

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 373 224**

51 Int. Cl.:
C07D 473/20 (2006.01)
C07D 473/22 (2006.01)
A61K 31/52 (2006.01)
A61K 31/522 (2006.01)
A61P 25/28 (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Número de solicitud europea: **03721211 .5**
96 Fecha de presentación: **15.04.2003**
97 Número de publicación de la solicitud: **1499613**
97 Fecha de publicación de la solicitud: **26.01.2005**

54 Título: **DERIVADOS DE TIOXANTINA COMO INHIBIDORES DE LA MIELOPEROXIDASA.**

30 Prioridad:
19.04.2002 SE 0201193
17.07.2002 SE 0202239

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:
01.02.2012

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:
01.02.2012

73 Titular/es:
ASTRAZENECA AB
151 85 SÖDERTÄLJE, SE

72 Inventor/es:
HANSON, Sverker;
NORDVALL, Gunnar y
TIDEN, Anna-Karin

74 Agente: **de Elzaburu Márquez, Alberto**

ES 2 373 224 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).

en la que:

X representa S, e Y representa O;

R¹ representa hidrógeno o alquilo C1 a 6;

5 R² representa metileno, etileno o trimetileno sustituido con ciclopropilo, ciclohexilo, tetrahidrofurano o morfolinilo;

R³ y R⁴ representan independientemente hidrógeno o alquilo C1 a 6;

o las sales farmacéuticamente aceptables del mismo.

10 Los compuestos de las fórmulas (Ia) o (Ib) pueden existir en formas enantioméricas. Por lo tanto, todos los enantiómeros, diastereoisómeros, racematos y las mezclas de los mismos están incluidos dentro del alcance de la invención.

Se apreciará que cuando R³ en las fórmulas (Ia) y (Ib) representa hidrógeno, las dos representaciones alternativas (Ia) y (Ib) son formas tautoméricas del mismo compuesto. Tales tautómeros y las mezclas de tautómeros están incluidos dentro del alcance de la presente invención.

15 Un aspecto más particular de la invención proporciona el uso de un compuesto de fórmula (Ia) o (Ib), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en la fabricación de un medicamento para el tratamiento o la profilaxis de trastornos neuroinflamatorios.

20 En otro aspecto, la invención proporciona una formulación farmacéutica que comprende una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de fórmula (Ia) o (Ib), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en una mezcla con un adyuvante, diluyente o vehículo farmacéuticamente aceptable, para el uso en el tratamiento o la profilaxis de enfermedades o afecciones en las que es beneficiosa la inhibición de la enzima MPO.

En otro aspecto más particular, la invención proporciona una formulación farmacéutica que comprende una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de fórmula (Ia) o (Ib), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en una mezcla con un adyuvante, diluyente o vehículo farmacéuticamente aceptable, para el uso en el tratamiento o la profilaxis de trastornos neuroinflamatorios.

25 A menos que se indique de otra manera, el término "alquilo C1 a 6" mencionado en la presente memoria significa un grupo alquilo de cadena lineal o ramificada que tiene de 1 a 6 átomos de carbono. Los ejemplos de tales grupos incluyen metilo, etilo, 1-propilo, n-butilo, iso-butilo, terc-butilo, pentilo y hexilo.

Un aspecto adicional de la invención proporciona los siguientes compuestos nuevos de fórmula (Ia) o (Ib):

3-ciclohexilmetil-2-tioxantina;

30 3-ciclopropilmetil-2-tioxantina;

3-(2-tetrahidrofuril-metil)-2-tioxantina;

3-(3-(1-morfolinil)-propil)-2-tioxantina;

(+)-3-(2-tetrahidrofuril-metil)-2-tioxantina;

(-)-3-(2-tetrahidrofuril-metil)-2-tioxantina;

35 y las sales farmacéuticamente aceptables de los mismos.

En otro aspecto, la presente invención proporciona 3-(2-tetrahidrofuril-metil)-2-tioxantina o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma.

Un aspecto adicional de la invención es el uso de los compuestos nuevos de fórmula (Ia) o (Ib) como un medicamento.

40 Los compuestos nuevos de fórmula (Ia) o (Ib), o una sal farmacéuticamente aceptable, enantiómero, diastereómero o racemato de los mismos se pueden preparar mediante:

(a) la reacción de un compuesto de fórmula (IIa) o (IIb)

describen en la bibliografía, y serán muy conocidos para una persona experta en la técnica.

