



Industria y Comercio
SUPERINTENDENCIA

Delegatura de Propiedad Industrial
División de Nuevas Creaciones

SOLICITUD
PATENTE DE INVENCION

21. EXPEDIENTE No.

04-20066

54. TITULO

TIENO [2,3-D] PIRIMIDINAS GLICINA-SUSTITUIDAS CON ACTIVIDAD

ABONISTA LH Y FSH COMBINADAS

51. CLASIFICACION INTERNACIONAL

A61K31/505, A61P15/08

71. SOLICITANTE

AKZO NOBEL N.V.

DOMICILIO

Arnhem, República Federal de Alemania.

74. APODERADO

EMILIO FERRERO

Código No. 1092

22. BOGOTA, D.C.,

04-03-2004

SS



Industria y Comercio
SUPERINTENDENCIA

PETITORIO



04 020066 00

SUPERINDUSTRIA Y COMERCIO

Radicación : 04020066 00000000

Folios 1/4

Fecha (GND): 2004-03-04 17:06:10

ción

Trámite : 011 PCT-PATENT 3/9 FASE NACI 411 PRESEMIAC

Dependencia: 2020 DIVISION DE NUEVAS CREACIONES

FORMULARIO UNICO DE SOLICITUD DE PATENTE PCT ENTRADA EN FASE NACIONAL

SOLICITUD DE:

1

☒ Patente de Invención.
☐ Capítulo I.

☐ Patente de Modelo de Utilidad.
☒ Capítulo II.

2

SOLICITANTE
(71)

Nombre: **AKZO NOBEL N.V.**
sociedad constituida y existente bajo las
leyes de Holanda.
Dirección: **Velperweg 76,**
8824 BM Arnhem,
Holanda
Domicilio: **Arnhem,**
Holanda

IDENTIFICACIÓN

C.C. ☐ NIT ☐C.E. ☐ Otro ☐

Cual _____

Número _____

3

REPRESENTANTE
O APODERADO

Nombre: **EMILIO FERRERO**
Dirección: **Carrera 4ª. No. 72-35**
Teléfono: **347 36 11**
Fax: **217 92 11**
E-mail: **clientes@camyp.com.**
Domicilio: **Bogotá, Colombia.**

IDENTIFICACIÓN

C.C. ☒ NIT ☐C.E. ☐ Otro ☐

Cual _____

Número **438.019** T.P **31.929**

4

INVENTOR (ES)
(72)

1. **Robert, Gerardus, Jules, Marie,**
HANSEN
N.V. Organon, P.O. Box 20,
5340 BH Oss,
Holanda
3. **Jan, KELDER**
N.V. Organon, P.O. Box 20,
5340 BH Oss,
Holanda

2. **Cornelis, Marius, TIMMERS**
N.V. Organon, P.O. Box 20,
5340 BH Oss,
Holanda

5

PCT (86)

Solicitud Internacional No. **PCT/EP02/09648**Fecha: **29 de Agosto de 2002**Publicación Internacional No. **WO 03/020727 A1**Fecha : **13 de Marzo de 2003**

6

Título (54)

TIENO [2.3-D] PYRIMIDINAS GLICINA-SUSTITUIDAS CON ACTIVIDAD
AGONISTA LH Y FSH COMBINADAS

7

Clasificación Internacional (51)

C07D 495/004, A61K 31/505, A61P 15/08

8

Prioridad

SI ☒ NO ☐

(33) País de Origen

EP

(32) Fecha

4 de Septiembre de 2001

(31) Número de Solicitud

01203328.8

9

Comprobante de pago No.: 04 - 16,319

Fecha: 1 de Marzo de 2004

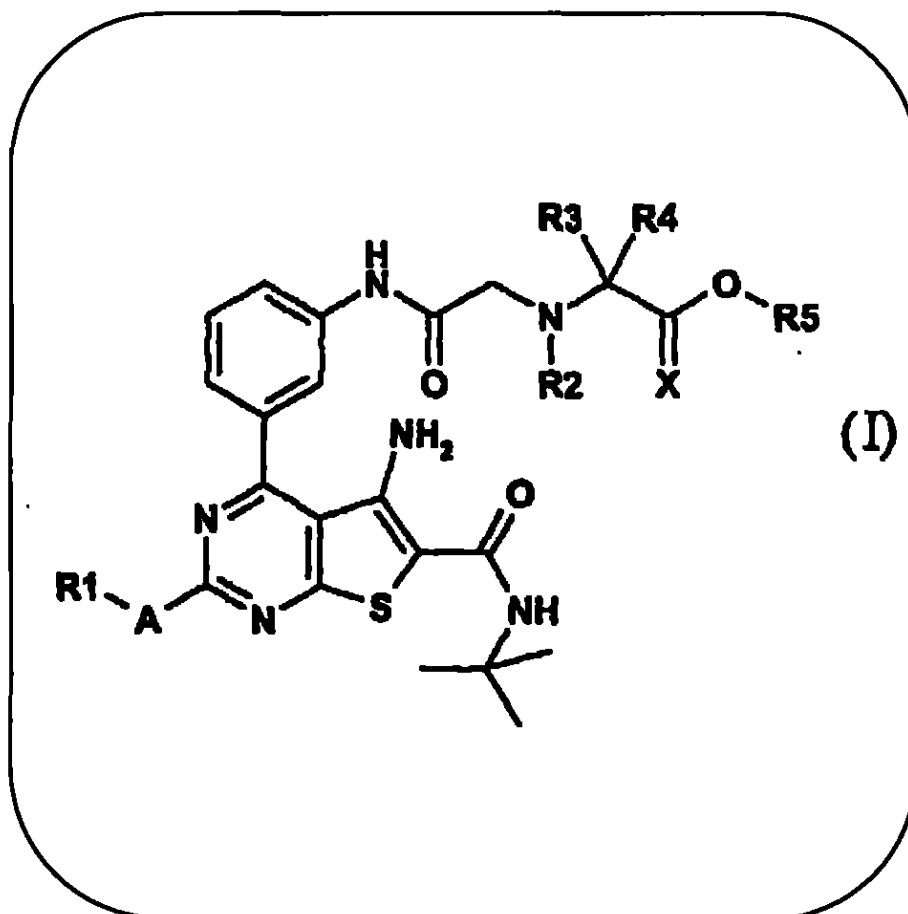
10

Anexos:

- ☒ Comprobante de pago de la tasa de presentación de la solicitud por \$ 422.000.00.
- ☐ Comprobante de pago por reivindicación de prioridad.
- ☒ Documento que acredita la existencia y representación legal cuando el solicitante sea persona jurídica.
- ☒ Poderes, si fuere el caso.
- ☒ Documento de cesión del inventor al solicitante o a su causante.
- ☐ Declaraciones.
- ☒ Copia de la solicitud internacional. (Resumen, descripción, reivindicaciones, dibujos)
- ☒ Traducción de la solicitud internacional al castellano. (Resumen, descripción, reivindicaciones, dibujos)
- ☒ Copia del examen preliminar efectuado por la IPEA.
- ☒ Traducción del examen preliminar efectuado por la IPEA.
- ☐ De ser el caso, copia del contrato de acceso.
- ☐ De ser el caso, documento que acredite la licencia o autorización de uso de conocimientos tradicionales de las comunidades indígenas.
- ☐ De ser el caso, certificado de depósito del material biológico.
- ☒ Arte final 12x12
- ☐ De ser el caso, información sobre otras solicitudes de patente o títulos obtenidos en el extranjero por el mismo titular o su causante, relacionadas parcial o totalmente con la invención de esta solicitud.
- ☐ Otros

11

FIGURA CARACTERÍSTICA



12

Solicito la concesión de la patente,

NOMBRE:

EMILIO FERRERO

FIRMA:

C.C. 438.019 de Usaquén T.P. 31.929

PRP

For patents, utility models, industrial designs, trademarks, commercial names, trade emblems, slogans.

Para patentes, modelos de utilidad, diseños industriales, marcas de fábrica, nombres comerciales, enseñas, lemas comerciales.

REPRESENTACION Y PODER

REPRESENTATION AND POWER OF ATTORNEY

I (we), the undersigned / Yo (nosotros), abajo firmado (s)

AKZO NOBEL N.V.

of/domiciliado (s) en Velperweg 76, 6824

BM Arnhem, THE NETHERLANDS

por el presente nombramos a EMILIO FERRERO, tpa. 31929; GONZALO PERDOMO, tpa. 831; LUZ CLEMENCIA DE PAEZ, tpa. 23555 y GERMAN CAVELIER, tpa. 832, domiciliados en la Carrera 4ª N° 72-35, Bogotá, Colombia, en obediencia a lo dispuesto en el parágrafo 1º del Artículo 543 del Código de Comercio, el primero como principal y los demás como suplentes, en su orden, como mis (nuestros) representantes en todos los asuntos de propiedad industrial con facultad para recibir notificaciones y nombrar apoderados judiciales o extrajudiciales. El primer representante suplente reemplazará al principal en caso de ausencia o impedimento temporal o definitivo de aquél. La misma regla se aplicará cuando el segundo representante suplente haya de reemplazar al primero, o el tercero al segundo. En tales casos, el representante principal, o el primero, o segundo suplente, en su caso, o ambos, declararán su intención de no ejercer la representación mediante declaración autenticada por Notario Público en Colombia, o por Notario u otro Funcionario Público, o Cónsul de Colombia, en el extranjero; y si se tratare de impedimento, con el certificado respectivo. Si alguno de los nombrados faltare definitivamente, el siguiente tomará su lugar. Cuando cesare la ausencia o impedimento del representante principal, o de su primer o segundo suplentes, en su caso, podrán ejercer la representación, en su orden, uno u otros según el caso, asumiéndola por el solo hecho de ejercerla, cesando en ese momento el ejercicio de la representación por el primero, segundo o tercer suplente en su caso.

In due compliance with the terms of paragraph 1st. of article 543 of the Commercial Code, do hereby appoint EMILIO FERRERO, tpa. 31929; GONZALO PERDOMO, tpa. 831; LUZ CLEMENCIA DE PAEZ, tpa. 23555 and GERMAN CAVELIER, tpa. 832, domiciled at Carrera 4ª N° 72-35, Bogotá, Colombia, the first as principal and the others as alternates, in the order of their appointment, as our representatives for all industrial property matters with faculty to receive notifications and to appoint attorneys in and out of Court. The first alternate shall replace the principal in case of his absence or of temporal or definitive impediment. The same rule will apply when the second alternate representative is to replace the first one, or when the third is to replace the first or second alternates in their turn, or both of them, second. In such cases, the principal representative, or the first or second alternates in their turn, or both of them, shall state their intention not to act as representatives through a declaration given before a Notary Public in Colombia, or before a Notary or another Public Official or a Colombian Consul abroad; and in case of impediment, the appropriate certificate shall suffice. If any of the appointees were to be definitely absent, the following alternate shall take his place. When the absence or impediment of the principal representative, or of the first or second alternate in their turn ceases, the representation can be taken again in their sequence, by the principal, the first or second alternate depending on case, and the mere fact of its exercise will suffice. The exercise of the representation by the first, second or third alternates in their turn shall end at such time.

Además, confiero (conferimos) poder a los abogados arriba nombrados, para obtener la protección de mi (nuestra) propiedad industrial y contra la competencia desleal, a cuyo efecto autorizo (amos) a los dichos apoderados para que me (nos) representen ante cualesquiera entidades o personas, ejerzan o no jurisdicción, especialmente ante las del orden administrativo, contencioso-administrativo y judicial, así como los tribunales de arbitramento, en todo lo concerniente a los siguientes asuntos: a) Obtención de patentes de invención, modelos de utilidad, y diseños industriales; el registro de marcas de fábrica, colectivas, defensivas, de servicio, lemas comerciales, nombres comerciales, enseñas, variedades vegetales y denominaciones de origen; su renovación, traspaso, cambio de nombre o domicilio, cancelación voluntaria; y el registro de licencias de uso de esos derechos; b) Las acciones de competencia desleal, protección del consumidor, oposiciones u observaciones, cancelación administrativa y judicial, nulidad, medidas cautelares, concesión de licencias, la tutela, la protección de secretos industriales, y en general los juicios civiles, penales, administrativos o contencioso-administrativos relacionados con estos derechos; acciones y procesos que promovamos o se nos promuevan. Y para que en todos los asuntos arriba determinados, puedan sustituir este mandato, transigir, conciliar, admitir los hechos del proceso, desistir, cancelar, recibir, renunciar, y ratificar los actos de agentes oficiosos.

In addition, we grant a Power of Attorney in favor of the above-named attorneys-at-law so that they may obtain the protection of my (our) industrial property and against the unfair competition, for which purpose I (we) authorize the said attorneys to represent me (us) before any authorities or persons, with or without jurisdiction, specially those administrative, administrative contentious and judicial, as well as before Arbitration Courts. In all matters concerning the following: a) Obtainment of patents of invention, utility models, industrial designs; the registration of trademarks, collective, defensive and service marks, slogans, commercial names, trade emblems, vegetal varieties and denominations of origin; its renewal, assignment, change of name or domicile, voluntary cancellation; and the registration of licenses of use of the above rights; b) Actions of unfair competition, protection to the consumer, oppositions or observations, administrative or Court, cancellation, nullity, infringement, precautionary measures, the action for writ mandamus, the protection of trade secrets, and in general the civil, penal, administrative or contentious-administrative actions and suits instituted by me (us) or against me (us). And that in all the above matters they may substitute this Power of Attorney, compromise, conciliate, admit the facts of the case, desist, cancel, receive, resign, and ratify acts done by representatives without a power of attorney.

Given and signed this Day and Month and Year 6 AUG 1998

F.G.M. Hermans

In/en Director Patents Pharma

Signature

E.H. Reerink

Deputy Director
Legal Affairs

AKZO NOBEL N.V.

CAVELIER ABOGADOS
WPPODERE-179 (MINUTA N° 12.1.1.2.5)

TRADUCCION No. 18.11/98
MARIA ELVIRA MARTELLO
Traductora e Intérprete Oficial
Inglés - Español - Inglés
Res. No. 28/9 Min. Justicia

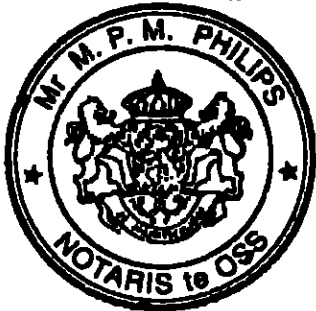
LEGALIZACION

El Señor Cónsul de Colombia debe expedir un certificado consular sobre (1) la existencia legal de la compañía que otorga el poder, (2) que ésta ejerce su objeto social, y (3) que las personas que otorgan el poder están autorizadas para darlo. A este efecto les solicitamos que muestren al Señor Cónsul las pruebas que acreditan esos hechos (1), (2) y (3).

LEGALIZATION

The Colombia Consul must issue a certificate, on (1) the legal existence of the company, (2) that it is in accordance with its company purposes, and (3) that the persons who execute the Power of Attorney is authorized to do so. To this effect, please show the Consul the evidence to prove the above facts (1), (2) and (3).

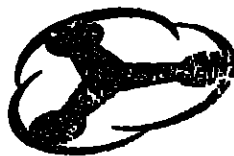
Seen for legalization of the signatures of Mr. F.G.M. Hermans and Mr. E.H. Reerink by me, Mr. Martinus Petrus Maria Philips, notary public at Oss, the Netherlands, on this 26th day of August 1998.



