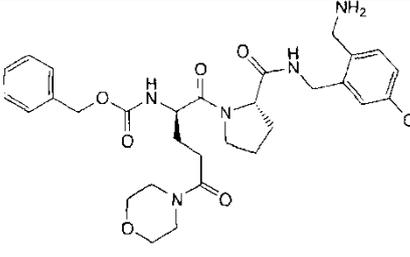
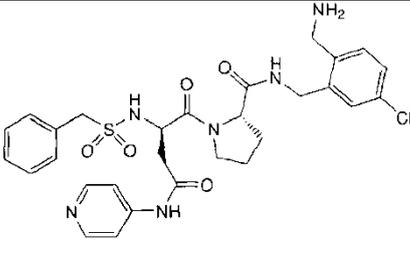
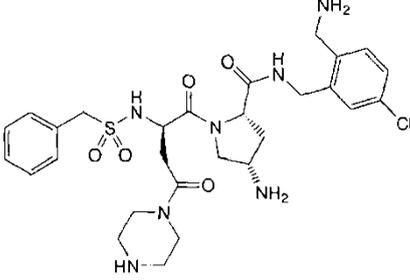
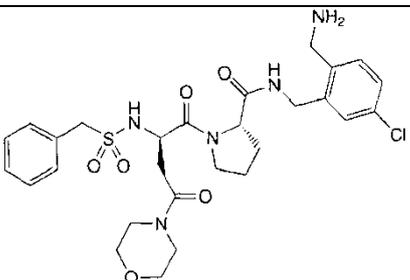
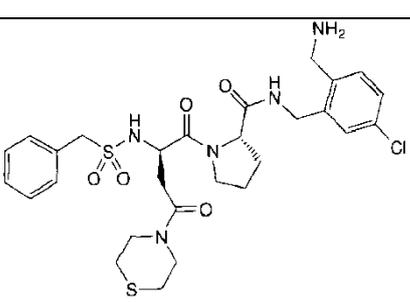
n°	Estructura	Precusores	MS calculado/ encontrado	HPLC % de B
2.7		a) 1.36	618,2/619,0 (M+H) ⁺	61,7 HPLC 2
2.8		a) 1.51	589,2/590,0 (M+H) ⁺	57,7 HPLC 1
2.9		a) 1.52	605,2/606,1 (M+H) ⁺	55,1 HPLC1
2.10		a) 1.53	605,2/606,1 (M+H) ⁺	54,9 HPLC 1
2.11		a) 1.54	604,2/605,1 (M+H) ⁺	48,6 HPLC 1

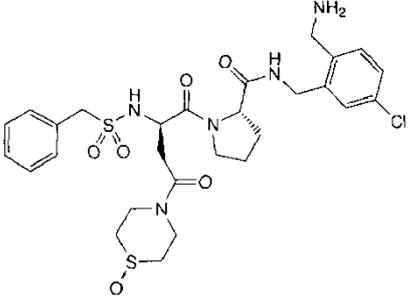
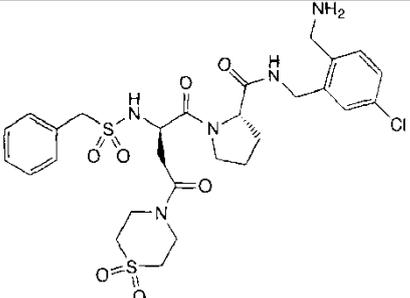
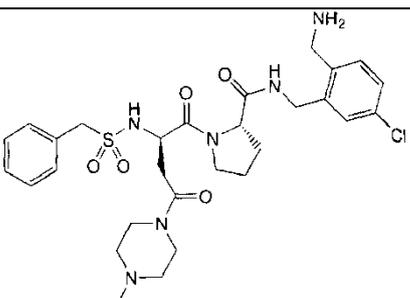
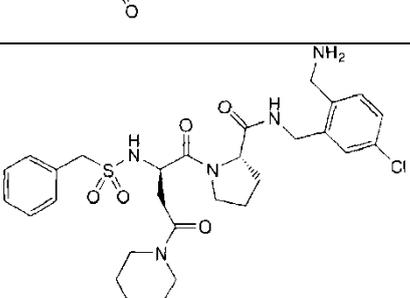
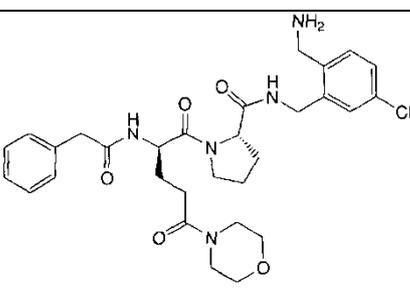
n°	Estructura	Precusores	MS calculado/ encontrado	HPLC % de B
2.12		a) 1.55	604,2/605,1 (M+H) ⁺	48,0 HPLC 1
2.13		a) 1.39	618,2/619,0 (M+H) ⁺	67,2 HPLC 2
2.14		a) 1.34	619,2/620,2 (M+H) ⁺	72,4 HPLC 2
2.15		a) 1.32	633,2/634,0 (M+H) ⁺	70,7 HPLC 2
2.16		a) 1.46	646,3/647,2 (M+H) ⁺	60,0 HPLC 2

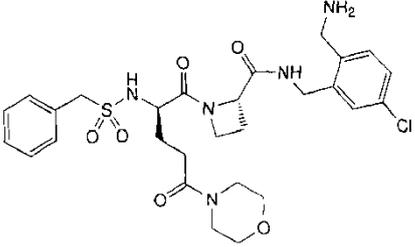
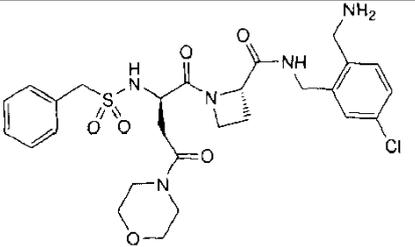
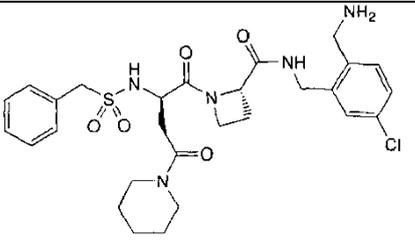
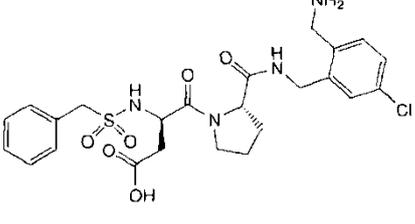
n°	Estructura	Precusores	MS calculado/ encontrado	HPLC % de B
2.17		a) 1.66	688,3/688,9 (M+H) ⁺	77,4 HPLC 2
2.18		a) 1.49	618,2/619,1 (M+H) ⁺	50,1 HPLC 1
2.19		a) 1.43	604,2/605,2 (M+H) ⁺	49,6 HPLC 1
2.20		a) 1.28 b) CAS 449756-95-0 en lugar de CAS 439116-15-1	658,2/659,1 (M+H) ⁺	61,2 HPLC 1
2.21		a) 1.29 b) CAS 449756-95-0 en lugar de CAS 439116-15-1	674,2/675,3 (M+H) ⁺	58,2 HPLC 1

n°	Estructura	Precursores	MS calculado/ encontrado	HPLC % de B
2.22		a) 1.29	635,2/636,2 (M+H) ⁺	51,0 HPLC 1
2.23		a) 1.30 b) CAS 449756-95-0 en lugar de CAS 439116-15-1	673,2/674,2 (M+H) ⁺	52,9 HPLC 1
2.24		a) 1.30	634,2/635,2 (M+H) ⁺	43,9 HPLC 1
2.25		a) 1.31	634,2/635,1 (M+H) ⁺	45,7 HPLC 1
2.26		a) 1.40	647,3/648,3 (M+H) ⁺	56,4 HPLC 1

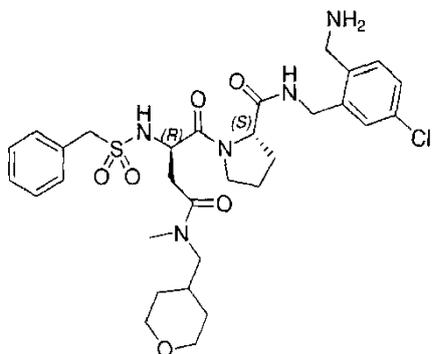
n°	Estructura	Precusores	MS calculado/ encontrado	HPLC % de B
2.27		a) 1.33	646,2/647,3 (M+H) ⁺	47,2 HPLC 1
2.28		a) 1.67	688,3/689,2 (M+H) ⁺	55,0 HPLC 1
2.29		a) 1.56	550,2/551,1 (M+H) ⁺	44,1 HPLC 1
2.30		a) 1.57 b) 2 eq CAS 439116-15-1	702,2/703,2 (M+H) ⁺	57,2 HPLC 1
2.31		a) 1.60	618,2/619,0 (M+H) ⁺	46,3 HPLC 1

n°	Estructura	Precusores	MS calculado/ encontrado	HPLC % de B
2.32		a) 1.61	632,3/633,1 (M+H) ⁺	46,9 HPLC 1
2.33		a) 1.63	599,3/600,2 (M+H) ⁺	59,4 HPLC 1
2.34		a) 1.27	612,2/614,2 (M+H) ⁺	91,4 HPLC 2
2.35		a) 1.37	619,2/620,2 (M+H) ⁺	75,0 HPLC 1
2.36		a) 1.42	605,2/606,2 (M+H) ⁺	68,9 HPLC 1
2.37		a) 1.68	621,2/622,1 (M+H) ⁺	60,9 HPLC 1

n°	Estructura	Precusores	MS calculado/ encontrado	HPLC % de B
2.38		a) 1.69	637,2/638,1 (M+H) ⁺	57,9 HPLC 1
2.39		a) 1.70	653,2/654,1 (M+H) ⁺	55,4 HPLC 1
2.40		a) 1.62	646,2/647,2 (M+H) ⁺	54,1 HPLC 1
2.41		a) 1.48	603,2/604,2 (M+H) ⁺	59,4 HPLC 1
2.42		a) 1.41	583,3/584,3 (M+H) ⁺	54,9 HPLC 1

n°	Estructura	Precusores	MS calculado/ encontrado	HPLC % de B
2.43		a) 1.4 b) CAS: 439118-00-0 en lugar de CAS 439116-15-1	605,2/606,1 (M+H) ⁺	62,6 HPLC 2
2.44		a) 1.14 b) CAS: 439118-00-0 en lugar de CAS 439116-15-1	591,2/592,0 (M+H) ⁺	63,7 HPLC 2
2.45		a) 1.16 b) CAS: 439118-00-0 en lugar de CAS 439116-15-1	589,2/590,2 (M+H) ⁺	72,4 HPLC 2
2.46		a) 1.22 b) CAS 439117-44-9 en lugar de CAS 439116-15-1	536,2/537,1 (M+H) ⁺	67,7 HPLC 2

2.47 Bzls-D-Asp((tetrahydro-2H-piran-4-il)-N-metilmetanamina)-L-Pro-Amb(2-AMe-5-Cl) x 2 TFA

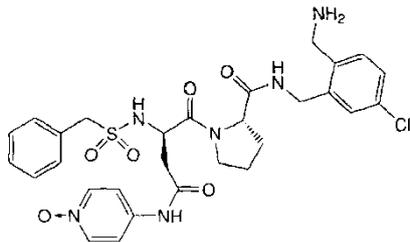


5 El compuesto 1.47 (256 mg, 0,52 mmol) y el éster terc-butílico del ácido (2-aminometil-4-clorobencil)-carbámico (CAS 439116-15-1) se acoplaron de acuerdo con el procedimiento descrito para el compuesto 1.1. El compuesto intermedio resultante (0,49 mmol) se disolvió en 6 ml de HCl 4 M en dioxano y se agitó a temperatura ambiente durante 17 h. Después, la mezcla se concentró a vacío y se purificó por HPLC de fase inversa preparativa para dar el compuesto del título.