La presente invención incluye compuestos de fórmula (Ia) o (Ib) en forma de sales, en particular sales de adición de ácido. Las sales adecuadas incluyen las formadas con ácidos tanto orgánicos como inorgánicos. Tales sales de adición de ácido serán normalmente farmacéuticamente aceptables, aunque las sales de ácidos que no son farmacéuticamente aceptables pueden ser de utilidad en la preparación y purificación del compuesto en cuestión. Así, las sales preferidas incluyen las formadas a partir de los ácidos clorhídrico, bromhídrico, sulfúrico, fosfórico, cítrico, tartárico, láctico, pirúvico, acético, succínico, fumárico, maleico, metanosulfónico y bencenosulfónico.

Las sales de los compuestos de fórmula (Ia) o (Ib) se pueden formar haciendo reaccionar la base libre, o una sal, enantiómero o racemato de los mismos, con uno o más equivalentes del ácido adecuado. La reacción se puede llevar a cabo en un disolvente o medio en el que la sal es insoluble o en un disolvente en el que la sal es soluble, por ejemplo, agua, dioxano, etanol, tetrahidrofurano o éter dietílico, o una mezcla de disolventes, que se pueden eliminar a vacío o mediante liofilización. La reacción también puede ser un procedimiento de metátesis, o se puede llevar a cabo en una resina de intercambio iónico.

Los compuestos de las fórmulas (IIa) o (IIb) y los compuestos de fórmula (IIIa) o (IIIb) se conocen en la bibliografía o se pueden preparar mediante el uso de métodos conocidos que serán evidentes para el experto en la técnica.

Los compuestos de la invención y los intermedios se pueden aislar a partir de sus mezclas de reacción, y, si es necesario, se pueden purificar adicionalmente mediante el uso de las técnicas habituales.

Los compuestos de fórmula (Ia) o (Ib) pueden existir en formas enantioméricas. Por lo tanto, todos los enantiómeros, diastereoisómeros, racematos y las mezclas de los mismos están incluidos dentro del alcance de la invención. Los diversos isómeros ópticos se pueden aislar mediante separación de una mezcla racémica de los compuestos usando técnicas convencionales, por ejemplo, cristalización fraccionada o HPLC. De manera alternativa, los diversos isómeros ópticos se pueden preparar directamente mediante el uso de materiales de partida ópticamente activos.

Los compuestos intermedios también pueden existir en formas enantioméricas, y se pueden usar en forma de enantiómeros purificados, diastereómeros, racematos o mezclas.

Los compuestos de fórmula (Ia) o (Ib), y sus sales farmacéuticamente aceptables, son útiles porque poseen actividad farmacológica como inhibidores de la enzima MPO.

Los compuestos de fórmulas (Ia) y (Ib) y sus sales farmacéuticamente aceptables están indicados para el uso en el tratamiento o la profilaxis de enfermedades o afecciones en las que es deseable la modulación de la actividad de la enzima mieloperoxidasa (MPO). En particular, la asociación de la actividad de MPO a la enfermedad se ha implicado en las enfermedades neuroinflamatorias. Por lo tanto, los compuestos de la presente invención están indicados en particular para el uso en el tratamiento de afecciones o trastornos neuroinflamatorios en mamíferos, lo que incluye el ser humano. Tal afecciones o trastornos serán evidentes para el experto en la técnica.

Las afecciones o trastornos que se pueden mencionar específicamente incluyen esclerosis múltiple, enfermedad de Alzheimer, enfermedad de Parkinson, esclerosis lateral amiotrófica e ictus, así como otras enfermedades o afecciones inflamatorias tales como asma, enfermedad pulmonar obstructiva crónica, fibrosis quística, fibrosis pulmonar idiopática, síndrome de dificultad respiratoria aguda, sinusitis, rinitis, psoriasis, dermatitis, uveítis, gingivitis, aterosclerosis, enfermedad inflamatoria intestinal, lesión glomerular renal, fibrosis hepática, septicemia, proctitis, artritis reumatoide, e inflamación asociada a lesión por reperfusión, lesión de la médula espinal y lesión/cicatrización/adhesión/rechazo de tejidos. También se ha propuesto que el cáncer de pulmón está asociado a niveles elevados de MPO. También se espera que los compuestos sean útiles en el tratamiento del dolor.

La profilaxis se espera que sea particularmente relevante para el tratamiento de personas que han sufrido un episodio previo, o que por otra parte se ha considerado que tienen un riesgo mayor, de la enfermedad o trastorno en cuestión. Las personas en riesgo de desarrollar una enfermedad o trastorno particular incluyen generalmente aquellas que tienen una historia familiar de la enfermedad o trastorno, o aquellas que han sido identificadas mediante análisis o rastreo genético que son particularmente susceptibles al desarrollo de la enfermedad o trastorno.