[Handwritten signature of Mr. Martinus Petrus Maria Philips]

15499

TRADUCCION No. 18.11/98
MARIA ELVIRA MARTELLO
Traductora e interprete Oficial
Inglés - Español - Inglés
Res. No. 2879 Min. Justicia



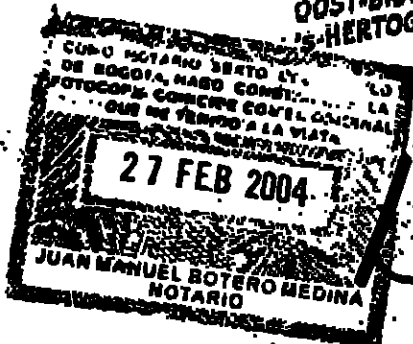
CHAMBER OF COMMERCE AND INDUSTRY
FOR OOST-BRABANT (NETHERLAND)

EXCLUSIVE PLACE FOR LEGALIZATION OF
THE ABOVE MENTIONED SIGNATURE(S)

27 AUG 1998

KAMER VAN KOOPHANDEL
OOST-BRABANT
HERTOGENBOSCH

J. Schellekens



Gezien voor legalisatie van de handtekening
van dhr/mw Schellekens

's-Gravenhage, 09 SEP 1998



De Minister van
Buitenlandse Zaken
voor deze,

Leges f 20,- H.M. van POORTEN

NOTA PARA EL SEÑOR CONSUL DE COLOMBIA: Según los artículos 65 del C. de P.C. y 480 del C. de Co., si el poderdante es una sociedad, el Señor Cónsul debe certificar que tuvo a la vista las pruebas de su existencia, que ejerce su objeto social y que quien confiere el poder es su representante.



CONSULADO DE COLOMBIA

C.O.D. 112 11-301-001-3

4

El suscrito. Cónsul de Colombia en La Haya, Holanda,
vistos los documentos presentados por los interesados,

CERTIFICA:

Que el Señor **Martinus Petrus Maria PHILIPS**, quien como Notario Público de Oss, Países Bajos, autenticó las firmas de los signatarios del poder precedente, ejercía en la fecha las funciones indicadas, y su firma corresponde a la registrada en este Consulado.

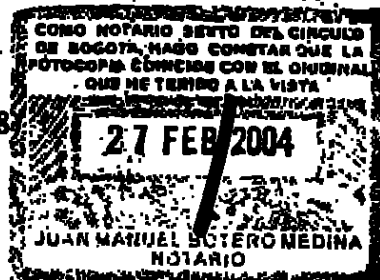
Que la Compañía **AKZO NOBEL N.V.** es una Sociedad constituida de acuerdo con las leyes de los Países Bajos, cumple su objeto conforme a las mismas y se halla registrada en la Cámara de Comercio y Fábricas de Centraal Gelderland, Arnhem, bajo el número 09007809;

Que los Señores **Franciscus Guilielmus Maria HERMANS** y **Engbert Harmen REERINK**, signatarios del presente documento, quienes en su carácter de Apoderados de la Empresa **AKZO NOBEL N.V.**, conjuntamente tienen facultad para ello, y cuyas firmas fueron autenticadas ante el Notario Público de Oss, Señor **Martinus Petrus Maria PHILIPS**, son los representantes legales de la citada Empresa en este País.

El Cónsul de Colombia en La Haya, Países Bajos, no asume responsabilidad alguna por el contenido del documento.

Esta certificación se expide en La Haya, Países Bajos, a los seis (06) días del mes de Noviembre de mil novecientos noventa y ocho (1998).

Impuesto de Timbre	US\$	6.00.
Derechos Consulares	US\$.	100.00
Costo Total Pagado	US\$.	106.00



Certificación No. 206

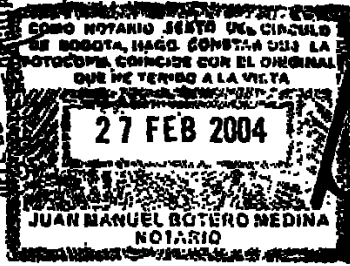
JOSE IGNACIO VILLEGAS CORTES
CONSUL DE COLOMBIA
LA HAYA

TRADUCCION No. 18.11/98
MARIA ELVIRA MARTELO C.
Traductora e Interprete Oficial C.
Inglés - Español - Inglés C.
Res. No. 2879 Min. Justicia

NO SE ASUME
RESPONSABILIDAD DEL TEXTO

98 NOV 19 11:56

JEFE DE LEGALIZACIONES
SECRETARIA DE GOBIERNO



MINISTERIO DE RELACIONES
EXTERIORES

300803

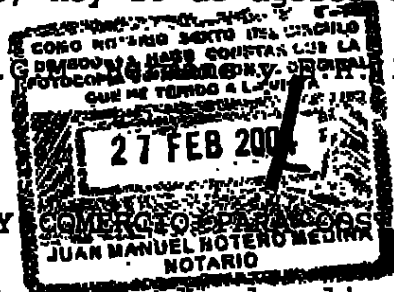
CUYA FIRMA APARECE EN EL
DOCUMENTO DESEMPENA
LAS FUNCIONES INDICADAS

5

TRADUCCIÓN FICIAL No. 18.11/98 preparada por María Elvira Martelo, Traductora Oficial debidamente aprobada por el Ministerio de Justicia de Colombia por Resolución 2879 de 1995 y reconocida por el Ministerio de Relaciones Exteriores.

(A continuación se traducen los sellos y legalizaciones de un documento escrito en inglés y español, por el cual AKZO NOBEL N.V. otorga poder a EMILIO FERRERO, GONZALO PERDOMO, LUZ CLEMENCIA DE PAEZ Y GERMAN CAVELIER). Dado y firmado el 6 de agosto de 1998. (Firma ilegible) F.G.M. Hermans, Director de Patentes Farmacéuticas. (Firma ilegible) E.H. Reerink, Subdirector de Asuntos Jurídicos. (Sello Corporativo) AKZO NOBEL N.V.

(Al dorso) Visto por mí, Sr. Martinus Petrus Maria Philips, notario público en Oss, Países Bajos, hoy 26 de agosto de 1998, para legalización de las firmas de F.G.M. Hermans y E.H. Reerink. (Firma ilegible).



(Legalización) CAMARA DE INDUSTRIA Y COMERCIO DE LA PROVINCIA DE BRABANT (PAÍSES BAJOS). Visto exclusivamente para la legalización de la(s) firma(s) que antecede(n). Agosto 27 de 1998. (Firma ilegible) J. Schellenkens.

(Sello en holandés).

(En español) Certificación de las firmas que anteceden y de la existencia legal de AKZO NOBEL N.V. expedida por el Consulado de Colombia en La Haya el día 6 de noviembre de 1998, bajo el No.

206. Firmado JOSE IGNACIO VILLEGAS CORTES, Cónsul de Colombia, La Haya. Pagado impuesto de timbre.

(Al dorso) Legalización de la firma que antecede expedida por el MINISTERIO DE RELACIONES EXTERIORES bajo el No. 300803 del 19 de NOVIEMBRE de 1998, firmado por el Jefe de Legalizaciones.

Es traducción fiel y completa de la cual se deja copia en esta oficina para su confrontación.

COLO 11214-801-001-3

Id. 6

Nov. 20/98

Maria E. Martelo
TRADUCCION No. 18.11.98
MARIA ELVIRA MARTELO
Traductora e interprete Oficial
Inglés - Español - Inglés
Res. No. 2879 Min. Justicia

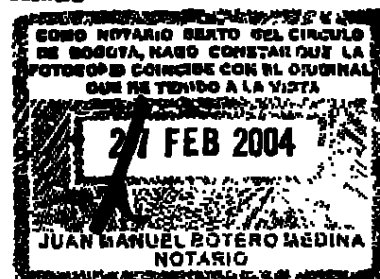
COMO NOTARIO SEXTO DEL CIRCULO DE SANTAFE DE BOGOTA, HAGO CONSTAR QUE LA(S) ANTERIOR(ES) FIRMAS) FUE(RO)N POR

[Firma]

IDENTIFICADOS CON C.C. No.(s)

ES(SON) AUTENTICA(S)

SANTAFE DE BOGOTA, 23 NOV. 1998



198457
Maria Martelo
CUNA FIRMA APARECE EN EL DOCUMENTO DESEMPENA LAS FUNCIONES INDICADAS

MINISTERIO DE RELACIONES EXTERIORES

NO SE ASUME RESPONSABILIDAD DEL TEXTO
98 NOV 24 PM 12:06
JEFE DE LEGALIZACIONES
SANTAFE DE BOGOTA D.C.

WM
7

CAVELIER

ABOGADOS
EDIFICIO SISKI
CARRERA 4a N° 7235
BOGOTÁ, COLOMBIA

374

2001.668 CO

CESSION

ASSIGNMENT

Yo, (nosotros) abajo firmado (s)

I (we), the undersigned

HANSSEN
Robert, Gerardus, Jules, Marie

TIMMERS
Cornells, Marius

KELDER
Jan

domiciliado(s) en

of

N.V. Organon
PO.Box 20
5340 BH Oss
The Netherlands

N.V. Organon
PO.Box 20
5340 BH Oss
The Netherlands

N.V. Organon.
PO.Box 20
5340 BH Oss
The Netherlands

declaro(amos) bajo juramento ser el/los(s) y verdadero(s) inventor(es) de la
invención:

(state) under oath to be sole and true inventor(s) of the invention:

"Glycine-substituted thieno[2,3-d]pyrimidines with combined LH and FSH agonistic activity"

declaro(amos) así mismo que cede(amos) y transFero(amos), sin
limitación, a favor de la sociedad

state as well, that assign, without reservations or limitations in favour of

- Akzo Nobel N.V.

constituida y existente de conformidad con las leyes de

a corporation constituted and existing in conformity with the laws of

domiciliada en

Velperweg 76
6824 BM Arnhem
The Netherlands

domiciled in

Todos los derechos inherentes a dicha invención y que la citada compañía queda
facultada para solicitar en su nombre la patente de invención correspondiente en
la República de Colombia.

all rights inherent to said invention and that the above mentioned company hereby
is enabled to apply, in its name, for the corresponding patent invention, to the
Republic of Colombia

Dado y firmado hoy/ Given and signed this

19th of January, 2004
en/ in

Firma

Signature

HANSSEN
Robert, Gerardus, Jules, Marie

TIMMERS
Cornells, Marius

KELDER
Jan

AUTENTICACION NOTARIAL (INDIVIDUO)

A los _____ días del mes de _____ de
200_____ ante mí, Notario Público de _____
compareció(ron) personalmente _____

a quien(es) doy fe de conocer y me consta que es(son) la(s) persona(s)
firmante(s) del documento que precede, y quien(es) tiene(n) capacidad
legal para otorgarlo.

NOTARIAL AUTHENTICATION (INDIVIDUAL)

On this _____ day of _____, 200_____
before me, a Notary Public of _____
personally appeared _____

to me known, and known to me to be the person(s) who executed that
foregoing document, and who has (have) legal capacity to execute it.

Notario Público / Notary Public

APOSTILLE

(Convention de La Haye du 5 octobre 1961)

1. Country: _____
This public document
2. has been signed by _____
3. acting in the capacity of _____
4. bears the seal/stamp of _____

Certified

5. at _____ 6. the _____
7. by _____
8. No. _____
9. Seal/stamp 10. Signature

Seen by me, mr. Robbert Alexander Gallas, civil-law notary practising in The Hague, for the authentication of the signatures on the attached document of:

- Mr Robert Gerard Jules Marie Hanssen, born on the thirtieth of April nineteenhundred sixty in Maastricht, The Netherlands, residing at Bernheze, The Netherlands, holder of a Dutch passport, number NB9304370;
- Mr Cornelis Marius Timmers, born on the nineteenth of May nineteenhundred seventy in Katwijk, The Netherlands, residing at Oss, The Netherlands, holder of a Dutch drivers licence, number 3168595091; and
- Mr Jan Kelder, born on the seventeenth of March nineteenhundred forty-four in Hilversum, The Netherlands, residing at Oss, The Netherlands, holder of a Dutch passport, number N68809634,

The Hague, the twenty-ninth day of January twothousandfour.



All instructions are carried out on the basis of an agreement as meant in Section 400 of Book 7 of the Dutch Civil Code by Pels Rijcken & Droogleevers Fortuijn, a partnership consisting of private companies with limited liability. This agreement is subject to terms of business registered with the District Court at The Hague. A limitation of liability is included in these terms of business. The terms of business will be provided on request. These can also be accessed at www.prd.nl.

10

TRADUCCIÓN OFICIAL No. 03.02/04 preparada por María Elvira Martelo, traductora oficial aprobada por el Ministerio de Justicia mediante Resolución No. 2879 de 1995 y reconocida por el Ministerio de Relaciones Exteriores.

A continuación se traducen los sellos y legalizaciones de un documento de Cesión por el cual HANSSEN Robert, Gerardus, Jules, Marie, TIMMERS Cornelis, Marius y KELDER Jan, domiciliados en N.V. Organon, P.O. Box 20, 5340 BH Oss, Países Bajos, inventores del invento "tieno[2,3-d] Pirimidinas sustituidas con glicina con actividad agonística combinada LH y FSH, transfieren dicho invento a favor de AKZO NOBEL N.V., sociedad domiciliada en Velperweg 76, 6824 BM Arnhem, Países Bajos.

HANSSEN
Robert, Gerardus, Jules, Marie
(Firmado)

TIMMERS
Cornelis, Marius
(Firmado)

KELDER
Jan
(Firmado)

Visto por mí, Sr. Robbert Alexander Gallas, notario civil de La Haya, para la autenticación de las firmas que aparecen en el documento adjunto de:

- Sr. Robert, Gerardus, Jules, Marie Hanssen, nacido el 30 de abril de 1960 en Maastricht, Países Bajos, residente en Bernheze, Países Bajos, identificado con pasaporte holandés número NB9304370.
- Sr. Cornelis, Marius Timmers, nacido el 19 de mayo de 1970 en Katwijk, Países Bajos, residente en Oss, Países Bajos, identificado con licencia de conducción holandesa número 3168595091, y

- JA
- Jan Kelder, nacido el 17 de marzo de 1944 en Hilversum, Países Bajos, residente en Oss, Países Bajos, identificado con pasaporte holandés número N68809634.

La Haya, 29 de enero de 2004. (Firma ilegible. (Sello notarial del Sr. R. A. GALLAS).

APOSTILLA

(Convención de La Haya del 5 de octubre de 1961)

1. . País: PAÍSES BAJOS

El presente documento público

2. ha sido firmado por R.A. Gallas

3. actuando en su capacidad de Notario de 's-Gravenhage

4. lleva el sello/timbre de dicho notario

CERTIFICADO

5. En 's-Gravenhage 6. el 2 de febrero de 2004

7. por el Registrador de la corte (rechtbank)

8. No. 2004-358 ✓

9. Sello / timbre (sello en holandés)

10. Firma (firma ilegible), J. Heesterman

Es traducción fiel y completa de la cual se deja copia en esta oficina para su confrontación.