Rendimiento: 223 mg (57%, sólido blanco)

10 HPLC: 78,0% de B HPLC 2; MS calc.: 647,2, encontrado 648,1 (M+H)⁺

2.48 Bzls- D-Asp(1-oxido-4-amino-piridina)-L-Pro-Amb(2-AMe-5-Cl)

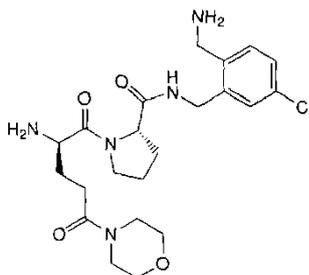


A una disolución del precursor protegido con Boc de 2.342.34 (121 mg, 0,17 mmol) en DCM (10 ml) se añadió mCPBA al 75% (44 mg, 0,19 mmol) a temperatura ambiente y la mezcla se agitó durante 4 h. Se añadió mCPBA al 75% (165 mg, 0,72 mmol) adicional en 3 porciones cada 4 h. La mezcla se disolvió en 50 ml de DCM y 50 ml de agua. Se separó la capa orgánica y se lavó con 2x50 ml de NaHSO₃, 3x50 ml de NaHCO₃ sat. y 2x salmuera, se secó sobre Na₂SO₄ y se evaporó a vacío. El compuesto intermedio resultante se desprotegió de acuerdo con el procedimiento descrito para el compuesto 1.2 y se purificó por HPLC de fase inversa preparativa, para dar el compuesto del título.

5 Rendimiento: 2 mg (2%, sólido blanco)

HPLC: 67,9% de B HPLC 2; MS calc.: 628,2, encontrado 629,2 (M+H)⁺

2.49 H-D-Glu(morfolino)-L-Pro-Amb(2-AMe-5-Cl) x 2 TFA

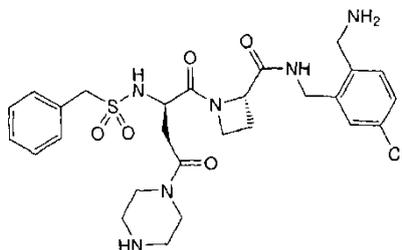


15 Se añadieron 2 ml de HBr/HOAc (32%) al compuesto 2.33 (81 mg, 0,1 mmol). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 4 h. El disolvente se evaporó a vacío y el sólido resultante se disolvió en 2 ml de MeOH. Se añadieron 50 ml de éter y se recogió el precipitado. El producto bruto se purificó por HPLC de fase inversa para dar el compuesto del título.

Rendimiento: 33 mg (42%, sólido blanco)

HPLC: 35,3% de B HPLC 1; MS calc.: 465,2, encontrado 466,1 (M+H)⁺

20 2.50 Bzls-D-Asp(Piperazinil)-L-Aze-Amb(2-AMe-5-Cl) x 2 TFA



25 El compuesto 1.15 (126 mg, 0,22 mmol) y el éster de 1,1-dimetiletilo del ácido [[2-[[[(2S)-2-azetidil-carbonil]amino]metil]-4-clorofenil]metil]-carbámico (CAS: 439118-00-0) se acoplaron de acuerdo con el procedimiento descrito para el compuesto 1.1. A una disolución del compuesto intermedio resultante en DMF seca (2 ml) se añadió piperidina (0,2 ml) y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 3,5 h. El disolvente se evaporó a vacío y el residuo se disolvió en 2,0 ml de DCM. Se añadió TFA (2,0 ml) y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 1 h. El disolvente se evaporó a vacío y el producto bruto se purificó por HPLC de fase inversa preparativa para dar el compuesto del título.

Rendimiento: 34 mg (19%, sólido blanco)

30 HPLC: 56,5% de B HPLC 2; MS calc.: 590,2, encontrado 589,0 (M-H)

Ejemplo 2: Determinación de las constantes de inhibición para el factor IIa humano (h FIIa) y el factor Xa humano (h FXa)

5 El efecto inhibitorio contra las enzimas purificadas individuales se determinó de forma análoga a un método descrito previamente (Stürzebecher et al., *J. Med. Chem.*, 40, 3091-3099 (1997)). Las reacciones para determinar la inhibición del factor IIa humano y el factor Xa humano se llevaron a cabo en la siguiente mezcla a 25°C:

200 µl de TBS (trishidroximetilaminometano 0,05 M; NaCl 0,154 M, etanol al 2%, pH 8,0) 25 µl de sustrato (2 mM, 1 mM y 0,5 mM de Mes-d-Cha-Gly-Arg-pNA (Pefachrome tPA de DSM nutritional products, división de Pentapharm) para el factor IIa y MeOCO-d-Cha-Gly-Arg-pNA (Pefachrome FXa de DSM nutritional products, división de Pentapharm) para el factor Xa, disuelto en H₂O)

10 2 µl de una disolución del compuesto de ensayo en agua

50 µl de una disolución de la enzima (alfa-trombina humana de Enzyme Research Laboratories de 0,05 a 0,1 NIH U/ml en NaCl 0,154 M + BSA al 0,1% m/v; Factor Xa humano de Enzyme Research Laboratories de 2,5 a 5 mUI/ml en NaCl 0,154 M + BSA al 0,1% m/v)

15 La liberación de p-nitroanilina (p-NA, el producto cromogénico de la actividad proteolítica), se determinó por cambio en la absorbancia a 405 nm. Las velocidades de equilibrio se usaron para calcular la constante de disociación de inhibidor/enzima (valores K_i) ajustando el parámetro de acuerdo con la ecuación de velocidad para la inhibición competitiva usando GraFit (versión 4 de Erithacus). Los resultados se dan como valores de K_i (nanomolar) en la tabla 7 y son la media de al menos tres determinaciones.

20 Estos datos muestran claramente que los compuestos de la invención son inhibidores muy potentes tanto de la trombina como del factor Xa. Las constantes de disociación están en el intervalo nanomolar, y en general menores de 50 nM.

Ejemplo 3: Determinación de las constantes de inhibición para enzimas de referencia

25 Proteína C activada humana (h aPC): La inhibición de la aPC humana se determinó por el método descrito en el ejemplo 2, usando proteína C activada humana de Enzyme Research Laboratories 2,2 nM y H-D-Lys(Cbo)-Pro-Arg-pNA (Pefachrome PCa de DSM nutritional products, división de Pentapharm) 2 mM, 1 mM, y 0,5 mM como sustrato; los resultados se dan como valores de K_i (nanomolar) en la tabla 7.

30 Calicreína urinaria humana (h uKK): La inhibición de la uKK humana se determinó por el método descrito en el ejemplo 2 usando calicreína urinaria humana de Lee Biosolutions 7,5 nM y H-D-Val-Leu-Arg-pNA (S-2266 de Chromogenix) 1 mM, 0,5 mM, y 0,25 mM como sustrato; los resultados se dan como valores de K_i (nanomolar) en la tabla 7.

Subcomponente "s" del Componente del Complemento Humano 1 (h Cls): La inhibición del Cls humano se determinó por el método descrito en el ejemplo 2 usando el componente del complemento Cls activado humano natural de Calbiochem 29 nM y H-D-Val-Ser-Arg-pNA (S-2314 de Chromogenix) 8 mM, 6 mM, y 4 mM como sustrato; los resultados se dan como valores de K_i (nanomolar) en la tabla 7.

35 Subcomponente "r" del Componente del Complemento Humano 1 (h Clr): La inhibición del Clr humano se determinó por el método descrito en el ejemplo 2 usando el componente del complemento Clr activado humano natural de Calbiochem 100 nM y Val-Ser-Arg-pNA (S-2314 de Chromogenix) 16 mM, 12 mM, y 8 mM como sustrato; los resultados se dan como valores de K_i (nanomolar) en la tabla 7.

40 Activador del plasminógeno tipo uroquinasa humana (h u-PA): La inhibición del uPA humano se determinó por el método descrito en el ejemplo 2 usando u-pa "Urokinase HS medac" de MEDAC GmbH 100 unidades/ml y H-Glu-Gly-Arg-pNA (L-1455 de Bachem) como sustrato 2 mM; 1 mM, 0,5 mM como sustrato; los resultados se dan como valores de K_i (nanomolar) en la tabla 7.

45 Activador del plasminógeno tipo tisular humano (h t-PA): La inhibición del t-PA humano se determinó por el método descrito en el ejemplo 2 usando el activador del plasminógeno tipo tisular humano recombinante (Actilyse®) de Boehringer Ingelheim 200 U/ml y Mes-d-Cha-Gly-Arg-pNA (Pefachrome tPA de DSM nutritional products, división de Pentapharm) 4 mM, 2 mM, y 1 mM como sustrato; los resultados se dan como valores de K_i (nanomolar) en la tabla 7.

50 Plasmina humana (h plasmina): La inhibición de la plasmina humana se determinó por el método descrito en el ejemplo 2 usando plasmina humana activada de Calbiochem 1,7 mU/ml y tosil-Gly-Pro-Lys-pNA (Chromozym PL de Roche Applied Science) 4 mM, 2 mM, y 1 mM como sustrato; los resultados se dan como valores de K_i (nanomolar) en la tabla 7.