Para las indicaciones terapéuticas anteriormente mencionadas, la dosis administrada variará, por supuesto, con el compuesto empleado, el modo de administración y el tratamiento deseado. Sin embargo, en general, se obtienen resultados satisfactorios cuando los compuestos se administran a una dosis de la forma sólida de entre 1 mg y 2000 mg al día.

Los compuestos de las fórmulas (Ia) o (Ib), y los derivados farmacéuticamente aceptables de los mismos, se pueden usar solos, o en forma de composiciones farmacéuticas adecuadas en las que el compuesto o derivado está en una mezcla con un adyuvante, diluyente o vehículo farmacéuticamente aceptable. Así, otro aspecto de la invención se refiere a una composición farmacéutica que comprende un compuesto nuevo de fórmula (Ia) o (Ib), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en una mezcla con un adyuvante, diluyente o vehículo farmacéuticamente aceptable. La administración puede ser, pero sin limitación, enteral (que incluye oral, sublingual o rectal), intranasal, inhalación, intravenosa, tópica u otras vías parenterales. Los procedimientos convencionales para la selección y

preparación de formulaciones farmacéuticas adecuadas se describen, por ejemplo, en "Pharmaceuticals - The Science of Dosage Form Designs", M. E. Aulton, Churchill Livingstone, 1988. La composición farmacéutica comprende preferiblemente menos del 80%, y más preferiblemente menos del 50%, de un compuesto de las fórmulas (Ia) o (Ib), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

- 5 También se proporciona un procedimiento para la preparación de una composición farmacéutica que comprende la mezcla de los ingredientes.

La invención se ilustra, pero sin limitación, mediante los ejemplos siguientes:

Los espectros de ^1H y ^{13}C RMN se registraron en un instrumento Bruker DPX de 300 MHz o en un espectrómetro Varian Unity de 400 MHz a 25 °C. Se usaron las siguientes señales de referencia: la línea media de DMSO- d_6 δ 39,5 (^{13}C); DMSO- d_6 δ 2,50 (^1H). Todos los espectros de masas se registraron en un instrumento Waters LCMS (2790). Se llevó a cabo la cromatografía en capa fina (TLC) en láminas de aluminio para TLC pre-revestidas con gel de sílice 60 F₂₅₄ de Merck (grosor de la capa 0,2 mm). Se usó gel de sílice 60 de Merck (0,063-0,200 mm) para la cromatografía en columna. El análisis de HPLC se llevó a cabo con una bomba de gradiente Gynkotek P580 HPG con un detector UV-vis Gynkotek UVD 170S. Columna; Waters Symmetry C18, 5 μm , 3,9 x 150 mm. La cromatografía líquida preparativa se llevó a cabo con una bomba de gradiente Gynkotek P580 HPG con un detector UV-vis Gynkotek UVD 170S. Columna; Waters Symmetry C18, 5 μm , 19x100 mm.

Los materiales de partida se prepararon según las referencias siguientes:

1. Katritzky, A. R.; Drewniak, M., Tet. Lett. (1988), 29(15), 1755-1758.
2. Van der Goot, H.; Schepers, M. J. P.; Sterk, G. J.; Timmerman, H., Eur. J. Med. Chem. (1992), 27 (5), 511-517.

Preparación A

a) 6-Amino-1-isobutil-2-tioxo-2,3-dihidro-1H-pirimidin-4-ona

Se añadió isobutiltioureia¹ (3,8 g, 29 mmol) y cianoacetato de etilo (3,9 g, 34 mmol) a una disolución de etóxido sódico [preparada a partir de sodio (0,72 g, 32 mmol) y etanol absoluto (30 mL)]. La mezcla resultante se sometió a reflujo durante 4 h. Después de enfriar a temperatura ambiente, el disolvente se evaporó a presión reducida. Se añadió ácido acético del 10% (45 mL) al jarabe viscoso. El precipitado resultante se recogió mediante filtración y el sólido se lavó con agua. La recristalización a partir de metanol/agua proporcionó el producto deseado (4,0 g, 70%).

^1H RMN (DMSO- d_6): δ 11,8 (s, 1H), 6,99 (s, 2H), 4,85 (m, 2H), 4,61 (s ancho, 1H), 2,29 (m, 1H), 0,87 (d, 6H, J 6,6 Hz).