COLO 11214-841-005-6

WPC 11214 ID 284

FEB 7/04

Maria E. Martelo
TRADUCCION No: 0302/04
MARIA ELVIRA MARTELO
Traductora e Interprete Oficial
Inglés - Español - Inglés
Res. No. 2879 Min. Justicia

JOE RELACIONES
ERIDRES

Armas Amador

U11033

CUYA FIRMA APARECE EN EL
BOLETO DE DESAMPARO
PASADO EN ESTOS

NO SE ASUME
RESPONSABILIDAD DEL TEXTO

2004 FEB 09 1:45

JEFE DE AGILIZACIONES
SANTAFE DE BOGOTA D.C.

COMO NOTARIO SEXTO DEL CIRCULO DE SANTAFE DE BOGOTA, HAGO CONSTAR QUE LA(S) FIRMA(S)
[Firma]
COINCIDE(N) CON LA FIRMA REGISTRADA POR
EL(LOS) EN ESTA NOTARIA
SANTAFE DE BOGOTA, 09 FEB 2004



(19) World Intellectual Property Organization
International Bureau



INTERNATIONAL BUREAU OF PATENT COOPERATION
3, rue de la Harpe, CH-1015, Yvertois, Suisse
P.O. Box 68, CH-1015, Yvertois, Suisse
Tél. 022 733 1911, Fax 022 733 1910
E-mail: wipo@wipo.int

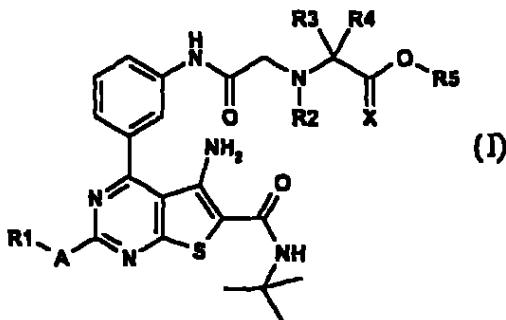
(43) International Publication Date
13 March 2003 (13.03.2003)

PCT

(10) International Publication Number
WO 03/020727 A1

- (51) International Patent Classification²: C07D 495/04, A61K 31/505, A61P 15/08 (74) Agent: P.M.G.F. VAN WEZENBEEK; P.O.BOX 20, NL-5340 BH Oss (NL).
- (21) International Application Number: PCT/EP02/09648 (81) Designated States (*national*): AE, AG, AL, AU, BA, BB, BR, BZ, CA, CN, CO, CR, CU, DM, DZ, EC, GE, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KP, KR, LC, LK, LR, LT, LV, MA, MG, MK, MN, MX, MZ, NO, NZ, PH, PL, RO, RU, SG, SI, TT, UA, US, UZ, VN, YU, ZA.
- (22) International Filing Date: 29 August 2002 (29.08.2002)
- (25) Filing Language: English
- (26) Publication Language: English
- (30) Priority Data: 01203328.8 4 September 2001 (04.09.2001) EP
- (71) Applicant (*for all designated States except US*): AKZO NOBEL N.V. [NL/NL]; Velperweg 76, NL-6824 BM Arnhem (NL).
- (72) Inventors; and (75) Inventors/Applicants (*for US only*): HANSSEN, Robert, Gerard, Jules, Marie [NL/NL]; NV ORGANON, P.O.Box 20, NL-5340 BH Oss (NL). TIMMERS, Cornelis, Marius [NL/NL]; NV ORGANON, P.O. Box 20, NL-5340 BH Oss (NL). KELDER, Jan [NL/NL]; NV ORGANON, P.O.BOX 20, NL-5340 BH OSS (NL).
- Published:
— with international search report
- For two-letter codes and other abbreviations, refer to the "Guidance Notes on Codes and Abbreviations" appearing at the beginning of each regular issue of the PCT Gazette.*

(54) Title: GLYCINE-SUBSTITUTED THIENO [2,3-d]PYRIMIDINES WITH COMBINED LH AND FSH AGONISTIC ACTIVITY



(57) Abstract: The present invention resides in glycine substituted thieno[2,3-d]pyrimidine derivatives according to general Formula I, (I) or a pharmaceutically acceptable salt thereof, wherein X is O or H, H A is S, NH, N(R⁶), O or a bond; R¹ is (1-4C)alkyl, (2-4C)alkenyl, phenyl or (2-5C)heteroaryl, the phenyl or heteroaryl ring optionally being substituted with one or more of the group of substituents: hydroxy, halogen, nitro, trifluoromethyl, cyano, amino or (1-4C)(di)alkylamino and R² is H, (1-4C)alkyl, (1-4C)alkoxy(2-4C)alkyl or hydroxy(2-4C)alkyl; R³ and R⁴ can be independently selected from H and hydroxy (1-4C)alkyl; R⁵ is H or (1-4C)alkyl. R⁶ can be selected from the same groups as described for R¹. The compounds of the invention have LH as well as FSH receptor activating activity and can be used in fertility regulating therapies.

WO 03/020727 A1

**Glycine-substituted thieno[2,3-d]pyrimidines with combined
LH and FSH agonistic activity**

5 The invention relates to compounds having glycoprotein hormone agonistic activity, in particular to compounds having both Luteinizing Hormone (LH) and Follicle Stimulating Hormone (FSH) agonistic activity. The invention furthermore relates to pharmaceutical compositions containing the same as well as to the use of these compounds in medical therapy, particularly for use as a control of fertility.

10

 Gonadotropins serve important functions in a variety of bodily functions including metabolism, temperature regulation and the reproductive process. The hypophyseal gonadotropins FSH and LH for example play a pivotal role in the stimulation of follicle development and maturation whereas LH is involved in induction of the ovulatory process (Sharp, R.M. Clin. Endocrinol 33:787-807, 1990; Dorrington and Armstrong, Recent Prog. Horm. Res 35: 301-342, 1979; Levy et al, Human Reproduction 15:2258-2265, 2000).

15 Currently, LH is applied clinically, in combination with FSH, for ovarian stimulation i.e. ovarian hyperstimulation for *in vitro* fertilisation (IVF) and induction of ovulation in infertile anovulatory women (Insler, V., Int. J. Fertility 33:85-97, 1988, Navot and Rosenwaks, J. Vitro Fert. Embryo Transfer 5:3-13, 1988), as well as for male hypogonadism and male infertility.

25 Gonadotropins act on specific gonadal cell types to initiate ovarian and testicular differentiation and steroidogenesis. The actions of these pituitary and placental hormones are mediated by specific plasma membrane receptors that are members of the large family of G-protein coupled receptors. They consist of a single polypeptide with seven transmembrane domains and are able to interact with the Gs protein, leading to the activation of adenyl cyclase.

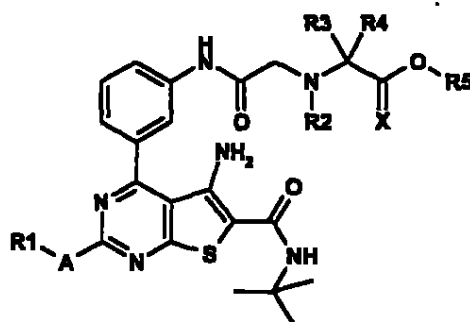
30 Gonadotropins destined for therapeutic purposes can be isolated from human urine sources and are of low purity (Morse et al, Amer. J. Reproduct. Immunol. and Microbiology 17:143, 1988). Alternatively, they can be prepared as recombinant gonadotropins. In addition to these proteins, gonadotropin receptors can be activated or

deactivated by synthetic low molecular weight compounds. Bicyclic heteroaromatic compounds have been described in WO 00/61586. By *in vitro* and *in vivo* experiments they are shown to be useful as LH agonists.

In normal females the release of pituitary LH and FSH is characterized by a mid-cycle surge which precedes the ovulation. Ovulation is characterized by three distinct physiological phenomena *i.e.* oocyte maturation, follicular rupture and luteinization. While the role of the LH-surge in the *in vivo* induction of these phenomena is undisputed, the role of the FSH-surge is less clear. However, it has been shown recently that FSH induces oocyte maturation *in vitro* by inducing cumulus cells to produce a factor that positively overcomes hypoxanthine induced meiotic arrest (Lu et al, Mol. Cell. Endocrinol. 164:191-196, 2000). This factor is thought to be a meiosis activating sterol (MAS).

The present invention provides low molecular weight compounds that show LH activity. In addition to LH activity unexpectedly they also have FSH activity. In general these compounds are thieno[2,3-d]pyrimidines which at the 4-position of the pyrimidine ring are substituted by a phenyl group which in turn is substituted at the meta position. This substituent comprises a three-atom spacer (NH-C(O)-CH₂), which is further functionalized with a substituted amino group. Generally the compounds have FSH agonistic activity in varying degrees but typically less than the LH agonistic activity.

The present invention resides in glycine substituted thieno[2,3-d]pyrimidine derivatives according to general formula I,



(Formula I)

or a pharmaceutically acceptable salt thereof, wherein

X is O or H,H

A is S, NH, N(R⁶), O or a bond;

R¹ is (1-4C)alkyl, (2-4C)alkenyl, phenyl or (2-5C)heteroaryl, the phenyl or heteroaryl ring optionally being substituted with one or more of the group of substituents: hydroxy, halogen, nitro, trifluoromethyl, cyano, amino or (1-4C)(di)alkylamino and

R² is H, (1-4C)alkyl, (1-4C)alkoxy(2-4C)alkyl or hydroxy(2-4C)alkyl;

R³ and R⁴ can be independently selected from H, (1-4C)alkyl and hydroxy(1-4C)alkyl;

R⁵ is H or (1-4C)alkyl.

R⁶ can be selected from the same groups as described for R¹.

10

The term (1-4C)alkyl as used in the definition of formula I means a branched or unbranched alkyl group having 1-4 carbon atoms, being methyl, ethyl, n-propyl, isopropyl, n-butyl, sec-butyl or tert-butyl.

15 The term (2-4C)alkenyl as used in the definition of formula I means a branched or unbranched alkenyl group having 2-4 carbon atoms, being vinyl, 1-propenyl, 2-propenyl, 1-methyl-vinyl, 1-butenyl, 2-butenyl, 3-butenyl, 2-methyl-1-propenyl, 2-methyl-2-propenyl, 1-methyl-1-propenyl, 1-ethyl-vinyl.

20 The term (1-4C)alkoxy(1-4C)alkyl means an alkyl group having 1-4 carbon atoms, attached via an oxygen atom to another alkyl group having 1-4 carbon atoms, the alkyl moieties having the same meaning as previously defined.

The term (1-4C)alkoxy(2-4C)alkyl means an alkyl group having 1-4 carbon atoms, attached via an oxygen atom to another alkyl group having 2-4 carbon atoms, the alkyl moieties having the same meaning as previously defined.

25 The term hydroxy(1-4C)alkyl means an hydroxyl group attached to an alkyl group having 1-4 carbon atoms, the alkyl moiety having the same meaning as previously defined.

The term hydroxy(2-4C)alkyl means an hydroxyl group attached to an alkyl group having 2-4 carbon atoms, the alkyl moiety having the same meaning as previously defined.

30 The term (1-4C)(di)alkylamino means one or two alkyl groups having 1-4 carbon atoms as previously defined, attached to a nitrogen atom.

The term (2-5C)heteroaryl means an, optionally substituted, aromatic group having 2-5 carbon atoms, at least including one heteroatom selected from N, O and/or S, like imidazolyl, thienyl, furyl or pyridyl.

The term halogen means fluorine, chlorine, bromine or iodine.

5

It has been shown that compounds of the above mentioned formula I show agonistic LH and FSH activity. In an *in vitro* bioassay using CHO cells stably transfected with the human LH or FSH receptor, respectively, the EC_{50} with regard to the LH receptor was found to be less than $5 \cdot 10^{-8}$ M whereas with regard to the FSH receptor the EC_{50} was less
10 than 10^{-5} M. Typically the FSH activity ranges from an activity of about 1% of the LH agonist stimulation to about 10% of the LH agonist stimulation.

The invention further resides in a pharmaceutical composition comprising a thieno[2,3-d]pyrimidine derivative compound or salts thereof having the general
15 formula I.

Thus, the compounds according to the invention can be used in therapy. A further aspect of the invention resides in the use of a thieno[2,3-d]pyrimidine compound having the general formula I for the manufacture of a medicament for the control of fertility, more preferably induction of ovulation. The present compounds are used to activate
20 both the LH and FSH receptors. The compound of the present invention can be used therefore in a method to treat females with fertility problems.

The thieno[2,3-d]pyrimidine compounds of this invention may possess one or more chiral carbon atoms. The compounds may therefore be obtained as chirally pure
25 compounds or as a mixture of diastereomers and/or enantiomers. Methods for obtaining the chirally pure compounds are well known in the art, e.g. crystallization or chromatography.

For therapeutic use, salts of the compounds of formula I are those wherein the counterion is pharmaceutically acceptable. However, acid addition salts of bases
30 according to formula I, may also find use, for example, in the preparation or purification of a pharmaceutically acceptable compound. All salts, whether pharmaceutically acceptable or not, are included within the ambit of the present invention.

Examples of acid addition salts include those derived from mineral acids such as hydrochloric acid, phosphoric acid, sulphuric acid, preferably hydrochloric acid, and organic acids like citric acid, tartaric acid, acetic acid, lactic acid, maleic acid, malonic acid, fumaric acid, glycolic acid, succinic acid, and the like.

5

Suitable administration routes for the compounds of formula I or pharmaceutically acceptable salts thereof, also referred to herein as the active ingredient are intramuscular injections, subcutaneous injections, intravenous injections or intraperitoneal injections, oral and intranasal administration. Preferably, the compounds may be administered orally. The exact dose and regimen of administration of the active ingredient, or a pharmaceutical composition thereof, will necessarily be dependent upon the therapeutic effect to be achieved (treatment of infertility; contraception), and may vary with the particular compound, the route of administration, and the age and condition of the individual subject to whom the medicament is to be administered.

15 In general, parenteral administration requires lower dosages than other methods of administration which are more dependent upon adsorption. However, a dosage for humans preferably contains 0.0001-25 mg per kg body weight. The desired dose may be presented as one dose or as multiple subdoses administered at appropriate intervals throughout the day. In case of female recipients, doses may be administered at appropriate daily intervals throughout the menstrual cycle for follicular support or as a single dose for ovulation induction. The dosage as well as the regimen of administration may differ between a female and a male recipient.

20 In case of *in vitro* or *ex vivo* applications, like in IVF applications, the compounds of the inventions are to be used in the incubation media in a concentration of approximately 0.01-5 µg/ml.

The present invention thus also relates to pharmaceutical compositions comprising a thieno[2,3-d]pyrimidine compound according to formula I in admixture with pharmaceutically acceptable auxiliaries, and optionally other therapeutic agents. The auxiliaries must be "acceptable" in the sense of being compatible with the other ingredients of the composition and not deleterious to the recipients thereof.

30 Pharmaceutical compositions include those suitable for oral, rectal nasal, topical (including transdermal, buccal and sublingual), vaginal or parenteral (including

subcutaneous, intramuscular, intravenous and intradermal) administration. The compositions may be prepared by any method well known in the art of pharmacy, for example, using methods such as those described in Gennaro *et al.*, Remington's Pharmaceutical Sciences (18th ed., Mack Publishing company, 1990, see especially Part 5 8: *Pharmaceutical Preparations and Their Manufacture*).