Calicreína plasmática humana (h PK): La inhibición de la PK humana se determinó por el método descrito en el ejemplo 2 usando calicreína plasmática humana activada de Enzyme Research Laboratories 62 ng/ml y H-D-Pro-Phe-Arg-pNA (S2302 de Chromogenix) 3 mM, 1,5 mM, y 1 mM como sustrato; los resultados se dan como valores

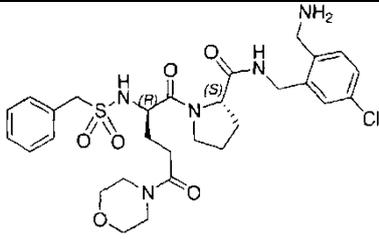
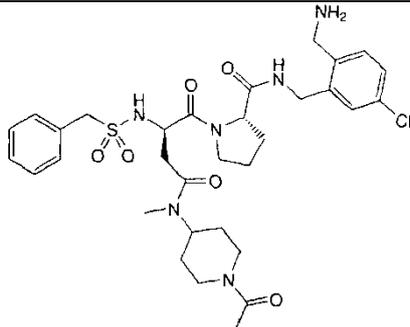
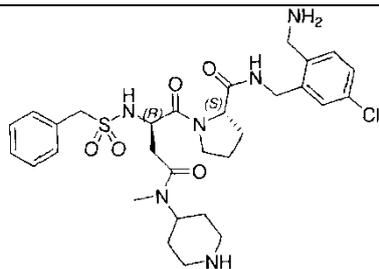
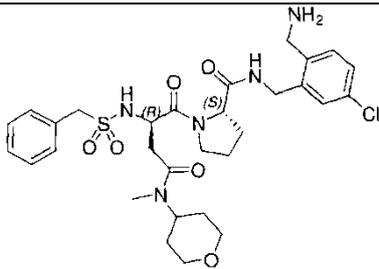
de K_i (nanomolar) en la tabla 7.

Las constantes de disociación se calcularon como se ha descrito en el párrafo [0101]. Los resultados para los compuestos de ejemplo de la invención se muestran en la tabla 7.

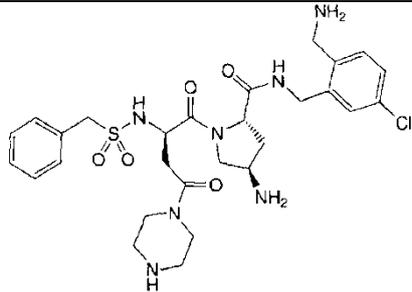
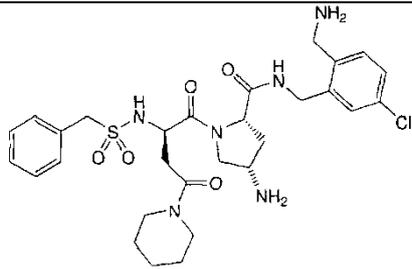
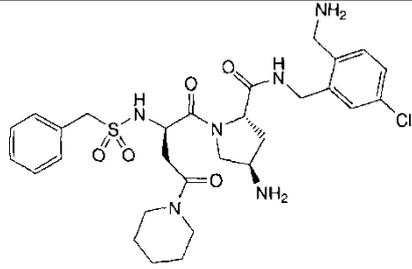
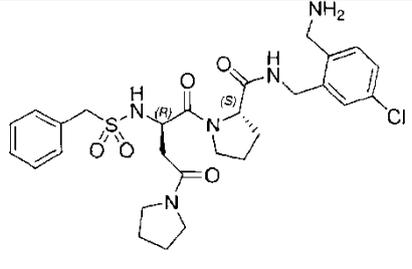
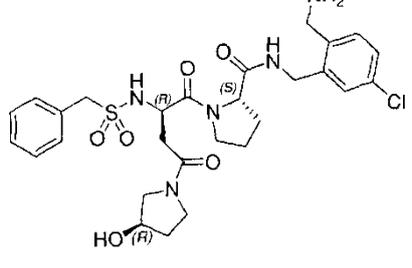
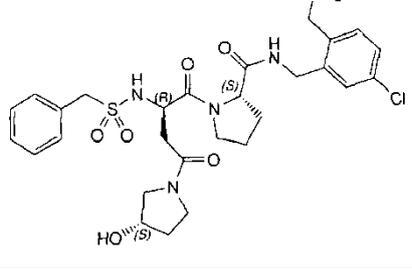
5 Estos datos presentados en la tabla 7 muestran que las constantes de disociación de los compuestos de la invención frente a la trombina y factor Xa son al menos un orden de magnitud menores que aquellos frente a otras proteasas de referencia implicadas en la cascada de coagulación. De hecho, la actividad inhibitora hacia la trombina y factor Xa en general es 100 veces mayor que hacia cualquier otra proteasa de comparación, y en algunos casos, tal como los compuestos 2.1, 2.6, 2.8, 2.13, 2.24, 2.36, 2.41 y 2.45, hay al menos una actividad inhibitora 1000 veces mayor hacia la trombina y el factor Xa que hacia cualquiera de las otras proteasas de comparación.

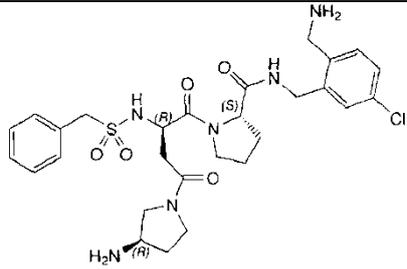
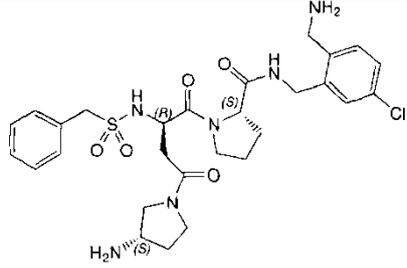
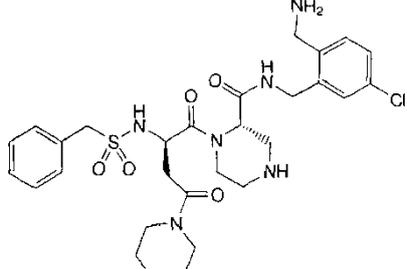
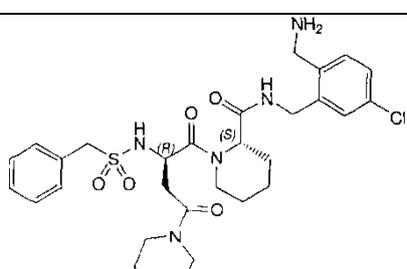
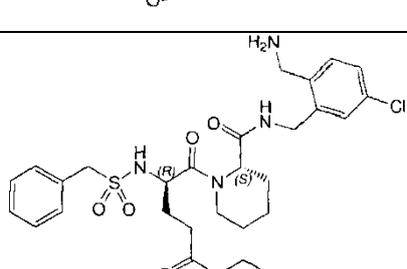
10 Tabla 7

Constantes de disociación (K_i) de los compuestos de ejemplo frente a trombina, factor Xa y proteasas de referencia clave.

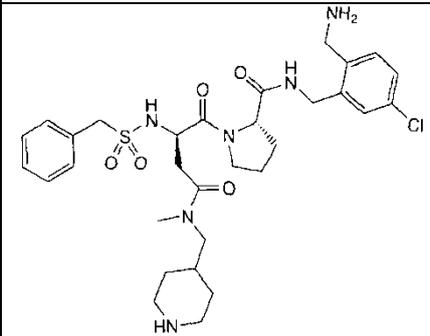
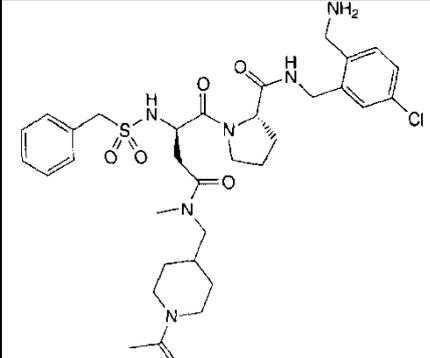
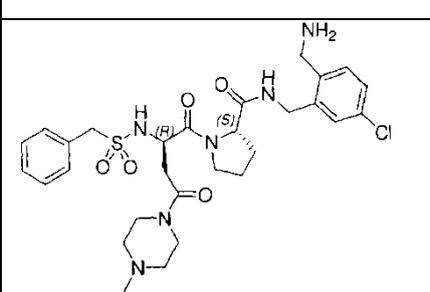
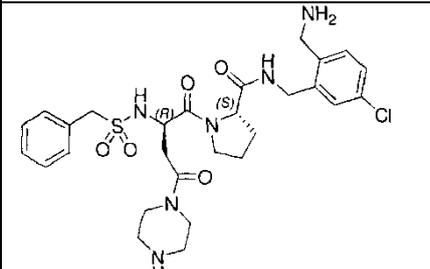
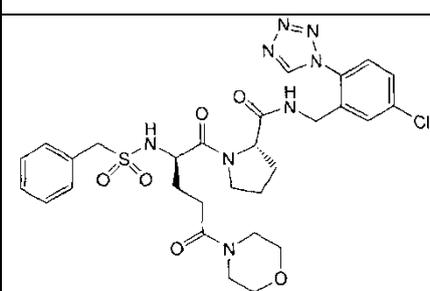
Compuesto	Estructura	Enzima ensayada	K_i (nM)
2.1		h FIIa h FXa h aPC h plasmina h PK h t-PA h u-PA h Cls h Clr huKK	0,43 1,1 > 100.000 > 28.000 1.860 > 20.000 > 40.000 > 80.000 > 200.000 > 60.000
2.2		h FIIa h FXa h aPC h plasmina h PK h t-PA h u-PA h Cls h Clr huKK	3,1 23 > 90.000 > 10.000 4.460 > 100.000 > 50.000 > 100.000 > 50.000 > 10.000
2.3		h FIIa h FXa h aPC h plasmina h PK h t-PA h u-PA h Cls h Clr h uKK	3 23 > 10.000 > 100.000 5.314 > 50.000 > 100.000 > 20.000 > 100.000 > 50.000
2.4		h FIIa h FXa h aPC h plasmina h PK h t-PA h u-PA h Cls h Clr h uKK	0,56 1,3 > 10.000 > 20.000 262 > 100.000 > 40.000 > 25.000 > 10.000 > 50.000