MS (ES) m/z 200 (M+1).

b) 6-Amino-1-isobutil-5-nitroso-2-tioxo-2,3-dihidro-1H-pirimidin-4-ona

Se suspendió 6-amino-1-isobutil-2-tioxo-2,3-dihidro-1H-pirimidin-4-ona (1,0 g, 5,0 mmol) en acético ácido del 10% (20 mL). Se añadió nitrito sódico (0,38 g, 5,5 mmol), y la mezcla resultante se calentó a 75 °C durante 1 h. La mezcla de reacción primero se volvió de color rosa y después de color púrpura. La mezcla púrpura se enfrió a temperatura ambiente. Después se añadió agua (20 mL) y el sólido púrpura se recogió mediante filtración y se lavó con agua para proporcionar el compuesto del título (1,1 g, rendimiento del 92%). Este sólido se usó en la etapa siguiente sin purificación adicional.

^1H RMN (DMSO- d_6): δ 13,1 (s ancho, 1H), 12,8 (s ancho, 1H), 9,1 (s ancho, 1H), 4,80 (s ancho, 1H), 3,78 (s ancho, 1H), 2,21 (m, 1H), 0,88 (d, 6H, J 6,3 Hz). MS (ES) m/z 229 (M+1).

c) 5,6-Diamino-1-isobutil-2-tioxo-2,3-dihidro-1H-pirimidin-4-ona

Se suspendió 6-amino-1-isobutil-5-nitroso-2-tioxo-2,3-dihidro-1H-pirimidin-4-ona (1,1 g, 4,5 mmol) en amoniaco acuoso del 32% (10 mL) y se añadió agua (10 mL). Esta mezcla roja se calentó a 75 °C. Se añadió ditionito sódico en porciones pequeñas. Cuando se habían añadido 1,8 g (10 mmol) de ditionito, el color de la disolución cambió de rojo a amarillo pálido. En este punto, se disolvió todo el sólido. Después de calentar durante otros 5 minutos se formó un precipitado en la disolución. La mezcla de reacción se extrajo del baño de aceite y se agitó a temperatura ambiente durante 45 minutos. El pH de la disolución se ajustó hasta un pH neutro con ácido acético del 10%. El precipitado amarillo se recogió mediante filtración y se lavó con agua, y se secó para proporcionar la diamina (0,76 g, 77%). Este producto se usó sin purificación adicional.

^1H RMN (DMSO- d_6): δ 11,3 (s ancho, 1H), 6,19 (s, 2 H), 4,94 (s ancho, 1H), 3,70 (s ancho, 1H), 3,43 (s, 2H), 2,27-2,35 (m, 1H), 0,88 (d, 6H, J 6,1 Hz).

MS (ES) m/z 215 (M+1).

Ejemplo 1

3-Ciclohexilmetil-2-tioxantina

a) 6-Amino-1-ciclohexilmetil-2-tioxo-2,3-dihidro-1H-pirimidin-4-ona

- 5 El compuesto del título se preparó de acuerdo con el método general de Preparación A (a) mediante el uso de ciclohexilmetiltiourea² (3,92 g, 22,7 mmol), lo que proporcionó el compuesto del título en forma de un sólido blanco (4,87 g, 90%).

¹H RMN (DMSO-d₆): δ 11,75 (s, 1H), 6,93 (s, 2H), 5,1-4,7 (m ancho, 1H), 4,83 (s, 1H), 3,55 (ancho, 1H), 1,93 (ancho, 1H), 1,75-1,30 (m ancho, 5H), 1,10 (ancho, 5H).

10 b) 6-Amino-1-ciclohexilmetil-5-nitroso-2-tioxo-2,3-dihidro-1H-pirimidin-4-ona

El compuesto del título se preparó de acuerdo con el método general de Preparación A (b) de 6-amino-1-ciclohexilmetil-2-tioxo-2,3-dihidro-1H-pirimidin-4-ona (3,75 g, 15,7 mmol), lo que proporcionó 3,60 g (85%) del producto en forma de un sólido púrpura.

- 15 ¹H RMN: δ 13,5 (s ancho, 1H), 12,7 (s ancho, 1H), 9,1 (s ancho, 1H), 4,84 (s ancho, 1H), 3,82 (s ancho, 1H), 1,80 (ancho, 1H), 1,64-1,59 (m ancho, 5H), 1,07 (ancho, 5H).

c) 5,6-Diamino-1-ciclohexilmetil-2-tioxo-2,3-dihidro-1H-pirimidin-4-ona

El compuesto del título se preparó de acuerdo con el método general de Preparación A (c) de 6-amino-1-ciclohexilmetil-5-nitroso-2-tioxo-2,3-dihidro-1H-pirimidin-4-ona (3,60 g, 13,4 mmol) y se usó sin purificación en la siguiente etapa.