Such methods include the step of bringing in association the active ingredient with any auxiliary agent. The auxiliary agent(s), also named accessory ingredients, include those conventional in the art (Gennaro, *supra*), such as, fillers, binders, diluents, disintegrants, lubricants, colorants, flavoring agents and wetting agents.

10 Pharmaceutical compositions suitable for oral administration may be presented as discrete dosage units such as pills, tablets or capsules, or as a powder or granules, or as a solution or suspension. The active ingredient may also be presented as a bolus or paste. The compositions can further be processed into a suppository or enema for rectal administration.

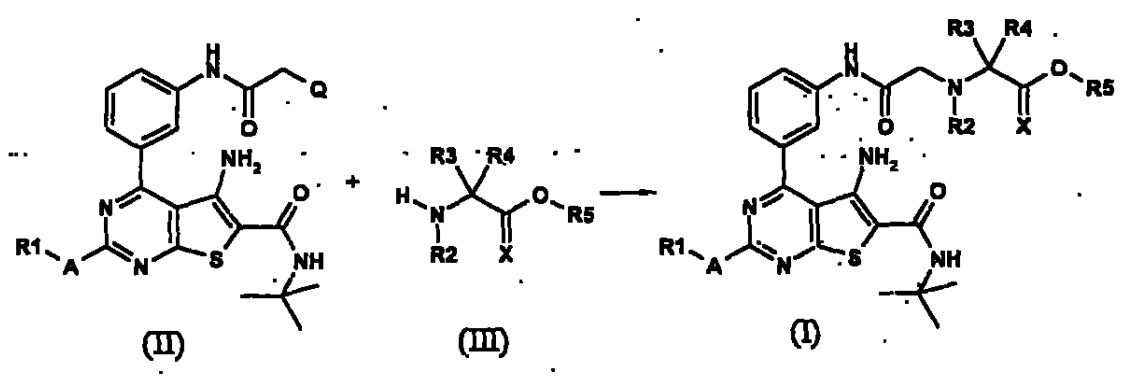
15 For parenteral administration, suitable compositions include aqueous and non-aqueous sterile injection. The compositions may be presented in unit-dose or multi-dose containers, for example sealed vials and ampoules, and may be stored in a freeze-dried (lyophilised) condition requiring only the addition of sterile liquid carrier, for example, water prior to use.

20 Compositions, or formulations, suitable for administration by nasal inhalation include fine dusts or mists which may be generated by means of metered dose pressurized aerosols, nebulisers or insufflators.

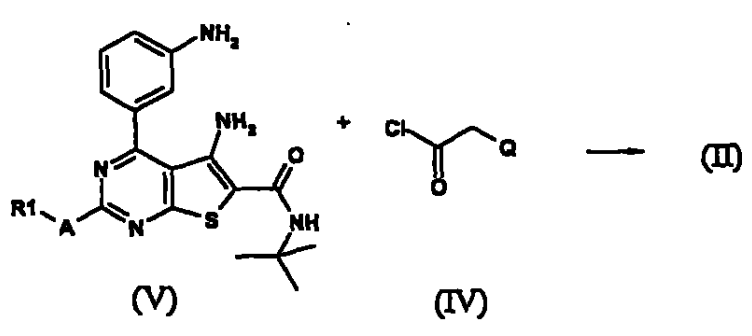
25 The thieno[2,3-d]pyrimidine compounds of the invention can also be administered in the form of implantable pharmaceutical devices, consisting of a core of active material, encased by a release rate-regulating membrane. Such implants are to be applied subcutaneously or locally, and will release the active ingredient at an approximately constant rate over relatively large periods of time, for instance from weeks to years. Methods for the preparation of implantable pharmaceutical devices as 30 such are known in the art, for example as described in European Patent 0,303,306 (AKZO N.V.).

Thus, the compounds according to the present invention can be used for the same clinical purposes as the native LH, with the advantage that they possess FSH activity, display altered stability properties and can be administered differently.

The compounds of the present invention, represented by formula (I) can generally be prepared by nucleophilic substitution of compounds of general formula (II) wherein Q = Cl or Br with amines of general formula (III) in an appropriate solvent such as N,N-dimethylformamide or THF at room temperature in the presence of a tertiary base such as N,N-diisopropylethylamine. Many amines of general formula (III) are commercially available.

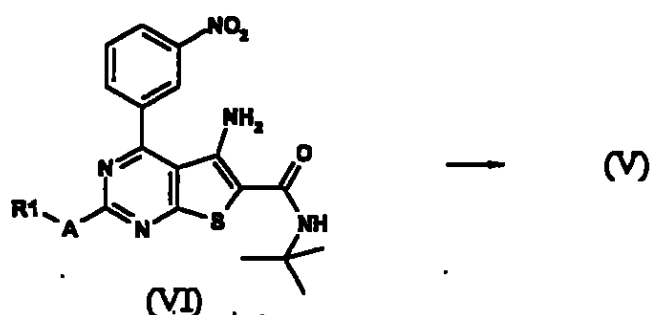


Derivatives of formula (II) wherein Q = Cl or Br can be prepared by regioselective acylation of meta aniline derivatives of formula (V-a) with acyl chlorides of type (IV), wherein Q = Cl or Br in the presence of a tertiary base such as N,N-diisopropylethylamine in a suitable solvent such as dichloromethane or THF.



Compounds of formula (V) are accessible by art-known reduction of the nitro function in derivatives of formula (VI), using an appropriate reducing agent such as hydrogen in the presence of a metal (Pd/Pt) catalyst. Related reductions have been described in: P.M. Carabateas, P.R. Brundage, K.O. Gelotte, M.D. Gruett, R.R. Lorenz, J. Heterocycl. Chem. 21, 1849 (1984). Alternatively, the reduction can be effected with

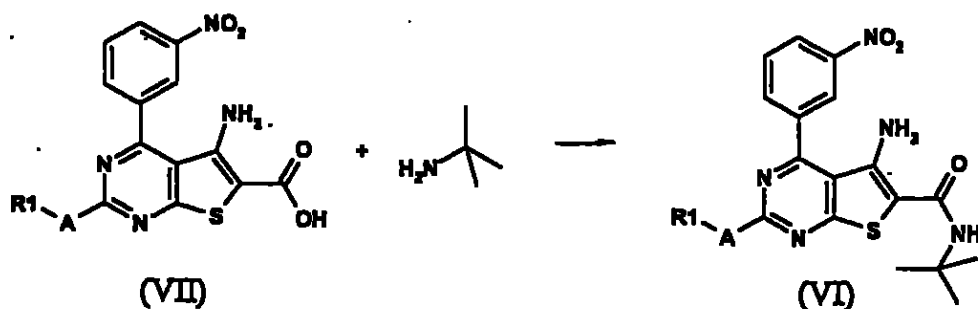
tin(II) chloride in a protic solvent such as ethanol in the presence of hydrochloric acid at elevated temperature (J. Heilbron, J. Chem. Soc, 1279 (1940)).



5

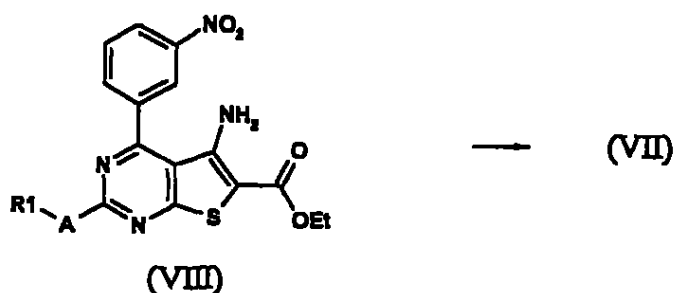
Thienopyrimidines of general formula (VI) are accessible by condensation of carboxylic acids (VII) with tert-butyl amine under the influence of a coupling agent such as *O*-(benzotriazol-1-yl)-*N,N,N',N'*-tetramethyluronium tetrafluoroborate (TBTU) or bromotripyrrolidinophosphonium hexafluorophosphate (PyBrOP) and a tertiary base, e.g. *N,N*-diisopropylethylamine.

10

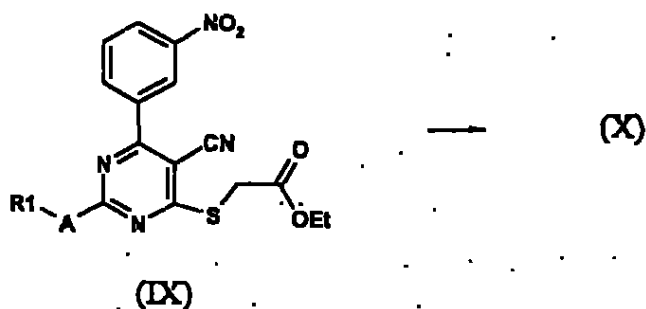


15

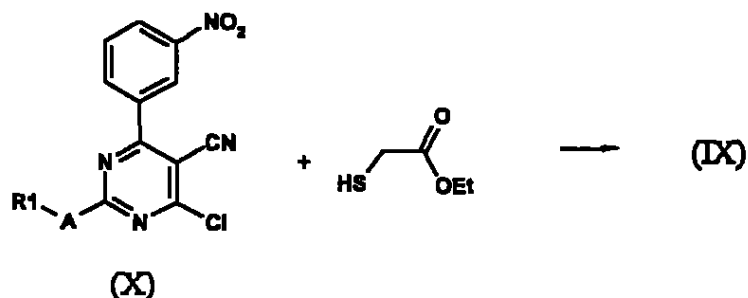
Saponification of the corresponding ethyl esters (VIII) to carboxylic acids (VII) takes place in the presence of a base such as lithium hydroxide, potassium hydroxide or sodium hydroxide in aqueous dioxane at elevated temperature (80 °C to reflux).



Bicyclic systems of general formula (VIII) are formed by substitution of chlorides of formula (X) with ethyl mercaptoacetate under the agency of *N,N*-diisopropylethylamine, followed by base-catalyzed ring-closure of the intermediate thioethers (IX). This type of thieno[2,3-*d*]pyrimidine ring formations has been described in: S.A. Abdel-Hady, M.A. Badawy, Y.A. Ibrahim, Sulfur Lett. 9, 101 (1989) and S. Tumkevicius, Liebigs Ann., 1703 (1995).



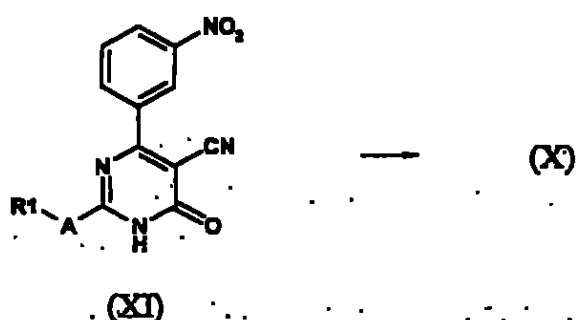
Suitable conditions for the cyclization reaction are sodium ethoxide in ethanol or *N,N*-diisopropylethylamine in toluene/ethanol (1/1, v/v) at reflux temperature.



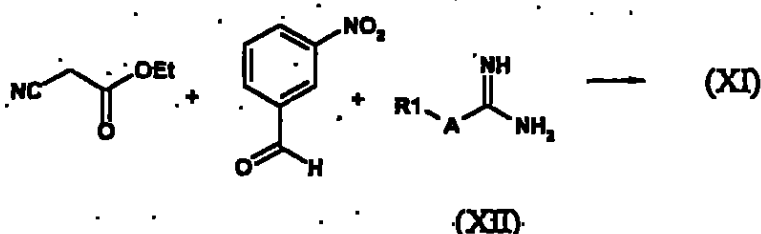
Compounds of formula (X) can be synthesized following literature procedures as described for example by A.A. Santilli, D.H. Kim and S.V. Wanser, J. Heterocycl. Chem. 8, 445, 1971. In a typical experiment, an amide of general structure (XI) is

treated with POCl₃ at elevated temperature (80 °C to reflux). The addition of an appropriate solvent, e.g. dioxane, and/or the addition of either PCl₅ or *N,N*-dimethylaniline to the reaction mixture may result in shorter reaction times and higher yields of chlorides (X).

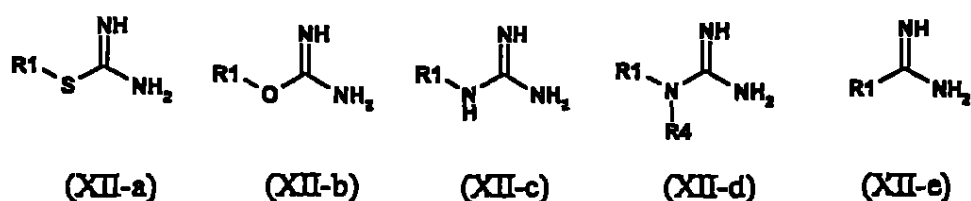
5



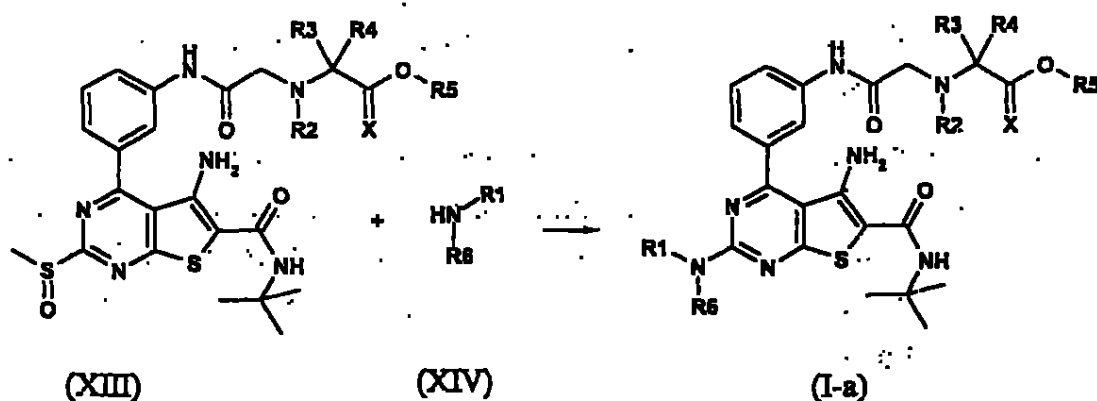
A general route towards lactams of formula (XI) comprises condensation of ethyl cyanoacetate with 3-nitro-benzaldehyde and compounds (XII), which may be isothiurea (XII-a); isourea (XII-b), monosubstituted guanidines (XII-c), disubstituted
10 guanidines (XII-d) or amidines (XII-e).