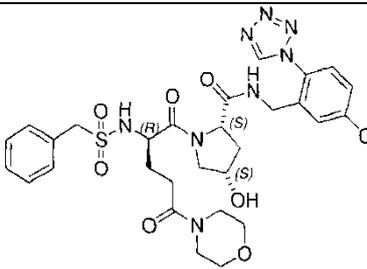
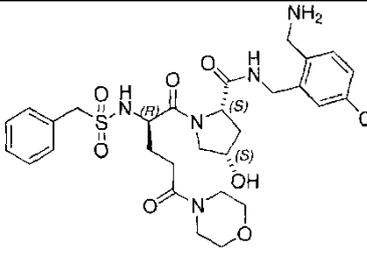
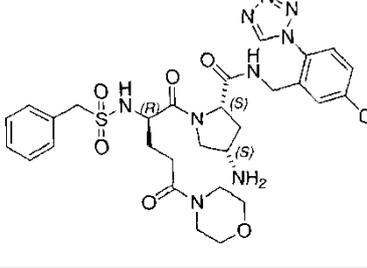
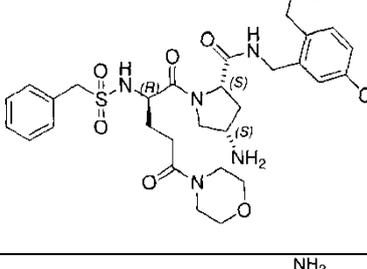
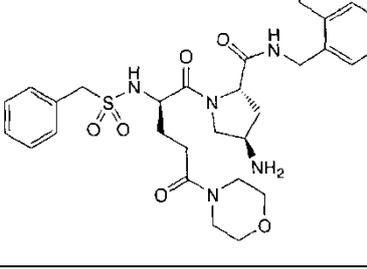
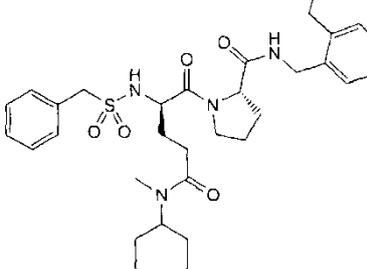
ES 2 654 440 T3

Compuesto	Estructura	Enzima ensayada	K _i (nM)
2.5		h FIIa h FXa h aPC h plasmina h PK h t-PA h u-PA h Cls h Clr h uKK	18 2,8 > 20.000 > 10.000 639 9.270 > 100.000 > 20.000 > 100.000 > 100.000
2.6		h FIIa h FXa h aPC h plasmina h PK h t-PA h u-PA h Cls h Clr h uKK	0,18 0,049 > 100.000 8,745 335 5.050 > 30.000 > 20.000 > 20.000 > 50.000
2.7		h FIIa h FXa h aPC h plasmina h PK h t-PA h u-PA h Cls h Clr h uKK	0,57 0,18 > 50.000 11.860 322 15.275 > 50.000 > 30.000 > 20.000 > 50.000
2.8		h FIIa h FXa h aPC h plasmina h PK h t-PA h u-PA h Cls h Clr h uKK	0,21 0,13 > 40.000 > 20.000 337 > 10.000 > 80.000 > 50.000 > 100.000 > 100.000
2.9		h FIIa h FXa h aPC h plasmina h PK h t-PA h u-PA h Cls h Clr h uKK	1,2 2,5 > 25.000 > 10.000 930 > 20.000 > 100.000 > 50.000 > 50.000 > 200.000
2.10		h FIIa h FXa h aPC h plasmina h PK h t-PA h u-PA h Cls h Clr h uKK	0,9 1,1 > 20.000 > 10.000 830 > 10.000 > 100.000 > 20.000 > 20.000 > 100.000

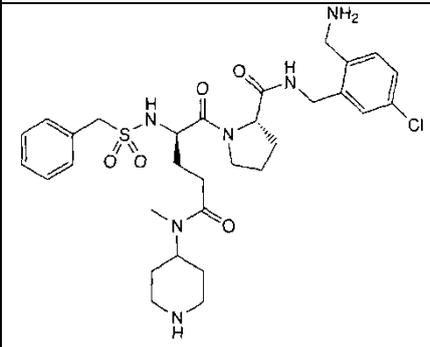
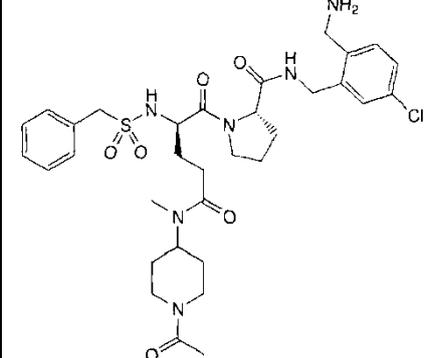
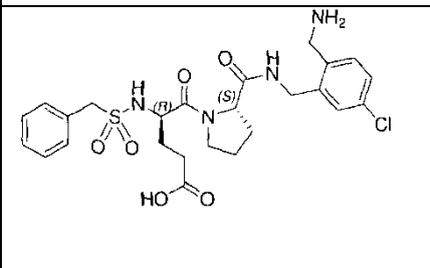
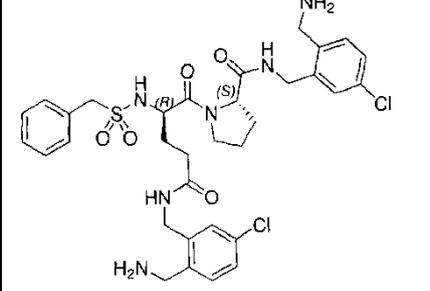
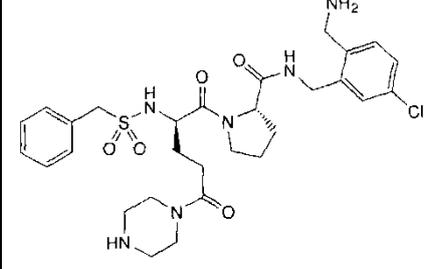
Compuesto	Estructura	Enzima ensayada	K _i (nM)
2.11		h FIIa h FXa h aPC h plasmina h PK h t-PA h u-PA h Cls h Clr h uKK	5,9 14 > 50.000 > 100.000 3.352 > 100.000 > 20.000 > 100.000 > 50.000 > 50.000
2.12		h FIIa h FXa h aPC h plasmina h PK h t-PA h u-PA h Cls h Clr h uKK	2,9 14 > 25.000 > 25.000 1.690 > 100.000 > 50.000 > 30.000 > 100.000 > 20.000
2.13		h FIIa h FXa h aPC h plasmina h PK h t-PA h u-PA h Cls h Clr h uKK	5,1 1,4 > 30.000 > 100.000 8.560 > 40.000 > 100.000 > 60.000 > 30.000 > 20.000
2.14		h FIIa h FXa h aPC h plasmina h PK h t-PA h u-PA h Cls h Clr h uKK	0,3 8,3 > 20.000 > 50.000 4.530 > 50.000 > 50.000 > 50.000 > 50.000 > 20.000
2.15		h FIIa h FXa h aPC h plasmina h PK h t-PA h u-PA h Cls h Clr h uKK	0,7 9,4 > 10.000 > 5.000 7.200 > 10.000 > 50.000 > 50.000 > 20.000 > 10.000

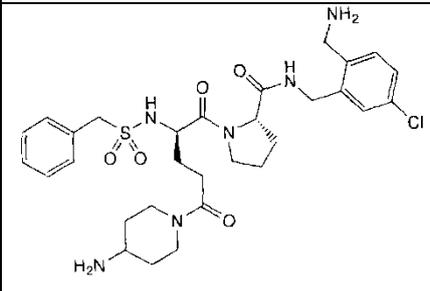
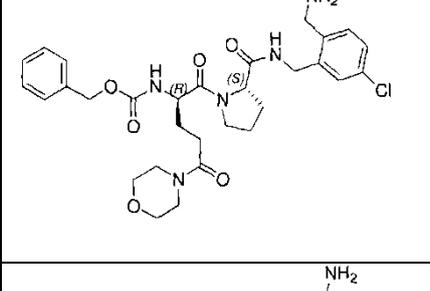
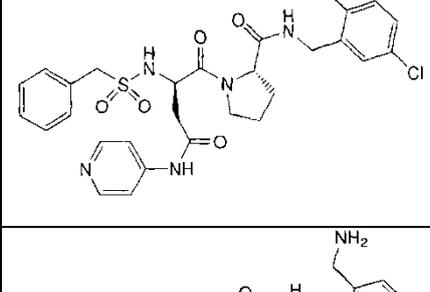
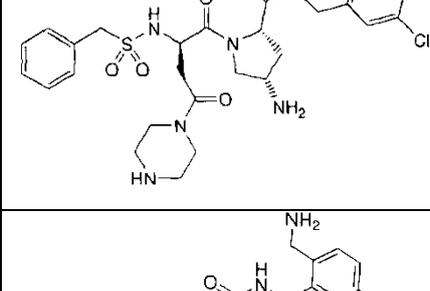
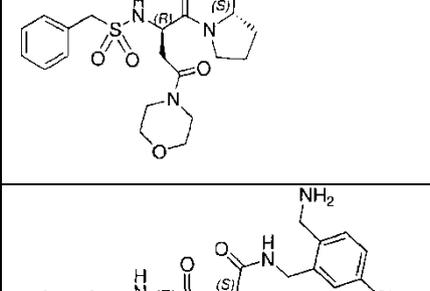
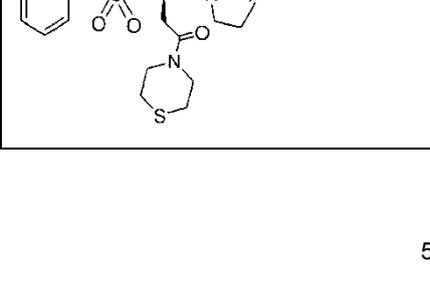
ES 2 654 440 T3

Compuesto	Estructura	Enzima ensayada	K _i (nM)
2.16		h FIIa h FXa h aPC h plasmina h PK h t-PA h u-PA h Cls h Clr h uKK	0,30 1,5 > 100.000 > 5.000 417 > 50.000 > 100.000 > 50.000 > 10.000 > 50.000
2.17		h FIIa h FXa h aPC h plasmina h PK h t-PA h u-PA h Cls h Clr h uKK	0,2 3,7 > 40.000 > 5.000 417 > 100.000 > 40.000 > 100.000 > 10.000 > 20.000
2.18		h FIIa h FXa h aPC h plasmina h PK h t-PA h u-PA h Cls h Clr h uKK	1,5 7,9 > 100.000 > 10.000 170 > 50.000 > 100.000 > 50.000 > 25.000 > 20.000
2.19		h FIIa h FXa h aPC h plasmina h PK h t-PA h u-PA h Cls h Clr h uKK	2,4 1,5 > 30.000 > 4,600 1.024 > 5.000 > 15.000 > 100.000 > 50.000 > 5.000
2.20		h FIIa h FXa h aPC h plasmina h PK h t-PA h u-PA h Cls h Clr h uKK	3,1 3,8 > 30.000 7.270 740 > 15.000 > 100.000 > 75.000 > 30.000 > 50.000