- 20 ¹H RMN (DMSO-d₆): δ 6,17 (s, 2 H), 5,01 (ancho, 1H), 4,0-3,0 (muy ancho, 3H), 1,97 (ancho, 1H), 1,8-1,3 (m ancho, 5H), 1,09 (m ancho, 5H).

d) 3-Ciclohexilmetil-2-tioxantina

- 25 Se calentó 5,6-diamino-1-ciclohexilmetil-2-tioxo-2,3-dihidro-1H-pirimidin-4-ona, (1,44 g, 5,67 mmol) junto con ortoformiato de trietilo (15 mL) a 146 °C durante 2 h y 10 minutos. La mezcla se dejó enfriar a temperatura ambiente y después se enfrió adicionalmente en un baño de hielo, seguido por la adición de heptano (5 mL). Después de la filtración de la suspensión y el lavado con heptano (20 mL), el sólido obtenido se secó a vacío. La suspensión del sólido (1,2 g) en una mezcla caliente de 2-propanol (125 mL), agua (5 mL) y terc-butil metil éter (25 mL) proporcionó, tras el enfriamiento y la filtración, un precipitado blanco que se lavó con más terc-butil metil éter (5 mL). El sólido se secó a vacío para proporcionar el compuesto del título (0,95 g, 63%).

- 30 ¹H RMN (DMSO-d₆): δ 13,69 (s, 1H), 12,35 (s, 1H), 8,12 (s, 1H), 4,33 (d, 2H, J 7,1 Hz), 2,18 (m, 1H), 1,49-1,50 (m, 5H), 1,02-1,17 (m, 5H).

¹³C RMN (DMSO-d₆): δ 173,65, 152,68, 149,90, 141,41, 110,96, 52,97, 35,31, 30,09, 25,88, 25,32.

MS (ES) ^{m/z} 265 (M+1).

Ejemplo 2

35 3-Ciclopropilmetil-2-tioxantina

a) 6-Amino-1-ciclopropilmetil-2-tioxo-2,3-dihidro-1H-pirimidin-4-ona

- 40 A 1-ciclopropilmetil-2-tiourea (0,60 g, 4,6 mmol) en etanol (10 mL) se le añadió metóxido sódico (0,26 g, 4,8 mmol) y, tras 5 minutos, cianoacetato de etilo (0,50 mL, 4,6 mmol). La mezcla resultante se calentó a reflujo durante 2 h y 40 minutos, seguido de evaporación del disolvente a presión reducida y tratamiento del sólido amarillo resultante con ácido acético acuoso 2 M (10 mL), lo que proporcionó un sólido blanco. El sólido se recogió mediante filtración y se lavó con ácido acético acuoso 2 M (10 mL), se agitó con etanol (10 mL) seguido de evaporación, y se secó a presión reducida, lo que proporcionó el compuesto del título (0,51 g, 56%).

MS (ES) ^{m/z} 198 (M+1).

b) 3-Ciclopropilmetil-2-tioxantina

- 45 Se suspendió 6-amino-1-ciclopropilmetil-2-tioxo-2,3-dihidro-1H-pirimidin-4-ona (0,50 g, 2,5 mmol) en ácido acético (8 mL) y, después de calentar a 90 °C durante 15 minutos, se añadió nitrito sódico (0,19 g, 2,8 mmol) en agua (1 mL) a la disolución. Después de 15 minutos, se retiró el calentamiento y la mezcla de reacción se agitó a temperatura

ambiente durante 3 h. Se añadió etanol (30 mL), y los disolventes se eliminaron a presión reducida. El aceite resultante se trató con etanol (30 mL), y esto proporcionó, tras la evaporación y el secado, la 6-amino-1-ciclopropilmetil-5-nitroso-2-tioxa-2,3-dihidro-1H-pirimidin-4-ona (0,61 g) en forma de un sólido rojo-marrón.