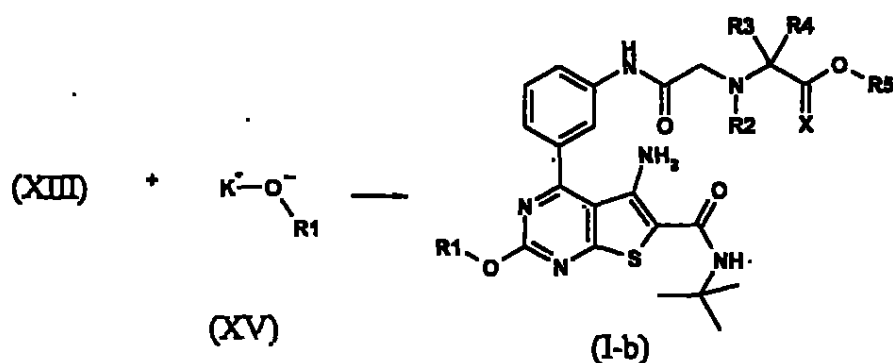
In a typical experiment, ethyl cyanoacetate, 3-nitrobenzaldehyde and derivative (XII) are suspended in an appropriate solvent, e.g. ethanol, methanol, *N,N*-dimethylformamide, *N*-methylpyrrolidinone, tetrahydrofuran or pyridine and a base such
15 as potassium carbonate, sodium acetate, sodium methoxide or sodium ethoxide is added. Reaction takes place at elevated temperature (70 °C to reflux). After filtration, residues are taken up in water and acidified (pH 2) after which products (XI) precipitate (S. Kambe, K. Saito and H. Kishi, *Synthesis*, 287 (1979); A.M. Abd-Elfattah, S.M. Hussain
20 and A.M. El-Reedy, *Tetrahedron* 39, 3197 (1983); S.M. Hussain, A.A. El-Barbary and S.A. Mansour, *J. Heterocycl. Chem.* 22, 169 (1985)).



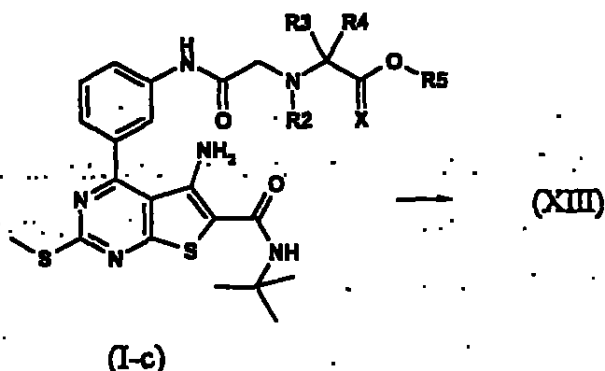
Alternatively, the compounds of the present invention wherein A = N, represented by formula (I-a), can be prepared from sulfoxide derivatives of general formula (XIII) via nucleophilic substitution with amine nucleophiles of general structure (XIV). The reaction is typically conducted at elevated temperature in the presence of a tertiary base such as N,N-diisopropylethylamine in an appropriate solvent such as 1,4-dioxane.



Similarly, compounds of the present invention wherein A = O, represented by formula (I-b), can be prepared from sulfoxide derivatives of general formula (XIII) via nucleophilic substitution with alkoxide nucleophiles of general structure (XV). The reaction is carried out in the presence of potassium tert-butoxide with an excess of alcohol R¹-OH.



The sulfoxide derivatives of general formula (XIII) are accessible by oxidation of compounds of general formula (I), wherein $R^1 = \text{Me}$ and $A = \text{S}$, represented by formula (I-c). The oxidation is effected by 3-chloroperbenzoic acid in trifluoroacetic acid. The acidic nature of the solvent prevents oxidation of the 5-amino group to the corresponding 5-nitroso derivative.



Methods to determine receptor binding as well as *in vitro* and *in vivo* assays to determine biological activity of gonadotropins are well known. In general, expressed receptor is contacted with the compound to be tested and binding or stimulation or inhibition of a functional response is measured.

To measure a functional response isolated DNA encoding the LH or the FSH receptor gene, preferably the human receptor, is expressed in suitable host cells. Such a cell might be the Chinese Hamster Ovary cell, but other cells are also suitable. Preferably the cells are of mammalian origin (Jia et al, Mol.Endocrin., 5:759-776, 1991).

Methods to construct recombinant LH or FSH expressing cell lines are well known in the art (Sambrook et al., Molecular Cloning: a Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, latest edition). Expression of receptor is attained by expression of the DNA encoding the desired protein. Techniques for site directed mutagenesis, ligation of additional sequences, PCR, and construction of suitable expression systems are all, by now, well known in the art. Portions or all of the DNA encoding the desired protein can be constructed synthetically using standard solid phase techniques, preferably to include restriction sites for ease of ligation. Suitable control elements for transcription and translation of the included coding sequence can be provided to the DNA coding sequences. As is well known, expression systems are now

available which are compatible with a wide variety of hosts, including prokaryotic hosts such as bacteria and eukaryotic hosts such as yeast, plant cells, insect cells, mammalian cells, avian cells and the like.

Cells expressing the receptor are then contacted with the test compound to observe binding, or stimulation or inhibition of a functional response.

Alternatively isolated cell membranes containing the expressed receptor may be used to measure binding of compound.

For measurement of binding radioactively or fluorescently labeled compounds may be used. As reference compound human recombinant LH or FSH can be used. In the alternative also competition binding assays can be performed.

Another assay involves screening for LH or FSH receptor agonist compounds by determining stimulation of receptor mediated cAMP accumulation. Thus, such a method involves expression of the receptor on the cell surface of a host cell and exposing the cell to the test compound. The amount of cAMP is then measured. The level of cAMP will be reduced or increased, depending on the inhibitory or stimulating effect of the test compound upon binding to the receptor.

In addition to direct measurement of e.g. cAMP levels in the exposed cell, cells can be used which in addition to transfection with receptor encoding DNA are also transfected with a second DNA encoding a reporter gene the expression of which responds to the level of cAMP. Such reporter genes might be cAMP inducible or might be constructed in such a way that they are connected to novel cAMP responsive elements. In general, reporter gene expression might be controlled by any response element reacting to changing levels of cAMP. Suitable reporter genes are e.g. LacZ, alkaline phosphatase, firefly luciferase and green fluorescence protein. The principles of such transactivation assays are well known in the art and are described e.g. in Stratowa, Ch, Himmler, A and Czernilofsky, A.P. (1995) *Curr.Opin.Biotechnol.*6:574.

For selecting active compounds on the LH or FSH receptor, testing at 10^{-5} M must result in an activity of more than 20% of the maximal activity when LH or FSH is used as a reference. Another criterion might be the EC_{50} value, which must be $< 10^{-5}$ M, preferably $< 10^{-7}$ M.

The skilled artisan will recognize that desirable EC_{50} values are dependent on the compound tested. For example, a compound with an EC_{50} which is less than 10^{-5} M is generally, considered a candidate for drug selection. Preferably this value is lower than

10⁻⁷ M. However, a compound which has a higher EC₅₀, but is selective for the particular receptor, may be even a better candidate.

Screening for LH receptor agonistic compounds can also be performed by using a mouse Leydig cell bioassay (Van Damme, M., Robersen, D. and Diczfalusy, E. (1974).
5 Acta Endocrinol. 77: 655-671 Mannaerts, B., Kloosterboer, H. and Schuurs, A. (1987). Neuroendocrinology of reproduction. R. Rolland et al. Eds., Elsevier Science Publishers B.V., 49-58). In this assay, stimulation of LH receptor mediated testosterone production can be measured in Leydig cells isolated from male mice.

FSH agonistic activity of compounds can also be determined in an *ex vivo* model
10 using cultured mouse follicles according to Nayudu, P. and Osborn, S. (1992, J. Reproduction and Fertility 95:349-362). Therefore, mouse ovarian follicles are isolated and cultured in the presence of FSH agonistic compounds to induce follicular growth. Measurements of follicular diameter and estradiol in the culture medium are indicative for follicular growth.

15 To measure LH *in vivo* activity of compounds, ovulation induction in immature mice can be studied. In this assay immature female mice are primed with urinary FSH and approximately 48 hours later treated with a LH agonistic compound. The animals are killed after LH agonist treatment and the number of ova in the oviduct is microscopically assessed.

20 To measure FSH *in vivo* activity of compounds immature female rats are treated at 0, 8, 24 and 32 hours with a FSH agonistic compound to induce follicular growth. At 52 hours after the start of the experiment the animals are injected with hCG to induce ovulation. The animals are killed 72 hours after the start of the experiment and the number of ova in the oviduct is microscopically assessed. In addition ovarian weight is
25 determined.

The compounds of the present invention can be applied clinically in those regimens where now LH or hCG is used. These include LH substitution among subjects with hypogonadal hypogonadism either male or female, midcycle administration to induce ovulation (ovulation induction (OI) or controlled hyperstimulation (COH) or stimulation
30 of the corpus luteum.

The following examples are illustrative for the invention and should in no way be interpreted as limiting the scope of the invention.

EXAMPLES

Example 1

tert-Butyl 5-amino-2-methylthio-4-(3-((N-methyl-N-(2-hydroxyethyl)-glyciny)-amino)-phenyl)-thieno[2,3-d]pyrimidine-6-carboxamide

(a). 5-Cyano-4-(3-nitrophenyl)-2-methylthio-6-hydroxy-pyrimidine

A mixture of S-methylisothiourrea sulfate (69.0 g), 3-nitrobenzaldehyde (75.0 g), ethyl cyanoacetate (56.0 ml) and potassium carbonate (72.5 g) in abs. EtOH (1500 ml) was stirred at 60°C for 16 h. The reaction mixture was cooled to 0°C in an ice bath. The resulting precipitate was filtered off, washed with abs. EtOH and dissolved in hot water (100°C). The solution was cooled to room temperature, acidified with 2N HCl to pH 2 and cooled to 0°C in an ice bath. The resulting precipitate was filtered off and washed with ice water. Residual water in the precipitate was removed by coevaporation with 1,4-dioxane.

Yield: 54.0 g.

MS-ESI: $[M+H]^+ = 289.0$

TLC: $R_f = 0.3$, silica gel, DCM/MeOH = 9/1 (v/v).

(b). 6-Chloro-5-cyano-4-(3-nitrophenyl)-2-methylthio-pyrimidine

POCl₃ (100 ml) was added to a stirred solution of 5-cyano-4-(3-nitrophenyl)-2-methylthio-6-hydroxy-pyrimidine (example 1(a), 25.0 g) in dry 1,4-dioxane (300 ml). After 3 h at 90°C, the mixture was cooled to room temperature and concentrated under reduced pressure. The residue was dissolved in 1,4-dioxane (100 ml) and the resulting solution was cooled to 0°C. Ice water was cautiously added. The resulting precipitate was filtered off and washed with water. Residual water in the precipitate was removed by coevaporation with 1,4-dioxane.

Yield: 26.0 g.

MS-ESI: $[M+H]^+ = 307.0$

TLC: $R_f = 0.5$, silica gel, heptane/EtOAc = 3/2 (v/v).

(c). Ethyl 5-cyano-4-(3-nitrophenyl)-2-methylthio-6-(ethoxycarbonylmethylthio)-pyrimidine

DIPEA (15.7 ml) was added to a stirred solution of ethyl 2-mercaptoacetate (9.3 ml) and
5 6-chloro-5-cyano-4-(3-nitrophenyl)-2-methylthio-pyrimidine (example 1(b), 26.0 g) in a
mixture of EtOH (250 ml) and DCM (250 ml). After 1 h at room temperature, 0.1N aq.
HCl (500 ml) was added to the mixture which was then extracted with DCM (3 x 500
ml), dried (MgSO₄) and concentrated under reduced pressure.

Yield: 28.0 g

10 MS-ESI: [M+H]⁺ = 391.4

TLC: R_f = 0.5, silica gel, heptane/EtOAc = 3/2 (v/v).

(d). Ethyl 5-amino-4-(3-nitrophenyl)-2-methylthio-thieno[2,3-d]pyrimidine-6-carboxylate

15 A mixture of ethyl 5-cyano-4-(3-nitrophenyl)-2-methylthio-6-(ethoxycarbonylmethylthio)-pyrimidine (example 1(c), 28.0 g) and DIPEA (30 ml) in a
mixture of toluene (150 ml) and EtOH (150 ml) was stirred at reflux temperature
(100°C) for 16 h. The mixture was then cooled to room temperature and concentrated
under reduced pressure. Residual DIPEA was removed by coevaporation with toluene.

20 Yield: 28.0 g

MS-ESI: [M+H]⁺ = 391.4

TLC: R_f = 0.6, silica gel, heptane/EtOAc = 3/2 (v/v).

(e). Ethyl 5-amino-4-(3-aminophenyl)-2-methylthio-thieno[2,3-d]pyrimidine-6-carboxylate

25 EtOH (400 ml) was added to a mixture of ethyl 5-amino-4-(3-nitrophenyl)-2-methylthio-thieno[2,3-d]pyrimidine-6-carboxylate (example 1(d), 28.0 g), concentrated
aq. HCl (15 ml) and tin (II) chloride (41.0 g) in 1,4-dioxane (400 ml). The mixture was
stirred at 90°C for 16 h. The mixture was then cooled to room temperature and
30 concentrated under reduced pressure. The residue was suspended in EtOAc (1000 ml).

4N aq. NaOH was added to obtain a pH of 10-11. The mixture was vigorously stirred and the organic layer was separated, dried (MgSO₄) and concentrated under reduced pressure.

Yield: 21.0 g

5 MS-ESI: [M+H]⁺ = 361.0

TLC: R_f = 0.6, silica gel, heptane/EtOAc = 3/2 (v/v).

(f). 5-Amino-4-(3-aminophenyl)-2-methylthio-thieno[2,3-d]pyrimidine-6-carboxylic acid

10 Potassium hydroxide (32.4 g) was added to a solution of ethyl 5-amino-4-(3-aminophenyl)-2-methylthio-thieno[2,3-d]pyrimidine-6-carboxylate (example 1(e), 21.0 g) in a mixture of 1,4-dioxane (300 ml) and water (100 ml). After 16 h at 90°C, the mixture was cooled to 10°C and 2N aq. citric acid (300 ml) was added under vigorous stirring. The resulting precipitate was filtered off, washed with water (180 ml) and dried
15 *in vacuo*.

Yield: 14.0 g

MS-ESI: [M+H]⁺ = 333.0

TLC: R_f = 0.5, silica gel, DCM/MeOH = 9/1 (v/v).

20 (g). *tert*-Butyl 5-amino-4-(3-aminophenyl)-2-methylthio-thieno[2,3-d]pyrimidine-6-carboxamide

TBTU (16.1 g) was added to a solution of 5-amino-4-(3-aminophenyl)-2-methylthio-thieno[2,3-d]pyrimidine-6-carboxylic acid (example 1(f), 14.0 g), DIPEA (17.4 ml) and *tert*-butylamine (7.3 g) in DCM/DMF (1/1, v/v, 250 ml). After 3 h at room temperature,
25 the mixture was diluted with DCM (50 ml), washed with sat. aq. NaHCO₃ (3 x 100 ml), 0.1 N aq. HCl (100 ml) and water (100 ml). The organic layer was concentrated under reduced pressure. The crude product was purified by crystallisation from warm abs. EtOH (300 ml).

Yield: 10.5 g

30 MS-ESI: [M+H]⁺ = 388.2

HPLC: R_t = 30.72 min, Luna C-18(2), 5 μ m, 250 x 2.0 mm, detection UV = 210 nm, oven temperature = 40°C, flow = 0.25 ml/min., eluent water/ACN/MeOH = 90/9.5/0.5 to 0/95/5, run time = 50 min.

5 (h). *tert*-Butyl 5-amino-2-methylthio-4-(3-(2-bromoacetamido)-phenyl)-thieno[2,3-*d*]pyrimidine-6-carboxamide

Bromoacetyl chloride (615 mg) was added to a solution of *tert*-butyl 5-amino-2-methylthio-4-(3-aminophenyl)-thieno[2,3-*d*]pyrimidine-6-carboxamide (example 1(g), 1.08 g) and DIPEA (2.43 ml) in dry DCM (20 ml). After 3 h at room temperature, the
10 mixture was diluted with DCM, washed with sat. aq. NaHCO_3 , dried (MgSO_4) and concentrated under reduced pressure. The crude product was purified by chromatography on silica gel using heptane/EtOAc = 3/2 (v/v) as eluent.