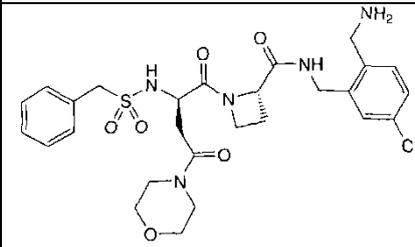
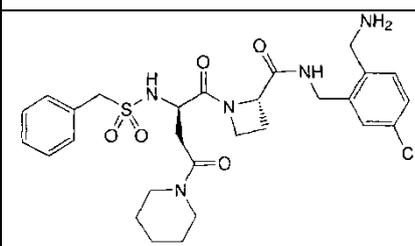
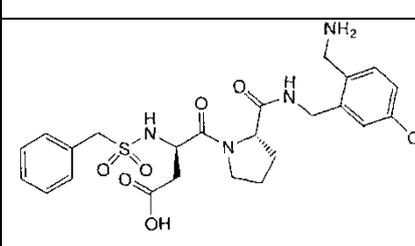
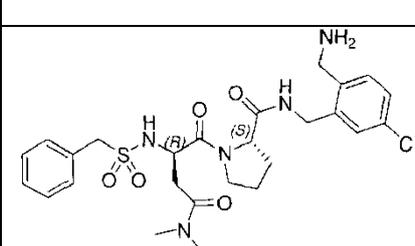
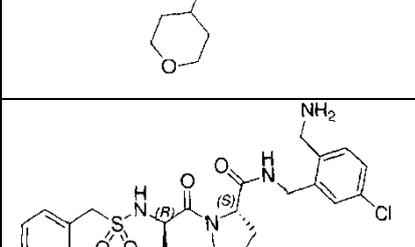
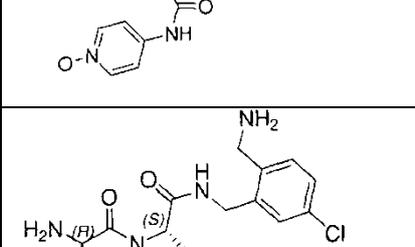
Compuesto	Estructura	Enzima ensayada	K _i (nM)
2.21		h FIIa h FXa h aPC h plasmina h PK h t-PA h u-PA h Cls h Clr h uKK	159 5,3 > 50.000 10.800 1,200 > 20.000 > 100.000 > 50.000 > 100.000 > 100.000
2.22		h FIIa h FXa h aPC h plasmina h PK h t-PA h u-PA h Cls h Clr h uKK	85 0,68 > 25.000 > 100.000 2.690 > 100.000 > 100.000 > 50.000 > 100.000 > 100.000
2.23		h FIIa h FXa h aPC h plasmina h PK h t-PA h u-PA h Cls h Clr h uKK	6,7 0,32 6.700 1.990 390 4.800 > 100.000 > 70.000 > 40.000 > 50.000
2.24		h FIIa h FXa h aPC h plasmina h PK h t-PA h u-PA h Cls h Clr h uKK	1,28 0,19 > 200.000 > 15.000 1.207 > 15.000 > 100.000 > 60.000 > 50.000 > 50.000
2.25		h FIIa h FXa h aPC h plasmina h PK h t-PA h u-PA h Cls h Clr h uKK	4,7 1,1 > 100.000 > 10.000 2.584 > 50.000 > 30.000 > 100.000 > 20.000 > 50.000
2.26		h FIIa h FXa h aPC h plasmina h PK h t-PA h u-PA h Cls h Clr h uKK	1,0 6,9 > 50.000 > 30.000 2.550 > 100.000 > 100.000 > 10.000 > 100.000 > 50.000

ES 2 654 440 T3

Compuesto	Estructura	Enzima ensayada	K _i (nM)
2.27		h FIIa h FXa h aPC h plasmina h PK h t-PA h u-PA h Cls h Clr h uKK	0,8 18 > 50.000 > 10.000 1.650 > 100.000 > 100.000 > 100.000 > 100.000 > 100.000
2.28		h FIIa h FXa h aPC h plasmina h PK h t-PA h u-PA h Cls h Clr h uKK	0,57 36 > 50.000 5.565 5.000 > 100.000 > 20.000 > 20.000 > 100.000 > 100.000
2.29		h FIIa h FXa h aPC h plasmina h PK h t-PA h u-PA h Cls h Clr h uKK	3,3 93 > 25.000 > 15.000 > 20.000 > 20.000 > 100.000 > 100.000 > 50.000 > 10.000
2.30		h FIIa h FXa h aPC h plasmina h PK h t-PA h u-PA h Cls h Clr h uKK	0,99 8,6 > 25.000 > 5.000 432 > 20.000 > 40.000 > 80.000 > 30.000 > 20.000
2.31		h FIIa h FXa h aPC h plasmina h PK h t-PA h u-PA h Cls h Clr h uKK	0,48 21 > 100.000 > 10.000 4.000 > 20.000 > 100.000 > 100.000 > 100.000 > 100.000

Compuesto	Estructura	Enzima ensayada	K _i (nM)
2.32		h FIIa h FXa h aPC h plasmina h PK h t-PA h u-PA h Cls h Clr h uKK	0,15 33 > 100.000 > 20.000 3.060 > 50.000 > 100.000 > 100.000 > 100.000 > 10.000
2.33		h FIIa h FXa h aPC h plasmina h PK h t-PA h u-PA h Cls h Clr h uKK	1,4 8,8 > 30.000 > 20.000 6.061 > 20.000 > 50.000 > 50.000 > 100.000 > 40.000
2.34		h FIIa h FXa h aPC h plasmina h PK h t-PA h u-PA h Cls h Clr h uKK	1,7 21 > 100.000 > 20.000 1.760 > 100.000 > 100.000 > 100.000 > 100.000 > 100.000
2.35		h FIIa h FXa h aPC h plasmina h PK h t-PA h u-PA h Cls h Clr h uKK	4,4 0,79 > 100.000 > 3.000 351 1.000 > 20.000 > 15.000 > 100.000 > 50.000
2.36		h FIIa h FXa h aPC h plasmina h PK h t-PA h u-PA h Cls h Clr h uKK	0,34 0,38 > 100.000 > 12.000 565 18.000 > 40.000 > 80.000 > 100.000 > 30.000
2.37		h FIIa h FXa h aPC h plasmina h PK h t-PA h u-PA h Cls h Clr h uKK	0,49 0,54 > 40.000 6.000 413 19.000 > 20.000 > 80.000 > 200.000 n.d.

Compuesto	Estructura	Enzima ensayada	K _i (nM)
2.38		h FIIa h FXa h aPC h plasmina h PK h t-PA h u-PA h Cls h Clr h uKK	7,8 5,5 > 50.000 15.000 614 > 20.000 > 60.000 > 80.000 > 200.000 n.d.
2.39		h FIIa h FXa h aPC h plasmina h PK h t-PA h u-PA h Cls h Clr h uKK	18,6 15,4 >500 n.d. n.d. n.d. n.d. n.d. n.d. n.d.
2.40		h FIIa h FXa h aPC h plasmina h PK h t-PA h u-PA h Cls h Clr h uKK	6,3 2,4 > 100.000 9.000 478 > 20.000 > 50.000 > 80.000 > 50.000 n.d.
2.41		h FIIa h FXa h aPC h plasmina h PK h t-PA h u-PA h Cls h Clr h uKK	0,11 0,12 > 100.000 8.000 605 > 15.000 > 50.000 > 80.000 > 50.000 > 40.000
2.42		h FIIa h FXa h aPC h plasmina h PK h t-PA h u-PA h Cls h Clr h uKK	88 965 > 10.000 > 50.000 > 50.000 > 50.000 > 100.000 > 100.000 > 20.000 > 20.000
2.43		h FIIa h FXa h aPC h plasmina h PK h t-PA h u-PA h Cls h Clr h uKK	9,7 1,7 > 100.000 > 40.000 5.807 > 80.000 > 20.000 > 80.000 > 30.000 > 10.000

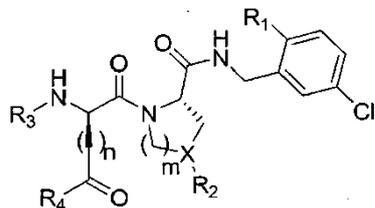
Compuesto	Estructura	Enzima ensayada	K _i (nM)
2.44		h FIIa h FXa h aPC h plasmina h PK h t-PA h u-PA h Cls h Clr h uKK	4,0 0,87 > 100.000 > 10.000 1.830 > 35.000 > 50.000 > 100.000 > 100.000 > 20.000
2.45		h FIIa h FXa h aPC h plasmina h PK h t-PA h u-PA h Cls h Clr h uKK	0,72 0,22 > 100.000 > 20.000 1.860 > 20.000 > 20.000 > 100.000 > 30.000 > 10.000
2.46		h FIIa h FXa h aPC h plasmina h PK h t-PA h u-PA h Cls h Clr h uKK	12,2 1.324 > 40.000 > 10.000 > 50.000 > 50.000 > 50.000 > 100.000 > 100.000 > 20.000
2.47		h FIIa h FXa h aPC h plasmina h PK h t-PA h u-PA h Cls h Clr h uKK	0,32 2,0 > 100.000 > 15.000 304 > 50.000 > 100.000 > 100.000 > 10.000 > 20.000
2.48		h FIIa h FXa h aPC h plasmina h PK h t-PA h u-PA h Cls h Clr h uKK	2,5 17 > 10.000 500 800 26.800 > 100.000 > 20.000 > 100.000 > 100.000
2.49		h FIIa h FXa h aPC h plasmina h PK h t-PA h u-PA h Cls h Clr h uKK	8,0 134 > 10.000 > 100.000 > 10.000 > 100.000 > 100.000 > 100.000 > 10.000 > 100.000

ES 2 654 440 T3

Compuesto	Estructura	Enzima ensayada	K _i (nM)
2.50		h FIIa h FXa h aPC h plasmina h PK h t-PA h u-PA h Cls h Clr h uKK	14 5,2 > 100.000 > 15.000 3.341 > 20.000 > 25.000 > 100.000 > 100.000 > 100.000

REIVINDICACIONES

1. Un compuesto que tiene la siguiente fórmula



o una de sus sales farmacéuticamente aceptables;

5 en donde:

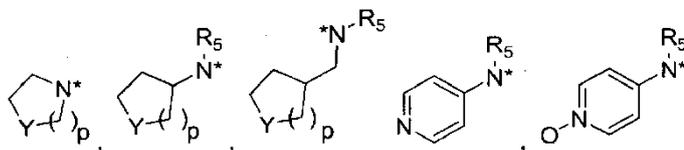
- n es un número entero entre 1 y 2 inclusive;
- m es un número entero entre 0 y 2 inclusive;
- X se selecciona del grupo que consiste en CH o N;

R₁ se selecciona del grupo que consiste en -CH₂NH₂, y  ;

10 R₂ se selecciona del grupo que consiste en -H, -OH, -NH₂ y acetilo;

R₃ se selecciona del grupo que consiste en -H, benciloxycarbonilo y bencilsulfonilo; y