5 El producto bruto (0,61 g) de la reacción previa se disolvió en agua (10 mL), y se añadió tetrahidrofurano (30 mL) y platino sobre carbono (0,30 g). La mezcla se sometió a hidrogenación a presión atmosférica durante 4 h, el catalizador se eliminó mediante filtración y los disolventes se eliminaron a presión reducida. La evaporación del etanol añadido (50 mL) proporcionó un sólido naranja. El residuo se disolvió en etanol (10 mL) y se añadió ortoformiato de trietilo (5 mL), y la mezcla resultante se calentó a reflujo durante la noche. La evaporación del disolvente y la purificación mediante el uso de HPLC preparativa proporcionó el compuesto deseado (38 mg, rendimiento del 6,2% a partir de 6-amino-1-ciclopropilmetil-2-tioxa-2,3-dihidro-1H-pirimidin-4-ona).

^1H RMN (DMSO- d_6): δ 13,78 (s, 1H), 12,43 (s, 1H), 8,15 (s, 1H), 4,37 (d, 2H, J 7,1 Hz), 1,50 (m, 1H), 0,52 (m, 2H), 0,45 (m, 2H).

^{13}C RMN (DMSO- d_6): δ 173,52, 152,62, 149,52, 141,48, 111,02, 51,71, 9,27, 3,50.

MS (ES) m/z 223 (M+1).

15 Ejemplo 3

3-(2-Tetrahidrofuril-metil-2-tioxantina

a) 6-Amino-1-(2-tetrahidrofuril-metil)-2-tioxa-2,3-dihidro-1H-pirimidin-4-ona

20 Se añadió 2-tetrahidrofuril-metil-tiourea (1,0 g, 6,2 mmol) y cianoacetato de etilo (0,85 g, 7,5 mmol) a una disolución de etóxido sódico [recién preparada a partir de sodio (0,16 g, 6,9 mmol) y etanol absoluto (4 mL)]. La mezcla resultante se sometió a reflujo durante 3,5 h. Después de enfriar a temperatura ambiente, el disolvente se evaporó a presión reducida, y el jarabe viscoso resultante se redisolvió en agua (30 mL). Esta disolución básica se neutralizó con ácido clorhídrico 2 M. El precipitado resultante se recogió mediante filtración y el sólido se lavó con agua. Este producto bruto (1,3 g, 90%) se usó sin purificación adicional.

25 ^1H RMN (DMSO- d_6): δ 11,9 (s, 1H), 6,79 (s, 2H), 4,91 (s, 1H), 4,62-4,65 (m, 1H), 4,21-4,31 (m, 3H), 3,81-3,87 (m, 1H), 3,63-3,68 (m, 1H), 1,77-2,01 (m, 3H), 1,57-1,65 (m, 1H).

MS (ES) m/z 228 (M+1).

b) 6-Amino-1-(2-tetrahidrofuril-metil)-5-nitroso-2-tioxa-2,3-dihidro-1H-pirimidin-4-ona

30 Se suspendió 6-amino-1-(2-tetrahidrofuril-metil)-2-tioxa-2,3-dihidro-1H-pirimidin-4-ona (1,3 g, 5,6 mmol) en ácido acético acuoso del 10% (25 mL). Se añadió nitrito sódico (0,43 g, 6,2 mmol), y esta mezcla se calentó a 75 °C durante 1 h. El sólido púrpura se recogió mediante filtración, se lavó y se secó, lo que proporcionó el producto del título (1,3 g, 90%).

^1H RMN: δ 13,3 (s ancho, 1H), 12,8 (s ancho, 1H), 8,93 (s ancho, 1H), 4,57 (s ancho, 1H), 4,45 (s ancho, 1H), 4,18-4,24 (m, 1H), 3,74-3,79 (m, 1H), 3,59-3,64 (m, 1H), 1,86-2,01 (m, 2H), 1,74-1,82 (m, 1H), 1,59-1,67 (m, 1H).

35 c) 5,6-Diamino-1-(2-tetrahidrofuril-metil)-2-tioxa-2,3-dihidro-1H-pirimidin-4-ona

40 Se disolvió 6-amino-1-(2-tetrahidrofuril-metil)-5-nitroso-2-tioxa-2,3-dihidro-1H-pirimidin-4-ona (1,3 g, 5,1 mmol) en amoníaco acuoso del 32% (15 mL) y se añadió agua (15 mL). La disolución roja se calentó a 70 °C a la vez que se añadía ditionito sódico (2,2 g, 13 mmol) en porciones pequeñas. El calentamiento continuó durante otros 15 minutos, y después la disolución amarilla se agitó a temperatura ambiente durante 1 h. La disolución se neutralizó con ácido clorhídrico 2 M. El precipitado amarillo se recogió mediante filtración, se lavó con agua, y se secó, lo que proporcionó el producto del título (0,90 g, 73%). Este material se usó en la siguiente etapa sin purificación adicional.