Yield: 910 mg

MS-ESI: $[\text{M}+\text{H}]^+ = 510.2$

15 TLC: R_f = 0.3, silica gel, heptane/EtOAc = 3/2 (v/v).

(i). *tert*-Butyl 5-amino-2-methylthio-4-(3-((*N*-methyl-*N*-(2-hydroxyethyl)-glyciny)-amino)-phenyl)-thieno[2,3-*d*]pyrimidine-6-carboxamide

N-methyl-2-amino-ethanol (250 mg) was added to a solution of *tert*-butyl 5-amino-4-(3-(2-bromoacetamido)-phenyl)-2-methylthio-thieno[2,3-*d*]pyrimidine-6-carboxamide
20 (example 1(h), 250 mg) in DCM (5 ml). After 16 h at room temperature, the mixture was diluted with DCM (50 ml), washed with sat. aq. NaHCO_3 , dried (MgSO_4) and concentrated under reduced pressure. The crude product was purified by HPLC using a Luna C-18 column with the following gradient: 0.1% aq. TFA + 10% aq. ACN/ACN =
25 90/10 to 10/90 (v/v) in 30 min. The title compound was then lyophilized from a mixture of 1,4-dioxane, 0.1% aq. TFA and water.

Yield: 112 mg (TFA-salt)

MS-ESI: $[\text{M}+\text{H}]^+ = 503.2$

HPLC: R_t = 11.45 min, column Luna C-18(2), 3 μ m, 100 x 2.0 mm, detection UV = 210 nm, oven temperature = 40°C, flow = 0.25 ml/min, eluent phosphate buffer 50 mM pH 2.1/water/ACN = 10/80/10 to 10/10/80 (v/v/v), run time = 20 min.

5 **Example 2**

tert-Butyl 5-amino-2-methylthio-4-(3-((N-(1-hydroxy-2-methyl-prop-2-yl)-glyciny)-amino)-phenyl)-thieno[2,3-*d*]pyrimidine-6-carboxamide

2-amino-2-methyl-propanol (250 mg) was added to a solution of *tert*-butyl 5-amino-4-(3-(2-bromoacetamido)-phenyl)-2-methylthio-thieno[2,3-*d*]pyrimidine-6-carboxamide (example 1(h), 250 mg) in DCM (5 ml). After 16 h at room temperature, the mixture was diluted with DCM (50 ml), washed with sat. aq. NaHCO₃, dried (MgSO₄) and concentrated under reduced pressure. The crude product was purified by HPLC using a Luna C-18 column with the following gradient: 0.1% aq. TFA + 10% aq. ACN/ACN = 90/10 to 10/90 (v/v) in 30 min. The title compound was then lyophilized from a mixture of 1,4-dioxane, 0.1% aq. TFA and water.

Yield: 67 mg (TFA-salt)

MS-ESI: [M+H]⁺ = 517.2

HPLC: R_t = 12.67 min, column Luna C-18(2), 3 μ m, 100 x 2.0 mm, detection UV = 210 nm, oven temperature = 40°C, flow = 0.25 ml/min, eluent phosphate buffer 50 mM pH 2.1/water/ACN = 10/80/10 to 10/10/80 (v/v/v), run time = 20 min.

Example 3

tert-Butyl 5-amino-2-methylthio-4-(3-((N-(methoxycarbonylmethyl)-glyciny)-amino)-phenyl)-thieno[2,3-*d*]pyrimidine-6-carboxamide

Glycine methyl ester hydrochloride (200 mg) was added to a solution of *tert*-butyl 5-amino-4-(3-(2-bromoacetamido)-phenyl)-2-methylthio-thieno[2,3-*d*]pyrimidine-6-carboxamide (example 1(h), 250 mg) and N,N-diisopropylethylamine (0.20 ml) in DCM (5 ml). After 16 h at room temperature, the mixture was diluted with DCM (50 ml),

washed with sat. aq. NaHCO₃, dried (MgSO₄) and concentrated under reduced pressure. The crude product was purified by HPLC using a Luna C-18 column with the following gradient: 0.1% aq. TFA + 10% aq. ACN/ACN = 90/10 to 10/90 (v/v) in 30 min. The title compound was then lyophilized from a mixture of 1,4-dioxane, 0.1% aq. TFA and
5 water.

Yield: 133 mg (TFA-salt)

MS-ESI: [M+H]⁺ = 517.2

HPLC: R_t = 11.87 min, column Luna C-18(2), 3 μm, 100 x 2.0 mm, detection UV = 210 nm, oven temperature = 40°C, flow = 0.25 ml/min, eluent phosphate buffer 50 mM pH
10 2.1/water/ACN = 10/80/10 to 10/10/80 (v/v/v), run time = 20 min.

Example 4

tert-Butyl 5-amino-2-methylthio-4-(3-((N-ethyl-N-(2-methoxyethyl)-glyciny)-amino)-phenyl)-thieno[2,3-*d*]pyrimidine-6-carboxamide

15 N-(2-methoxyethyl)-ethylamine (266 mg) was added to a solution of *tert*-butyl 5-amino-4-(3-(2-bromoacetamido)-phenyl)-2-methylthio-thieno[2,3-*d*]pyrimidine-6-carboxamide (example 1(h), 200 mg) in DCM (5 ml). After 16 h at room temperature, the mixture was diluted with DCM (50 ml), washed with sat. aq. NaHCO₃, dried (MgSO₄) and concentrated under reduced pressure. The crude product was purified by HPLC using a
20 Luna C-18 column with the following gradient: 0.1% aq. TFA + 10% aq. ACN/ACN = 90/10 to 10/90 (v/v) in 30 min. The title compound was then lyophilized from a mixture of 1,4-dioxane, 0.1% aq. TFA and water.

Yield: 84 mg (TFA-salt)

MS-ESI: [M+H]⁺ = 531.2

25 HPLC: R_t = 12.62 min, column Luna C-18(2), 3 μm, 100 x 2.0 mm, detection UV = 210 nm, oven temperature = 40°C, flow = 0.25 ml/min, eluent phosphate buffer 50 mM pH 2.1/water/ACN = 10/80/10 to 10/10/80 (v/v/v), run time = 20 min.

Example 5

tert-Butyl 5-amino-2-methylthio-4-(3-((N-(*R*-1-methoxycarbonyl-2-methyl-prop-1-yl)-glyciny)-amino)-phenyl)-thieno[2,3-*d*]pyrimidine-6-carboxamide

D-Valine methyl ester hydrochloride (250 mg) was added to a solution of *tert*-butyl 5-amino-4-(3-(2-bromoacetamido)-phenyl)-2-methylthio-thieno[2,3-*d*]pyrimidine-6-carboxamide (example 1(h), 250 mg) and *N,N*-diisopropylethylamine (0.20 ml) in DCM (5 ml). After 16 h at room temperature, the mixture was diluted with DCM (50 ml), washed with sat. aq. NaHCO₃, dried (MgSO₄) and concentrated under reduced pressure. The crude product was purified by HPLC using a Luna C-18 column with the following gradient: 0.1% aq. TFA + 10% aq. ACN/ACN = 90/10 to 10/90 (v/v) in 30 min. The title compound was then lyophilized from a mixture of 1,4-dioxane, 0.1% aq. TFA and water.

Yield: 77 mg (TFA-salt)

MS-ESI: [M+H]⁺ = 559.2

HPLC: R_t = 13.22 min, column Luna C-18(2), 3 μm, 100 x 2.0 mm, detection UV = 210 nm, oven temperature = 40°C, flow = 0.25 ml/min, eluent phosphate buffer 50 mM pH 2.1/water/ACN = 10/80/10 to 10/10/80 (v/v/v), run time = 20 min.

Example 6

tert-Butyl 5-amino-2-methylthio-4-(3-((*N,N*-bis-(2-methoxyethyl)-glyciny)-amino)-phenyl)-thieno[2,3-*d*]pyrimidine-6-carboxamide

N,N-bis-(2-methoxyethyl)-amine (400 mg) was added to a solution of *tert*-butyl 5-amino-4-(3-(2-bromoacetamido)-phenyl)-2-methylthio-thieno[2,3-*d*]pyrimidine-6-carboxamide (example 1(h), 250 mg) in DCM (5 ml). After 16 h at room temperature, the mixture was diluted with DCM (50 ml), washed with sat. aq. NaHCO₃, dried (MgSO₄) and concentrated under reduced pressure. The crude product was purified by HPLC using a Luna C-18 column with the following gradient: 0.1% aq. TFA + 10% aq. ACN/ACN = 90/10 to 10/90 (v/v) in 30 min. The title compound was then lyophilized from a mixture of 1,4-dioxane, 0.1% aq. TFA and water.

Yield: 166 mg (TFA-salt)

MS-ESI: $[M+H]^+ = 561.3$

HPLC: $R_t = 13.62$ min, column Luna C-18(2), 3 μ m, 100 x 2.0 mm, detection UV = 210 nm, oven temperature = 40°C, flow = 0.25 ml/min, eluent phosphate buffer 50 mM pH 2.1/water/ACN = 10/80/10 to 10/10/80 (v/v/v), run time = 20 min.

Example 7

tert-Butyl 5-amino-2-methylthio-4-(3-((2,3-dihydroxy-prop-1-yl)-glycinyl)-amino)-phenyl)-thieno[2,3-*d*]pyrimidine-6-carboxamide

3-Amino-2-hydroxy-propanol (250 mg) was added to a solution of *tert*-butyl 5-amino-4-(3-(2-bromoacetamido)-phenyl)-2-methylthio-thieno[2,3-*d*]pyrimidine-6-carboxamide (example 1(h), 250 mg) in DCM (5 ml). After 16 h at room temperature, the mixture was diluted with DCM (50 ml), washed with sat. aq. NaHCO₃, dried (MgSO₄) and concentrated under reduced pressure. The crude product was purified by HPLC using a Luna C-18 column with the following gradient: 0.1% aq. TFA + 10% aq. ACN/ACN = 90/10 to 10/90 (v/v) in 30 min. The title compound was then lyophilized from a mixture of 1,4-dioxane, 0.1% aq. TFA and water.

Yield: 164 mg (TFA-salt)

MS-ESI: $[M+H]^+ = 519.2$

HPLC: $R_t = 12.62$ min, column Luna C-18(2), 3 μ m, 100 x 2.0 mm, detection UV = 210 nm, oven temperature = 40°C, flow = 0.25 ml/min, eluent phosphate buffer 50 mM pH 2.1/water/ACN = 10/80/10 to 10/10/80 (v/v/v), run time = 20 min.

Example 8

tert-Butyl 5-amino-2-methylthio-4-(3-((1,3-dihydroxyprop-2-yl)-glycinyl)-amino)-phenyl)-thieno[2,3-*d*]pyrimidine-6-carboxamide

2-amino-3-hydroxy propanol (250 mg) was added to a solution of *tert*-butyl 5-amino-4-(3-(2-bromoacetamido)-phenyl)-2-methylthio-thieno[2,3-*d*]pyrimidine-6-carboxamide

(example 1(h), 250 mg) in DCM (5 ml). After 16 h at room temperature, the mixture was diluted with DCM (50 ml), washed with sat. aq. NaHCO₃, dried (MgSO₄) and concentrated under reduced pressure. The crude product was purified by HPLC using a Luna C-18 column with the following gradient: 0.1% aq. TFA + 10% aq. ACN/ACN = 90/10 to 10/90 (v/v) in 30 min. The title compound was then lyophilized from a mixture of 1,4-dioxane, 0.1% aq. TFA and water.

Yield: 117 mg (TFA-salt)

MS-ESI: [M+H]⁺ = 519.2

HPLC: R_t = 12.62 min, column Luna C-18(2), 3 μm, 100 x 2.0 mm, detection UV = 210 nm, oven temperature = 40°C, flow = 0.25 ml/min, eluent phosphate buffer 50 mM pH 2.1/water/ACN = 10/80/10 to 10/10/80 (v/v/v), run time = 20 min.

Example 9

tert-Butyl 5-amino-2-phenyl-4-(3-((N-ethyl-N-(2-hydroxyethyl)-glyciny)-amino)-phenyl)-thieno[2,3-d]pyrimidine-6-carboxamide

(a). 5-Cyano-4-(3-nitrophenyl)-2-phenyl-6-hydroxy-pyrimidine

A mixture of benzamidine hydrochloride (16.4 g), 3-nitrobenzaldehyde (15.1 g), ethyl cyanoacetate (11.2 ml) and potassium carbonate (16.6 g) in abs. EtOH (250 ml) was stirred at 60°C for 8 h. The reaction mixture was cooled to 0°C in an ice bath. The resulting precipitate was filtered off, washed with abs. EtOH and heated in water (100°C) until a clear solution was obtained. The solution was cooled to 50°C, acidified to pH 2 by adding 2N aq. HCl and cooled to 0°C in an ice bath. The resulting precipitate was filtered off and washed with ice water. Residual water was removed by coevaporation with 1,4-dioxane.

Yield: 15.0 g.

MS-ESI: [M+H]⁺ = 319.2

TLC: R_f = 0.3, silica gel, DCM/MeOH = 9/1 (v/v).

(b). 6-Chloro-5-cyano-4-(3-nitrophenyl)-2-phenyl-pyrimidine

POCl₃ (50 ml) was added to a stirred solution of 5-cyano-4-(3-nitrophenyl)-2-phenyl-6-hydroxy-pyrimidine (example 9(a), 15.0 g) and dimethylaniline (0.5 ml) in dry 1,4-dioxane p.a. (200 ml). After 3 h at 90°C, the warm mixture was filtered off and the filtrate was concentrated under reduced pressure. The residue was dissolved in 1,4-dioxane and ice water was added. The resulting precipitate was filtered off and washed with water. Residual water was removed by coevaporation with 1,4-dioxane.

Yield: 15.8 g

MS-ESI: [M+H]⁺ = 337.4

TLC: R_f = 0.8, silica gel, heptane/EtOAc = 3/2 (v/v).

10

(c). Ethyl 5-cyano-4-(3-nitrophenyl)-2-phenyl-6-(ethoxycarbonylmethylthio)-pyrimidine

DIPEA (8.71 ml) was added to a stirred solution of ethyl 2-mercaptoacetate (5.15 ml) and 6-chloro-5-cyano-4-(3-nitrophenyl)-2-phenyl-pyrimidine (example 9(b), 15.8 g) in a mixture of EtOH (125 ml) and DCM (125 ml) under a nitrogen atmosphere. After 2 h at room temperature, the mixture was diluted with DCM until complete dissolution, washed with 0.5N aq. HCl, dried (MgSO₄) and concentrated under reduced pressure.

Yield: 19.7 g

MS-ESI: [M+H]⁺ = 421.2

TLC: R_f = 0.7, silica gel, heptane/EtOAc = 3/2 (v/v).