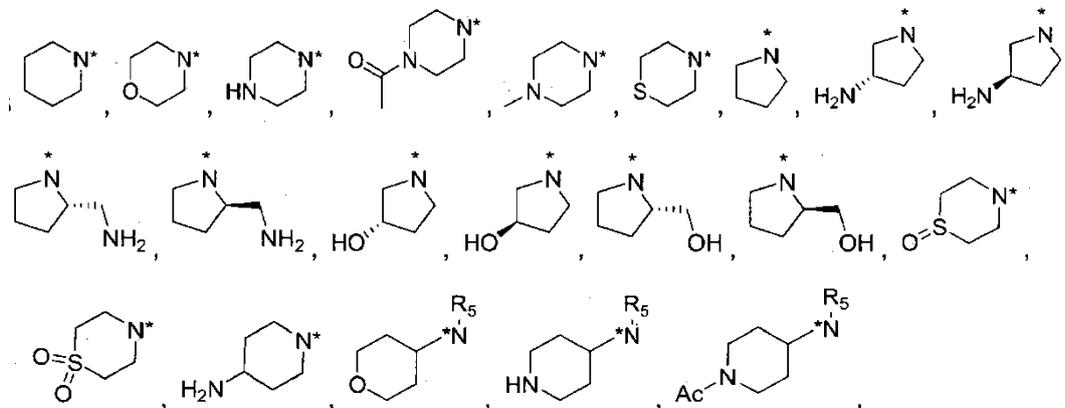
R₄ se selecciona del grupo que consiste en -OH,

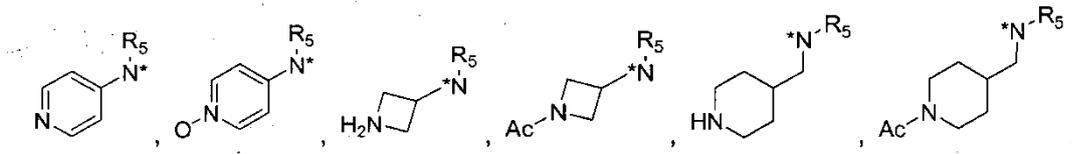


15 ' en donde p es un número entero entre 0 y 2 inclusive, Y se selecciona del grupo que consiste en -O-, -S-, -S(=O)-, -SO₂-, metileno, -CH(OH)-, -CH(NH₂)-, -CH(CH₂-OH)-, -CH(CH₂-NH₂)- o -N(R₆)-, R₅ se selecciona del grupo que consiste en -H o un alquilo (C₁-C₃) simple y R₆ se selecciona del grupo que consiste en -H; un alquilo (C₁-C₃) simple o un acilo (C₁-C₃) simple.

2. Un compuesto según la reivindicación 1, en donde R₃ se selecciona del grupo que consiste en benciloxycarbonilo y bencilsulfonilo.

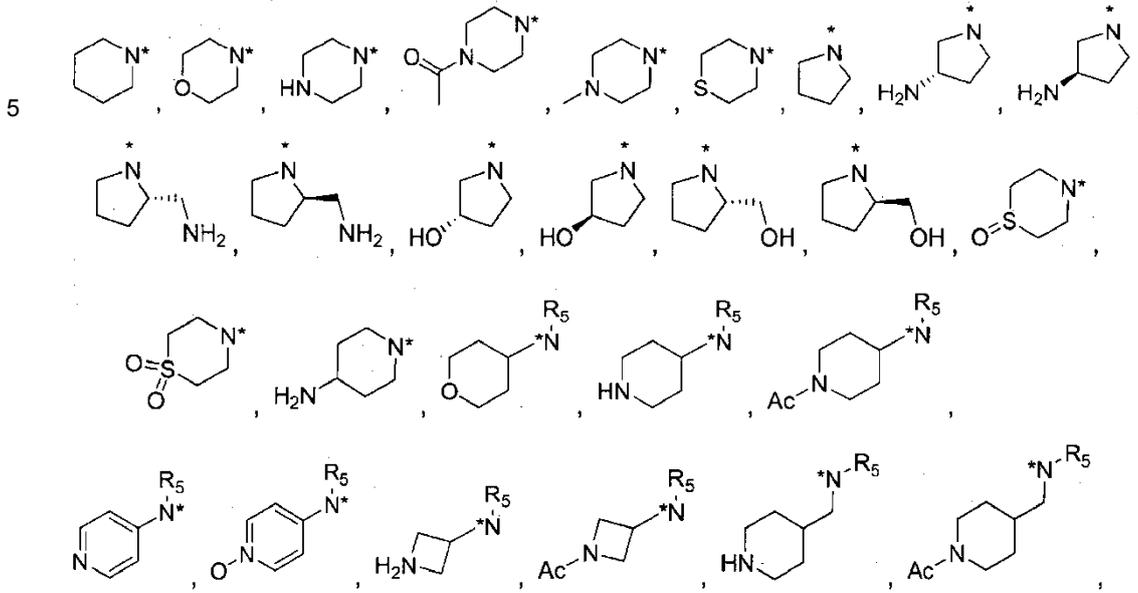
20 3. Un compuesto según la reivindicación 1, en donde R₄ se selecciona del grupo de





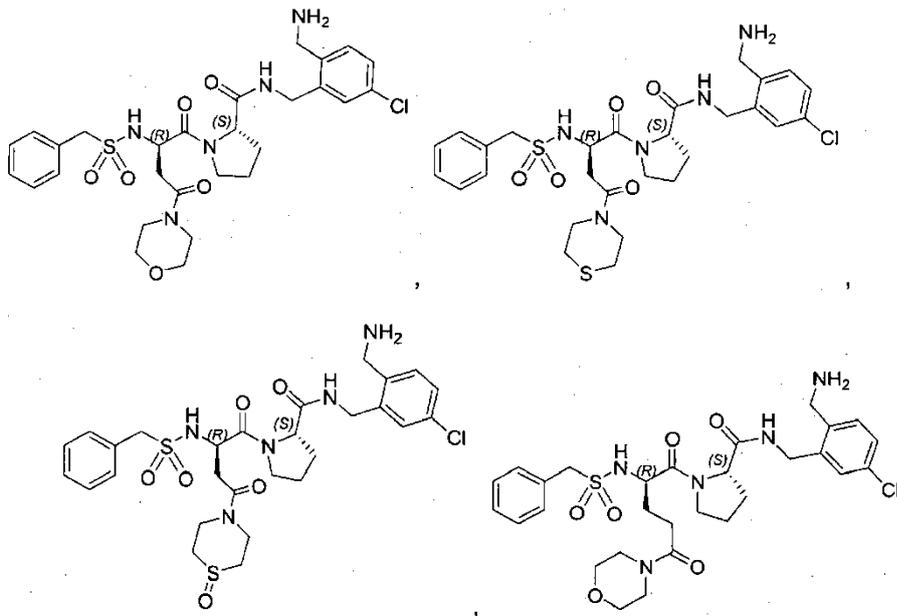
en donde R₅ es -H o metilo.

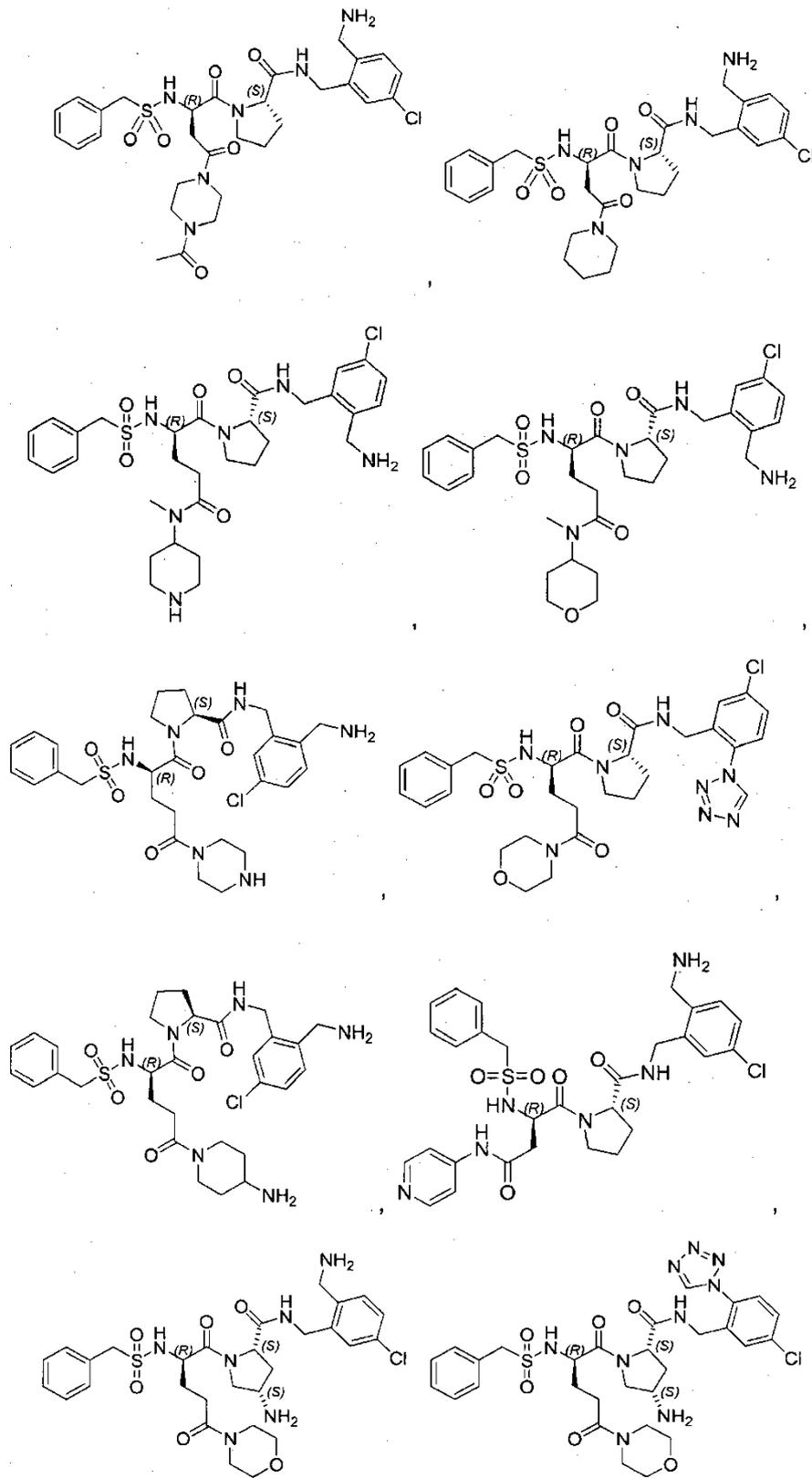
4. Un compuesto según la reivindicación 1, en donde R₁ es -CH₂NH₂, n es 1 o 2 y R₄ se selecciona del grupo de