^1H RMN (DMSO- d_6): δ 5,96 (s, 2H), 4,74 (d ancho, 1H), 4,35 (s ancho, 1H), 4,21-4,28 (m, 1H), 3,84-3,89 (m, 1H), 3,64-3,69 (m, 1H), 3,49 (s ancho, 2H), 1,78-2,01 (m, 4H), 1,60-1,67 (1H). MS (ES) m/z 243 (M+1),

d) 3-(2-Tetrahidrofuril-metil)-2-tioxantina

45 Se disolvió 5,6-diamino-1-(2-tetrahidrofuril-metil)-2-tioxa-2,3-dihidro-1H-pirimidin-4-ona (0,25 g, 1,0 mmol) en ácido fórmico (1 mL) y se calentó a 70 °C durante 0,5 h. Tras unos cuantos minutos, se formó un sólido rosa en la disolución. El exceso de ácido fórmico se eliminó mediante evaporación, y el sólido resultante se disolvió en una disolución de hidróxido sódico del 10% (4 mL). Esta disolución se calentó a 70 °C durante 40 minutos, y después se neutralizó con ácido clorhídrico 2 M. El precipitado resultante se recogió mediante filtración, se lavó con agua y se secó, lo que proporcionó el producto puro (0,23 g, 87%).

^1H RMN (DMSO- d_6): δ 13,8 (s ancho, 1H), 12,4 (s ancho, 1H), 8,16 (s, 1H), 4,53-4,61 (m, 2H), 4,38-4,44 (m, 1H), 3,79-3,84 (m, 1H), 3,58-3,63 (m, 1H), 1,72-1,98 (m, 4H).

^{13}C RMN (DMSO- d_6): δ 173,65, 152,68, 149,90, 141,41, 110,96, 52,97, 35,31, 30,09, 25,88, 25,32.

5 MS (ES) m/z 253 (M+1).

Ejemplo 4

3-(3-(1-Morfolinil)-propil)-2-tioxantina

a) 6-Amino-1-(3-(1-morfolinil)-propil)-2-tioxo-2,3-dihidro-1H-pirimidin-4-ona

10 El compuesto del título se preparó de acuerdo con el método general del Ejemplo 3 (a), pero mediante el uso de 1-(3-(1-morfolinil)-propil)-2-tiourea (1,1 g, 5,3 mmol), lo que proporcionó el compuesto del título en forma de un sólido blanco (1,2 g, 87%).

^1H RMN (DMSO- d_6): δ 11,8 (s, 1H), 7,24 (s, 2H), 4,84 (s, 1H), 4,33 (s ancho, 2H), 3,55-3,57 (m, 4H), 2,30-2,36 (m, 6H), 1,82-1,89 (m, 2H).

MS (ES) m/z 271 (M+1).

15 c) 5,6-Diamino-1-(3-(1-morfolinil)-propil)-2-tioxo-2,3-dihidro-1H-pirimidin-4-ona

20 Se disolvió 6-amino-1-(3-(1-morfolinil)-propil)-2-tioxo-2,3-dihidro-1H-pirimidin-4-ona (0,57 g, 2,1 mmol) en ácido acético del 10% (10 mL). Se añadió nitrito sódico (0,16 g, 2,3 mmol), y la suspensión espesa se agitó a temperatura ambiente. Después de 2 h todavía quedaba mucho material de partida. Se añadió más nitrito sódico (0,32 g, 4,6 mmol), y la disolución se agitó durante la noche. El precipitado se recogió mediante filtración y se lavó con agua. Este sólido extremadamente insoluble se redujo sin análisis. El sólido se disolvió en amoníaco acuoso del 32% (6 mL), y después se añadió agua (6 mL). La disolución roja resultante se calentó a 70 °C y se añadió ditionito sódico (0,91 g, 5,2 mmol) en porciones pequeñas. Después, la disolución se agitó a 70 °C durante 1,5 h. Se añadió más ditionito sódico (0,91 g, 5,2 mmol), y la disolución se agitó a 70 °C durante otras 2,5 h. La disolución neutra se filtró para eliminar el sólido insoluble. El filtrado se concentró, y el sólido amarillo resultante se suspendió en agua. El sólido se recogió mediante filtración, se lavó con agua, y se secó para proporcionar el producto del título (0,068 g, 11%).