20

(d). Ethyl 5-amino-4-(3-nitrophenyl)-2-phenyl-thieno[2,3-d]pyrimidine-6-carboxylate

DIPEA (20.0 ml) was added to a stirred solution of ethyl 5-cyano-4-(3-nitrophenyl)-2-phenyl-6-(ethoxycarbonylmethylthio)-pyrimidine (example 9(c), 19.7 g) in a mixture of abs. EtOH (100 ml) and toluene p.a. (100 ml). After 48 h at 100°C, the mixture was cooled to 0°C. The resulting precipitate was filtered off, washed with cold EtOH and dried *in vacuo* at 40°C.

Yield: 17.0 g

MS-ESI: [M+H]⁺ = 421.2

TLC: R_f = 0.5, silica gel, heptane/EtOAc = 3/2 (v/v).

30

(e). Ethyl 5-amino-4-(3-aminophenyl)-2-phenyl-thieno[2,3-*d*]pyrimidine-6-carboxylate

A solution of tin (II) chloride (23.0 g) in abs. EtOH (250 ml) was added to a solution of ethyl 5-amino-4-(3-nitrophenyl)-2-phenyl-thieno[2,3-*d*]pyrimidine-6-carboxylate (example 9(d), 16.6 g) in 1,4-dioxane p.a. (250 ml). 37% aq. HCl (6.9 ml) was added and the mixture was heated under reflux (90°C) for 16 h. The mixture was allowed to cool to room temperature and concentrated under reduced pressure. The residue was suspended in EtOAc (500 ml). 4N aq. NaOH was added to obtain a pH of 10-11. The mixture was diluted by adding sat. aq. NaCl. The organic layer was separated, dried (MgSO₄) and concentrated under reduced pressure.

Yield: 17.0 g

MS-ESI: [M+H]⁺ = 421.2

TLC: R_f = 0.5, silica gel, heptane/EtOAc = 3/2 (v/v).

(f). 5-Amino-4-(3-aminophenyl)-2-phenyl-thieno[2,3-*d*]pyrimidine-6-carboxylic acid

Potassium hydroxide (20.0 g) was added to a solution of ethyl 5-amino-4-(3-aminophenyl)-2-phenyl-thieno[2,3-*d*]pyrimidine-6-carboxylate (example 9(e), 17.0 g) in a mixture of 1,4-dioxane (210 ml) and water (80 ml). After 16 h at 90°C, the mixture was cooled to 0°C. The resulting precipitate was filtered off, suspended in water (300 ml) and cooled to 0°C. The mixture was acidified to pH 3 by adding 2N aq. citric acid and stirred at 0°C up to room temperature for 2 h. The resulting precipitate was filtered off, washed with water and dried *in vacuo* at 40°C.

Yield: 13.3 g

MS-ESI: [M+H]⁺ = 363.0

TLC: R_f = 0.2, silica gel, DCM/MeOH = 95/5 (v/v).

(g). *tert*-Butyl 5-amino-4-(3-aminophenyl)-2-phenyl-thieno[2,3-*d*]pyrimidine-6-carboxamide

DIPEA (15.3 ml), *tert*-butylamine (9.3 ml) and TBTU (14.1 g) were added to a mixture of 5-amino-4-(3-aminophenyl)-2-phenyl-thieno[2,3-*d*]pyrimidine-6-carboxylic acid (example 9(f), 13.3 g) in a mixture of DCM (250 ml) and DMF (50 ml) under a nitrogen

atmosphere. After 3 h at room temperature, the mixture was diluted with DCM and washed with sat. aq. NaHCO₃, 0.1N aq. HCl and sat. aq. NaCl. The organic layer was dried (MgSO₄) and concentrated under reduced pressure. The crude product was purified by chromatography on silica gel, using heptane/EtOAc = 3/7 to 1/1 (v/v) as eluent.

5 Yield: 14.7 g

MS-ESI: [M+H]⁺ = 418.4

TLC: R_f = 0.4, silica gel, heptane/EtOAc = 3/2 (v/v).

10 (h). *tert*-Butyl 5-amino-4-(3-(2-bromoacetamido)-phenyl)-2-phenyl-thieno[2,3-*d*]pyrimidine-6-carboxamide

Bromoacetyl chloride (2.80 ml) was added dropwise to a solution of *tert*-butyl 5-amino-4-(3-aminophenyl)-2-phenyl-thieno[2,3-*d*]pyrimidine-6-carboxamide (example 9(g), 5.8 g) and DIPEA (12.2 ml) in DCM (50 ml). After 3 h at room temperature, the mixture was diluted with DCM, washed with sat. aq. NaHCO₃, dried (MgSO₄) and concentrated under reduced pressure. The crude product was purified by chromatography on silica gel using heptane/EtOAc = 3/2 (v/v) as eluent. A 1:1 (mol/mol) mixture of *tert*-butyl 5-amino-4-(3-(2-bromoacetamido)-phenyl)-2-phenyl-thieno[2,3-*d*]pyrimidine-6-carboxamide and *tert*-butyl 5-amino-4-(3-(2-chloroacetamido)-phenyl)-2-phenyl-thieno[2,3-*d*]pyrimidine-6-carboxamide was obtained.

20 Yield: 2.6 g

MS-ESI: [M+H]⁺ = 540.2, [M'+H]⁺ = 494.2

TLC: R_f = 0.3, silica gel, heptane/EtOAc = 3/2 (v/v).

25 (i). *tert*-Butyl 5-amino-2-phenyl-4-(3-((N-ethyl-N-(2-hydroxyethyl)-glyciny)-amino)-phenyl)-thieno[2,3-*d*]pyrimidine-6-carboxamide

To a stirred solution of *tert*-butyl 5-amino-4-(3-(2-bromoacetamido)-phenyl)-2-phenyl-thieno[2,3-*d*]pyrimidine-6-carboxamide (example 9(h), 500 mg) in DCM (5 ml) was added N-ethyl-2-amino-ethanol (500 mg). After stirring for 17 h at room temperature, the reaction mixture was diluted with DCM (100 ml), washed with aq. NaHCO₃ (1 M, 2 x 50 ml), dried (MgSO₄) and concentrated *in vacuo*. The residue was purified by HPLC using a Luna C-18 column with the following gradient: 0.1% aq. TFA + 10% aq.

ACN/ACN = 90/10 to 10/90 (v/v) in 30 min. The title compound was then lyophilized from a mixture of 1,4-dioxane, 0.1% aq. TFA and water.

Yield: 271 mg (TFA-salt)

MS-ESI: $[M+H]^+ = 547.2$

5 HPLC: $R_t = 11.88$ min, column Luna C-18(2), 3 μ m, 100 x 2.0 mm, detection UV = 210 nm, oven temperature = 40°C, flow = 0.25 ml/min, eluent phosphate buffer 50 mM pH 2.1/water/ACN = 10/80/10 to 10/10/80 (v/v/v), run time = 20 min.

Example 10

10 *tert*-Butyl 5-amino-2-phenyl-4-(3-(N-(methoxycarbonylmethyl)-glyciny)-amino)-phenyl)-thieno[2,3-*d*]pyrimidine-6-carboxamide

To a stirred solution of *tert*-butyl 5-amino-4-(3-(2-bromoacetamido)-phenyl)-2-phenyl-thieno[2,3-*d*]pyrimidine-6-carboxamide (example 9(h), 500 mg) and *N,N*-diisopropylethyl amine (DiPEA, 1 ml) in DCM (5 ml) was added glycine methyl ester hydrochloride (700 mg). After stirring for 17 h at room temperature, the reaction mixture was diluted with DCM (100 ml), washed with aq. NaHCO_3 (1 M, 2 x 50 ml), dried (MgSO_4) and concentrated *in vacuo*. The residue was purified by HPLC using a Luna C-18 column with the following gradient: 0.1% aq. TFA + 10% aq. ACN/ACN = 90/10 to 10/90 (v/v) in 30 min. The title compound was then lyophilized from a mixture of 1,4-dioxane, 0.1% aq. TFA and water.

Yield: 321 mg (TFA-salt)

MS-ESI: $[M+H]^+ = 547.2$

HPLC: $R_t = 12.54$ min, column Luna C-18(2), 3 μ m, 100 x 2.0 mm, detection UV = 210 nm, oven temperature = 40°C, flow = 0.25 ml/min, eluent phosphate buffer 50 mM pH 2.1/water/ACN = 10/80/10 to 10/10/80 (v/v/v), run time = 20 min.

Example 11

tert-Butyl 5-amino-2-(2-furyl)-4-(3-((N-methyl-N-(2-hydroxyethyl)-glyciny)-amino)-phenyl)-thieno[2,3-d]pyrimidine-6-carboxamide

5 (a) 2-amidinofuran

Cooled (0 °C) and saturated ethanolic HCl (40 ml) was added to a cooled (ice-bath, 0 °C) reaction vessel, containing 2-furonitril (13 ml). The resulting solution was allowed to reach ambient temperature and stirred under a nitrogen atmosphere for 48 h. After concentration of the reaction mixture *in vacuo*, the residue, containing the corresponding
10 2-furyl ethyl imidate, was redissolved in ethanol (20 ml) and stirred at 0 °C under a nitrogen atmosphere. Subsequently, saturated ethanolic ammonia (40 ml) was added and the reaction mixture was stirred in a sealed reaction vessel for 48 h. After filtration of the reaction mixture, the filtrate was concentrated under reduced pressure. The crude compound was used without further purification in the next step.

15 Yield: 15.0 g

(b). 5-Cyano-4-(3-nitrophenyl)-2-(2-furyl)-6-hydroxy-pyrimidine

A mixture of 2-amidinofuran (example 11(a), 15 g), 3-nitrobenzaldehyde (24 g), ethyl cyanoacetate (17 ml) and potassium carbonate (25 g) in abs. EtOH (300 ml) was stirred
20 at 60°C for 16 h. The reaction mixture was cooled to 0°C in an ice bath. The resulting precipitate was filtered off, washed with abs. EtOH and heated in water (100 °C) under stirring until a milky suspension was obtained. The suspension was cooled to 50°C, acidified to pH 2 by adding 2N aq. HCl and cooled to 0°C in an ice bath. The resulting precipitate was filtered off and washed with ice water. Residual water was removed by
25 coevaporation with 1,4-dioxane.

Yield: 16.0 g

MS-ESI: $[M+H]^+ = 309.2$

TLC: $R_f = 0.3$, silica gel, DCM/MeOH = 9/1 (v/v).

(c). 6-Chloro-5-cyano-4-(3-nitrophenyl)-2-(2-furyl)-pyrimidine

POCl₃ (50 ml) was added to a stirred solution of 5-cyano-4-(3-nitrophenyl)-2-(2-furyl)-6-hydroxy-pyrimidine (example 11(b), 16.0 g) and dimethylaniline (0.5 ml) in dry 1,4-dioxane p.a. (250 ml). After 2 h at 90°C, the warm mixture was filtered off and the
 5 filtrate was concentrated under reduced pressure. The residue was dissolved in 1,4-dioxane and ice water was added. The resulting precipitate was filtered off and washed with water. Residual water was removed by coevaporation with 1,4-dioxane.

Yield: 16.0 g

MS-ESI: [M+H]⁺ = 327.2

10 TLC: R_f = 0.75, silica gel, heptane/EtOAc = 3/2 (v/v).

(d). Ethyl 5-Cyano-4-(3-nitrophenyl)-2-(2-furyl)-6-(ethoxycarbonylmethylthio)-pyrimidine

DIPEA (9.1 ml) was added to a stirred solution of ethyl 2-mercaptoacetate (5.4 ml) and
 15 6-chloro-5-cyano-4-(3-nitrophenyl)-2-(2-furyl)-pyrimidine (example 11(c), 16.0 g) in a mixture of EtOH (125 ml) and DCM (125 ml) under a nitrogen atmosphere. After 2 h at room temperature, the mixture was diluted with DCM until complete dissolution, washed with 0.5N aq. HCl, dried (MgSO₄) and concentrated under reduced pressure.

Yield: 20.0 g

20 MS-ESI: [M+H]⁺ = 411.2.

TLC: R_f = 0.7, silica gel, heptane/EtOAc = 3/2 (v/v).

(e). Ethyl 5-amino-4-(3-nitrophenyl)-2-(2-furyl)-thieno[2,3-d]pyrimidine-6-carboxylate

DIPEA (20.0 ml) was added to a stirred solution of ethyl 5-cyano-4-(3-nitrophenyl)-2-
 25 (2-furyl)-6-(ethoxycarbonylmethylthio)-pyrimidine (example 11(d), 20 g) in a mixture of abs. EtOH (100 ml) and toluene p.a. (100 ml). After 48 h at 100°C, the mixture was cooled to 0°C. The resulting precipitate was filtered off, washed with cold EtOH and dried *in vacuo* at 40°C.

Yield: 20 g

30 MS-ESI: [M+H]⁺ = 411.2

TLC: R_f = 0.6, silica gel, heptane/EtOAc = 3/2 (v/v).

(f). Ethyl 5-amino-4-(3-aminophenyl)-2-(2-furyl)-thieno[2,3-*d*]pyrimidine-6-carboxylate

A solution of tin (II) chloride (28.0 g) in abs. EtOH (250 ml) was added to a solution of ethyl 5-amino-4-(3-nitrophenyl)-2-(2-furyl)-thieno[2,3-*d*]pyrimidine-6-carboxylate (example 11(e), 20 g) in 1,4-dioxane p.a. (250 ml). 37% aq. HCl (8.5 ml) was added and the mixture was heated under reflux (90°C) for 16 h. The mixture was allowed to cool to room temperature and concentrated under reduced pressure. The residue was suspended in EtOAc (500 ml). 4N aq. NaOH was added to obtain a pH of 10-11. The mixture was diluted by adding sat. aq. NaCl. The organic layer was separated, dried (MgSO₄) and concentrated under reduced pressure.

Yield: 17.5 g.

MS-ESI: $[M+H]^+ = 381.2$

TLC: $R_f = 0.4$, silica gel, heptane/EtOAc = 3/2 (v/v).

(g). 5-Amino-4-(3-aminophenyl)-2-(2-furyl)-thieno[2,3-*d*]pyrimidine-6-carboxylic acid

Potassium hydroxide (23.0 g) was added to a solution of ethyl 5-amino-4-(3-aminophenyl)-2-(2-furyl)-thieno[2,3-*d*]pyrimidine-6-carboxylate (example 11(f), 17.5 g) in a mixture of 1,4-dioxane (210 ml) and water (80 ml). After 8 h at 90°C, the mixture was cooled to 0°C. The resulting precipitate was filtered off, suspended in water (300 ml) and cooled to 0°C. The mixture was acidified to pH 3 by adding 2N aq. citric acid and stirred at 0°C up to room temperature for 2 h. The resulting precipitate was filtered off, washed with water and dried *in vacuo* at 40°C.

Yield: 16.9 g

MS-ESI: $[M+H]^+ = 353.2$

TLC: $R_f = 0.2$, silica gel, DCM/MeOH = 95/5 (v/v).

(h). *tert*-Butyl 5-amino-4-(3-aminophenyl)-2-(2-furyl)-thieno[2,3-*d*]pyrimidine-6-carboxamide

DIPEA (19.2 ml), *tert*-butylamine (11.6 ml) and TBTU (17.7 g) were added to a solution of 5-amino-4-(3-aminophenyl)-2-(2-furyl)-thieno[2,3-*d*]pyrimidine-6-carboxylic acid (example 11(g), 16.9 g) in a mixture of DCM (250 ml) and DMF (50

ml) under a nitrogen atmosphere. After 3 h at room temperature, a substantial amount of yellow precipitate had been formed, which was filtered off. The residue was washed with diethyl ether and dried *in vacuo* at 40°C.