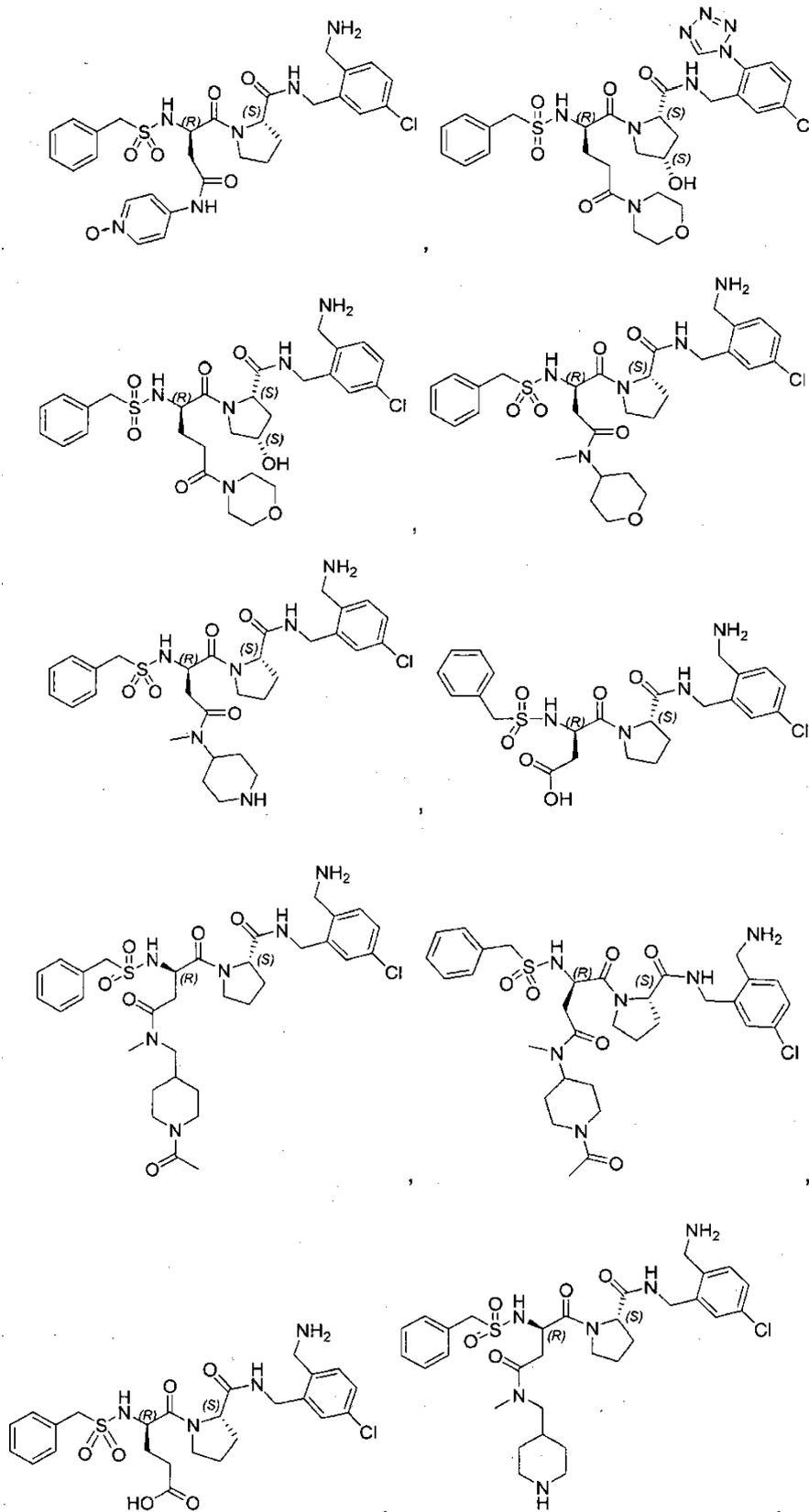


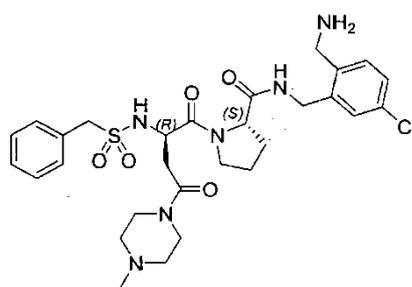
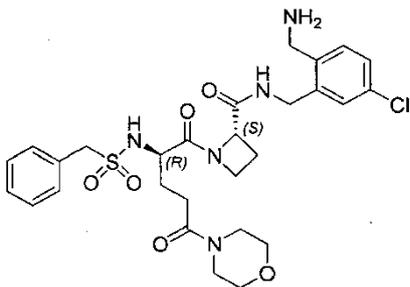
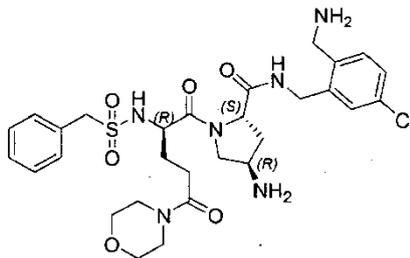
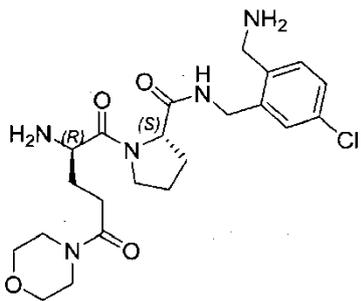
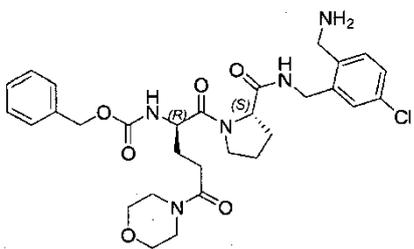
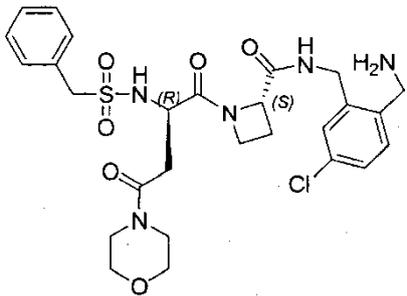
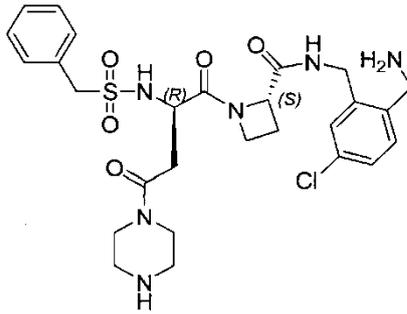
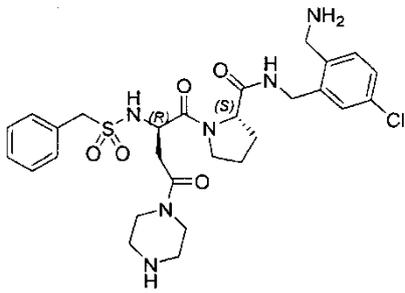
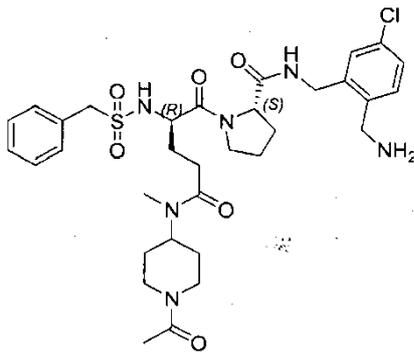
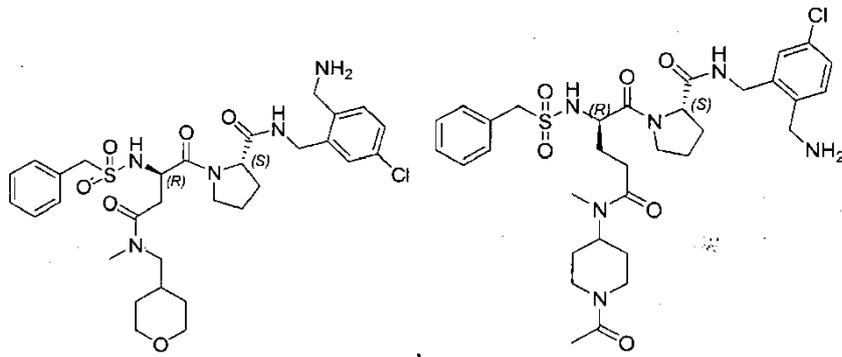
y R₅ es -H o metilo.

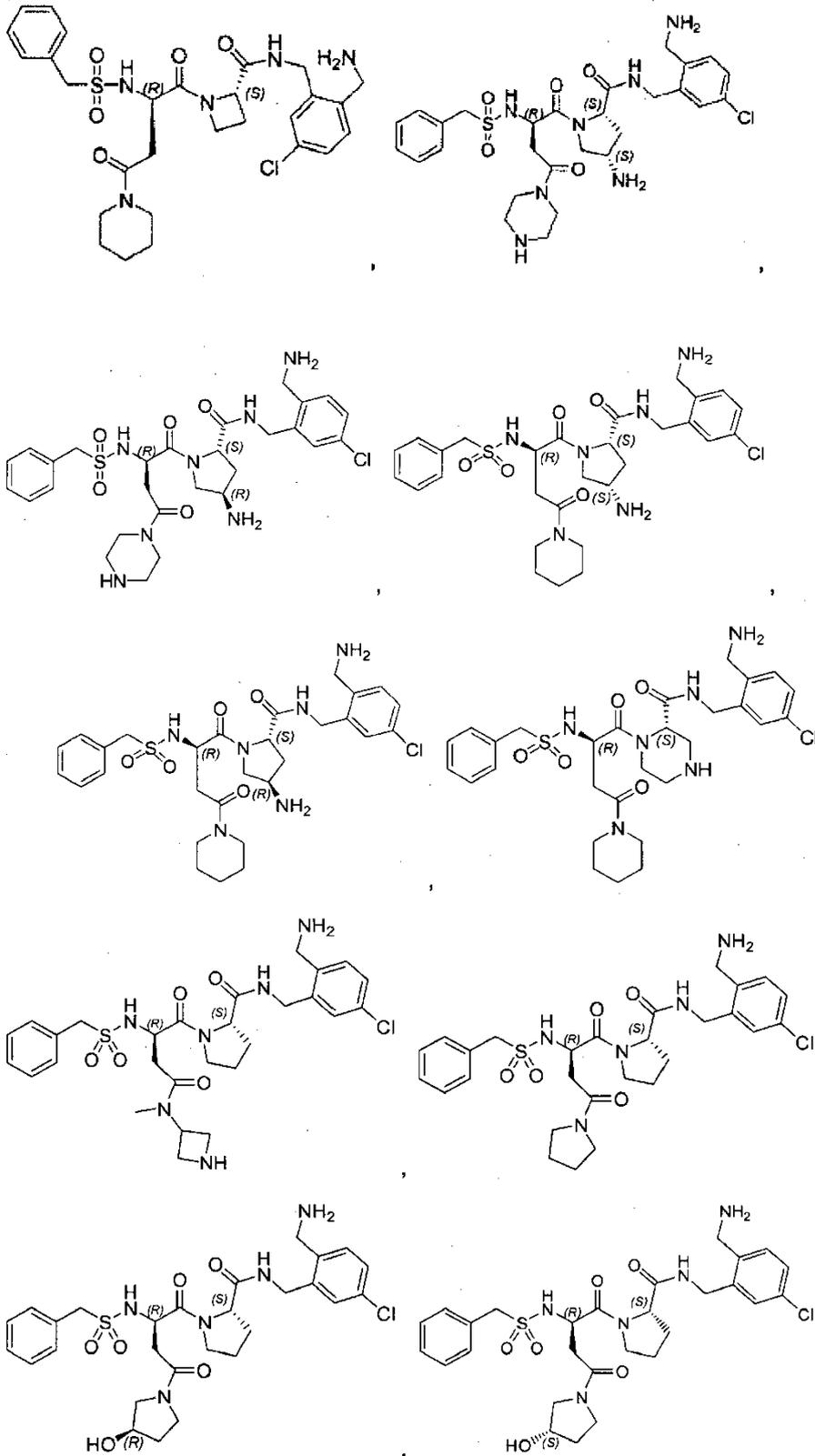
10 5. Un compuesto seleccionado del grupo de