^1H RMN: δ 12,0 (s ancho, 1H), 6,48 (s, 2 H), 3,59 (m, 4H), 2,30-2,45 (m, 6H), 1,88-1,91 (m, 2H).

MS (ES) m/z 286 (M+1).

d) 3-(3-(1-Morfolinil)-propil)-2-tioxantina

30 Se disolvió 5,6-diamino-1-(3-(1-morfolinil)-propil)-2-tioxo-2,3-dihidro-1H-pirimidin-4-ona (0,068 g, 0,24 mmol) en ácido fórmico (0,4 mL) y se agitó a temperatura ambiente durante 1 h. El exceso de ácido fórmico se eliminó mediante evaporación, y se añadió una disolución de hidróxido sódico del 10% (1,5 mL), y la disolución amarilla se calentó a 70 °C durante 40 minutos. La disolución enfriada se neutralizó con ácido clorhídrico 2 M y se colocó en un refrigerador durante varias horas. El precipitado se recogió mediante filtración, se lavó con agua, y se secó, lo que proporcionó el compuesto del título en forma de un sólido blanquecino (0,025 g, 36%).

^1H RMN (DMSO- d_6): δ 13,7 (s ancho, 1H), 12,4 (s, 1H), 8,17 (s, 1H), 4,53 (t, 2H, J 7,5 Hz), 3,52 (m, 4H), 2,31-2,46 (m, 6H), 1,91-1,99 (m, 2H).

^{13}C RMN (DMSO- d_6): δ 173,68, 152,99, 149,82, 141,75, 111,24, 66,39, 55,70, 53,43, 46,58, 23,35.

MS (ES) m/z 296 (M+1).

40 Ejemplo 5

Enantiómeros de 3-(2-Tetrahidrofuril-metil)-2-tioxantina

Una disolución de 3-(2-tetrahidrofuril-metil)-2-tioxantina racémica (3 mg/mL) se separó mediante HPLC quiral en una columna Chiralpak AD-RH (4,6 x 150 mm; 5 μm). La fase móvil fue metanol: ácido acético: trietilamina (100:0,1:0,1) y el caudal fue de 1 mL/min. El volumen de inyección fue de 20 μL .

45 **Enantiómero 1**

e.e. 93,6%; MS (ES) m/z 253 (M+1).

Enantiómero 2

e.e. 97,3%; MS (ES) m/z 253 (M+1).

Ensayos de Cribado

- 5 Los métodos para la determinación de la actividad inhibitoria de MPO se describen en la solicitud de patente en tramitación con la presente WO 02/090575. La actividad farmacológica de los compuestos según la invención se ensayó en el siguiente ensayo de cribado:

Tampón de ensayo: Tampón de fosfato sódico/potásico 20 mM de pH 6,5 que contiene taurina 10 mM y NaCl 100 mM.

- 10 Reactivo de revelado: 3,3',5,5'-Tetrametilbencidina (TMB) 2 mM, KI 200 μ M, tampón acetato 200 mM de pH 5,4 con DMF al 20%.

- 15 A 10 μ l de compuestos diluidos en tampón de ensayo se le añadieron 40 μ l de MPO humana (concentración final 2,5 nM) durante 10 minutos a temperatura ambiente. Después se añadieron 50 μ l de H₂O₂ (concentración final 100 μ M), o tampón de ensayo solo como control, durante 10 minutos a temperatura ambiente. La reacción se detuvo mediante la adición de 10 μ l de 0,2 mg/ml de catalasa (concentración final 18 μ g/ml) durante 5 minutos antes de añadir 100 μ l de reactivo de revelado TMB (TMB 2 mM en tampón acetato 200 mM de pH 5,4 que contenía dimetilformamida del 20% (DMF) y KI 200 μ M). Las placas se mezclaron, y se midió la cantidad de 3,3',5,5'-tetrametilbencidina oxidada formada después de alrededor de 5 minutos mediante el uso de espectroscopia de absorbancia a alrededor de 650 nm. Después se determinaron los valores de CI₅₀ mediante el uso de los procedimientos habituales.

- 20 Cuando se ensayaron en el ensayo de cribado anterior, los compuestos de los Ejemplos 1 a 5 proporcionaron valores de CI₅₀ de menos de 601 μ M, lo que indica que se espera que muestren una actividad terapéutica útil. Los resultados representativos se muestran en la Tabla siguiente:

Compuesto	Inhibición de MPO (CI ₅₀ μ M)
Ejemplo 1	0,53
Ejemplo 3	0,51
Ejemplo 4	2,94