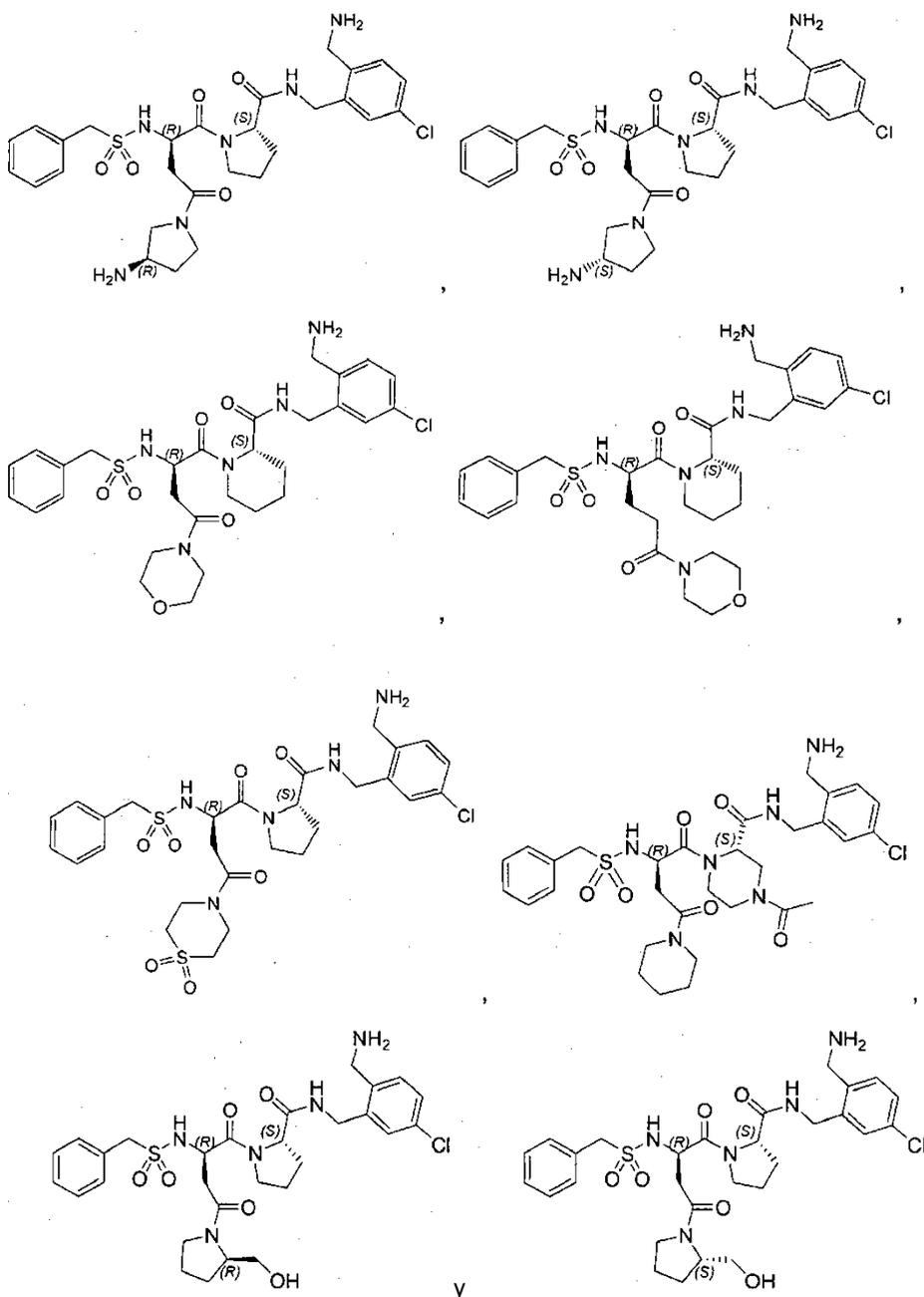












5 o una de sus sales farmacéuticamente aceptables.

6. Una composición farmacéutica que comprende uno o más compuestos según una cualquiera de las reivindicaciones 1-5, que comprende además uno o más vehículos o excipientes farmacéuticamente aceptables.

7. Un compuesto según una cualquiera de las reivindicaciones 1-5, para usar en un método para el tratamiento de una afección donde está indicada la anticoagulación.

10 8. Un compuesto según una cualquiera de las reivindicaciones 1-5, para usar en un método para prevenir la enfermedad trombótica.

9. Un compuesto según una cualquiera de las reivindicaciones 1-5, para usar en un método para la terapia o prevención de un trastorno cardiovascular o de un suceso tromboembólico.

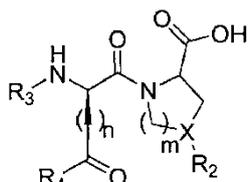
15 10. Un compuesto según una cualquiera de las reivindicaciones 1-5, para usar en un método para la prevención de un trastorno cardiovascular o de un suceso tromboembólico durante el trasplante de órganos o procedimientos quirúrgicos cardíacos.

11. Un compuesto según una cualquiera de las reivindicaciones 1-5, para usar en un método para la prevención de un trastorno cardiovascular o de un suceso tromboembólico durante procedimientos quirúrgicos con derivación cardiopulmonar.

5 12. Un compuesto según una cualquiera de las reivindicaciones 1-5, para usar en un método para la inhibición doble de la trombina y el factor Xa.

13. Uso de un compuesto según una cualquiera de las reivindicaciones 1-5, en la fabricación de una composición para el revestimiento de un dispositivo invasivo que se va a insertar en un paciente.

14. Un compuesto que tiene la estructura según una de las siguientes fórmulas,



(a) **A**, en donde:

10 n es un número entero entre 1 y 2 inclusive;

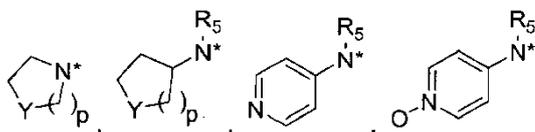
m es un número entero entre 0 y 2 inclusive;

X se selecciona del grupo que consiste en CH o N;

R₂ se selecciona del grupo que consiste en -H, -OH y -NHP² si X es CH y -P² o acetilo si X es N;

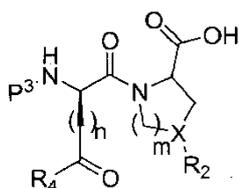
R₃ se selecciona del grupo que consiste en -P², benciloxicarbonilo y bencilsulfonilo; y

15 R₄ se selecciona del grupo que consiste en



, en donde p es un número entero entre 1 y 2 inclusive, Y se selecciona del grupo que consiste en -O-, -S-, -S(=O)-, -SO₂-, metileno, -CH(OH)-, -CH(NHP²)- o -N(R₆)-, R₅ se selecciona del grupo que consiste en -H o un alquilo (C₁-C₃) simple y R₆ se selecciona del grupo que consiste en -P², un alquilo (C₁-C₃) simple o un acilo (C₁-C₃) simple; y

20 cada P² es independientemente un grupo protector de amino; o



(b) **B**, en donde:

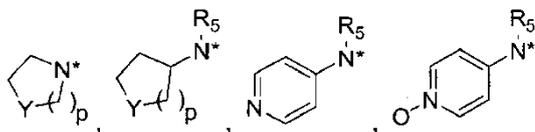
n es un número entero entre 1 y 2 inclusive;

m es un número entero entre 0 y 2 inclusive;

X se selecciona del grupo que consiste en CH o N;

25 R₂ se selecciona del grupo que consiste en -H, -OH y -NHP² si X es CH y -P² o acetilo si X es N;

R₄ se selecciona del grupo que consiste en



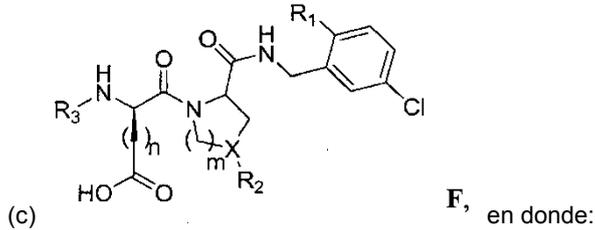
, en donde p es un número entero entre 1 y 2 inclusive, Y se selecciona del grupo que consiste en -O-, -S-, -S(=O)-, -SO₂-, metileno, -CH(OH)-, -CH(NHP²)- o -N(R₆)-, R₅ se selecciona del grupo que consiste en -H o un alquilo (C₁-C₃) simple y R₆ se selecciona del grupo que consiste en -P², un alquilo (C₁-C₃) simple o un acilo (C₁-C₃) simple;

30

cada P² es independientemente un grupo protector de amino;

y

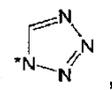
P³ es un grupo protector de amino que se puede escindir en presencia de cada P²; o



5 n es un número entero entre 1 y 2 inclusive;

m es un número entero entre 0 y 2 inclusive;

X se selecciona del grupo que consiste en CH o N;

R₁ se selecciona del grupo que consiste en -CH₂NHP¹, y ,

en donde P¹ es un grupo protector de amino;

10 R₂ se selecciona del grupo que consiste en -H, -OH y -NHP² si X es CH y -P² o acetilo si X es N;

R₃ se selecciona del grupo que consiste en -P², benciloxycarbonilo y bencilsulfonilo; y

cada P² es independientemente un grupo protector de amino.