Yield: 18.0 g

5 MS-ESI: $[M+H]^+ = 408.2$

TLC: $R_f = 0.4$, silica gel, heptane/EtOAc = 3/2 (v/v).

(i). *tert*-Butyl 5-amino-4-(3-(2-bromoacetamido)-phenyl)-2-(2-furyl)-thieno[2,3-*d*]pyrimidine-6-carboxamide

10 Bromoacetyl chloride (100 l) was added dropwise to a solution of *tert*-butyl 5-amino-4-(3-aminophenyl)-2-(2-furyl)-thieno[2,3-*d*]pyrimidine-6-carboxamide (example 11(h), 250 mg) and DIPEA (0.5 ml) in DCM (5 ml). After 3 h at room temperature, the mixture was diluted with DCM, washed with sat. aq. NaHCO₃, dried (MgSO₄) and concentrated under reduced pressure. The crude product was purified by chromatography on silica gel
15 using heptane/EtOAc = 3/2 (v/v) as eluent. A 1:1 (mol/mol) mixture of *tert*-butyl 5-amino-4-(3-(2-bromoacetamido)-phenyl)-2-(2-thienyl)-thieno[2,3-*d*]pyrimidine-6-carboxamide and *tert*-butyl 5-amino-4-(3-(2-chloroacetamido)-phenyl)-2-(2-thienyl)-thieno[2,3-*d*]pyrimidine-6-carboxamide was obtained.

Yield: 124 mg

20 MS-ESI: $[M+H]^+ = 540.2$, $[M'+H]^+ = 494.2$

TLC: $R_f = 0.3$, silica gel, heptane/EtOAc = 3/2 (v/v).

(i). *tert*-Butyl 5-amino-2-(2-furyl)-4-(3-((N-methyl-N-(2-hydroxyethyl)-glyciny)-amino)-phenyl)-thieno[2,3-*d*]pyrimidine-6-carboxamide

25 To a stirred solution of *tert*-butyl 5-amino-4-(3-(2-bromoacetamido)-phenyl)-2-(2-furyl)-thieno[2,3-*d*]pyrimidine-6-carboxamide (example 11(i), 130 mg) in DCM (5 ml) was added N-methyl-2-amino-ethanol (200 mg). After stirring for 17 h at room temperature, the reaction mixture was diluted with DCM (50 ml), washed with aq. NaHCO₃ (1 M, 2 x 10 ml), dried (MgSO₄) and concentrated *in vacuo*. The residue was
30 purified by HPLC using a Luna C-18 column with the following gradient: 0.1% aq. TFA

+ 10% aq. ACN/ACN = 90/10 to 10/90 (v/v) in 30 min. The title compound was then lyophilized from a mixture of 1,4-dioxane, 0.1% aq. TFA and water.

Yield: 81 mg (TFA-salt)

MS-ESI: $[M+H]^+ = 523.2$

5 HPLC: $R_t = 11.01$ min, column Luna C-18(2), 3 μ m, 100 x 2.0 mm, detection UV = 210 nm, oven temperature = 40°C, flow = 0.25 ml/min, eluent phosphate buffer 50 mM pH 2.1/water/ACN = 10/80/10 to 10/10/80 (v/v/v), run time = 20 min.

Example 12

10 *tert*-Butyl 5-amino-2-(2-furyl)-4-(3-(N-(1-hydroxy-2-methyl-prop-2-yl)-glyciny)-amino)-phenyl)-thieno[2,3-*d*]pyrimidine-6-carboxamide

To a stirred solution of *tert*-butyl 5-amino-4-(3-(2-bromoacetamido)-phenyl)-2-(2-furyl)-thieno[2,3-*d*]pyrimidine-6-carboxamide (example 11(i), 130 mg) in DCM (5 ml) was added 2-amino-2-methyl-propanol (260 mg). After stirring for 17 h at room
15 temperature, the reaction mixture was diluted with DCM (50 ml), washed with aq. NaHCO_3 (1 M, 2 x 10 ml), dried (MgSO_4) and concentrated *in vacuo*. The residue was purified by HPLC using a Luna C-18 column with the following gradient: 0.1% aq. TFA + 10% aq. ACN/ACN = 90/10 to 10/90 (v/v) in 30 min. The title compound was then lyophilized from a mixture of 1,4-dioxane, 0.1% aq. TFA and water.

20 Yield: 54 mg (TFA-salt)

MS-ESI: $[M+H]^+ = 537.2$

HPLC: $R_t = 11.15$ min, column Luna C-18(2), 3 μ m, 100 x 2.0 mm, detection UV = 210 nm, oven temperature = 40°C, flow = 0.25 ml/min, eluent phosphate buffer 50 mM pH 2.1/water/ACN = 10/80/10 to 10/10/80 (v/v/v), run time = 20 min.

Yield: 10.0 g
MS-ESI: $[M+H]^+ = 325.0$
TLC: $R_f = 0.3$, silica gel, DCM/MeOH = 9/1 (v/v).

5 (b). 6-Chloro-5-cyano-4-(3-nitrophenyl)-2-(2-thienyl)-pyrimidine

POCl₃ (30 ml) was added to a stirred solution of 5-cyano-4-(3-nitrophenyl)-2-(2-thienyl)-6-hydroxy-pyrimidine (example 14(a), 10.0 g) and dimethylaniline (a few drops) in dry 1,4-dioxane (150 ml). After 3 h at 90°C, the mixture was cooled to room temperature and concentrated under reduced pressure. The residue was dissolved in 1,4-dioxane and ice water was cautiously added. The resulting precipitate was filtered off and washed with water. Residual water was removed by coevaporation with 1,4-dioxane and drying *in vacuo* at 40°C.

Yield: 9.8 g
MS-ESI: $[M+H]^+ = 343.4$
15 TLC: $R_f = 0.8$, silica gel, heptane/EtOAc = 3/2 (v/v).

(c). Ethyl 5-cyano-4-(3-nitrophenyl)-2-(2-thienyl)-6-(ethoxycarbonylmethylthio)-pyrimidine

DIPEA (5.57 ml) was added to a stirred solution of ethyl 2-mercaptoacetate (3.28 ml) and 6-chloro-5-cyano-4-(3-nitrophenyl)-2-(2-thienyl)-pyrimidine (example 14(b), 9.8 g) in a mixture of EtOH (80 ml) and DCM (80 ml) under a nitrogen atmosphere. After 2 h at room temperature, the mixture was diluted with DCM until complete dissolution, washed with 0.5N aq. HCl, dried (MgSO₄) and concentrated under reduced pressure.

Yield: 12.9 g
25 MS-ESI: $[M+H]^+ = 427.2$
TLC: $R_f = 0.7$, silica gel, heptane/EtOAc = 3/2 (v/v).

(d). Ethyl 5-amino-4-(3-nitrophenyl)-2-(2-thienyl)-thieno[2,3-d]pyrimidine-6-carboxylate

30 DIPEA (13.0 ml) was added to a stirred solution of ethyl 5-cyano-4-(3-nitrophenyl)-2-(2-thienyl)-6-(ethoxycarbonylmethylthio)-pyrimidine (example 14(c), 12.9 g) in a

Example 13

tert-Butyl 5-amino-2-(2-furyl)-4-(3-(N-(methoxycarbonylmethyl)-glyciny)-amino)-phenyl)-thieno[2,3-*d*]pyrimidine-6-carboxamide

To a stirred solution of *tert*-butyl 5-amino-4-(3-(2-bromoacetamido)-phenyl)-2-(2-furyl)-thieno[2,3-*d*]pyrimidine-6-carboxamide (example 11(i), 130 mg) and DiPEA (0.5 ml) in DCM (5 ml) was added glycine methyl ester hydrochloride (324 mg). After stirring for 17 h at room temperature, the reaction mixture was diluted with DCM (50 ml), washed with aq. NaHCO₃ (1 M, 2 x 10 ml), dried (MgSO₄) and concentrated *in vacuo*. The residue was purified by HPLC using a Luna C-18 column with the following gradient: 0.1% aq. TFA + 10% aq. ACN/ACN = 90/10 to 10/90 (v/v) in 30 min. The title compound was then lyophilized from a mixture of 1,4-dioxane, 0.1% aq. TFA and water.

Yield: 74 mg (TFA-salt)

MS-ESI: [M+H]⁺ = 537.2

HPLC: R_t = 12.09 min, column Luna C-18(2), 3 μm, 100 x 2.0 mm, detection UV = 210 nm, oven temperature = 40°C, flow = 0.25 ml/min, eluent phosphate buffer 50 mM pH 2.1/water/ACN = 10/80/10 to 10/10/80 (v/v/v), run time = 20 min.

Example 14

tert-Butyl 5-amino-2-(2-thienyl)-4-(3-((N-methyl-N-(2-hydroxyethyl)-glyciny)-amino)-phenyl)-thieno[2,3-*d*]pyrimidine-6-carboxamide

(a). 5-Cyano-4-(3-nitrophenyl)-2-(2-thienyl)-6-hydroxy-pyrimidine

A mixture of 2-amidinothiophene hydrochloride (10.0 g), 3-nitrobenzaldehyde (9.7 g), ethyl cyanoacetate (6.81 ml) and potassium carbonate (10.1 g) in abs. EtOH (200 ml) was stirred at 60°C for 8 h. The reaction mixture was cooled to 0°C in an ice bath, filtered, washed with abs. EtOH and the residue was dissolved in water (100°C). The solution was cooled to 50°C, acidified with 2N aq. HCl to pH 2 and cooled to 0°C in an ice bath. The resulting precipitate was filtered off and washed with ice water. Residual water was removed by coevaporation with 1,4-dioxane.

mixture of abs. EtOH (75 ml) and toluene p.a. (75 ml). After 48 h at 100°C, the mixture was cooled to 0°C. The resulting precipitate was filtered off, washed with cold EtOH and dried *in vacuo* at 40°C.

Yield: 11.0 g

5 MS-ESI: $[M+H]^+ = 427.2$

TLC: $R_f = 0.6$, silica gel, heptane/EtOAc = 3/2 (v/v).

(e). Ethyl 5-amino-4-(3-aminophenyl)-2-(2-thienyl)-thieno[2,3-*d*]pyrimidine-6-carboxylate

10 A solution of tin (II) chloride (15 g) in abs. EtOH (150 ml) was added to a solution of ethyl 5-amino-4-(3-nitrophenyl)-2-(2-thienyl)-thieno[2,3-*d*]pyrimidine-6-carboxylate (example 14(d), 10.86 g) in 1,4-dioxane (150 ml). 37% aq. HCl (4.5 ml) was added and the mixture was heated under reflux for 16 h. The mixture was allowed to cool to room temperature and concentrated under reduced pressure. The residue was suspended in
15 EtOAc (400 ml) and THF was added until complete dissolution. 4N aq. NaOH was added to obtain a pH of 10-11. The mixture was diluted by adding sat. aq. NaCl. The organic layer was separated, dried (MgSO₄) and concentrated under reduced pressure.

Yield: 12.0 g

MS-ESI: $[M+H]^+ = 397.2$

20 TLC: $R_f = 0.4$, silica gel, heptane/EtOAc = 3/2 (v/v).

(f). 5-Amino-4-(3-aminophenyl)-2-(2-thienyl)-thieno[2,3-*d*]pyrimidine-6-carboxylic acid

Potassium hydroxide (13 g) was added to a solution of ethyl 5-amino-4-(3-aminophenyl)-2-(2-thienyl)-thieno[2,3-*d*]pyrimidine-6-carboxylate (example 14(e), 10.1
25 g) in a mixture of 1,4-dioxane (150 ml) and water (50 ml). After 16 h at 90°C, the mixture was cooled to 0°C. The resulting precipitate was filtered off, suspended in water (180 ml) and cooled to 0°C. The mixture was acidified to pH 3 by adding 2N aq. citric acid and stirred at 0°C for 2 h. The resulting precipitate was filtered off, washed with
30 water and dried *in vacuo* at 40°C.

Yield: 6.3 g
MS-ESI: $[M+H]^+ = 369.2$
TLC: $R_f = 0.2$, silica gel, DCM/MeOH = 95/5 (v/v).

5 (g). *tert*-Butyl 5-amino-4-(3-aminophenyl)-2-(2-thienyl)-thieno[2,3-*d*]pyrimidine-6-carboxamide

DIPEA (7.1 ml), *tert*-butylamine (4.3 ml) and TBTU (6.6 g) were added to a mixture of 5-amino-4-(3-aminophenyl)-2-(2-thienyl)-thieno[2,3-*d*]pyrimidine-6-carboxylic acid (example 14(f), 6.3 g) in a mixture of DCM (125 ml) and DMF (*N,N*-dimethylformamide) (25 ml) under a nitrogen atmosphere. After 3 h at room temperature, the mixture was diluted with DCM and washed with sat. aq. NaHCO₃, 0.1 N aq. HCl and sat. aq. NaCl. The organic layer was dried (MgSO₄) and concentrated under reduced pressure. The crude product was purified by chromatography on silica gel, using heptane/EtOAc = 3/7 to 1/1 (v/v) as eluent.

15 Yield: 6.45 g
MS-ESI: $[M+H]^+ = 424.2$
TLC: $R_f = 0.3$, silica gel, heptane/EtOAc = 3/2 (v/v).

20 (h). *tert*-Butyl 5-amino-4-(3-(2-bromoacetamido)-phenyl)-2-(2-thienyl)-thieno[2,3-*d*]pyrimidine-6-carboxamide

Bromoacetyl chloride (2.40 ml) was added to a solution of *tert*-butyl 5-amino-4-(3-aminophenyl)-2-(2-thienyl)-thieno[2,3-*d*]pyrimidine-6-carboxamide (example 14(g), 5.0 g) and DIPEA (10.5 ml) in DCM (50 ml). After 3 h at room temperature, the mixture was diluted with DCM, washed with sat. aq. NaHCO₃, dried (MgSO₄) and concentrated under reduced pressure. The crude product was purified by chromatography on silica gel using heptane/EtOAc = 3/2 (v/v) as eluent. A mixture of *tert*-butyl 5-amino-4-(3-(2-bromoacetamido)-phenyl)-2-(2-thienyl)-thieno[2,3-*d*]pyrimidine-6-carboxamide and *tert*-butyl 5-amino-4-(3-(2-chloroacetamido)-phenyl)-2-(2-thienyl)-thieno[2,3-*d*]pyrimidine-6-carboxamide was obtained.

30 Yield: 3.0 g
MS-ESI: $[M+H]^+ = 546.2$, $[M'+H]^+ = 500.2$

TLC: $R_f = 0.2$, silica gel, toluene/EtOAc = 7/1 (v/v).

(i). *tert*-Butyl 5-amino-2-(2-thienyl)-4-(3-((N-methyl-N-(2-hydroxyethyl)-glyciny)-amino)-phenyl)-thieno[2,3-*d*]pyrimidine-6-carboxamide

To a stirred solution of *tert*-butyl 5-amino-4-(3-(2-bromoacetamido)-phenyl)-2-(2-thienyl)-thieno[2,3-*d*]pyrimidine-6-carboxamide (example 14(h), 100 mg) in DCM (5 ml) was added N-methyl-2-aminoethanol (140 mg). After stirring for 17 h at room temperature, the reaction mixture was diluted with DCM (50 ml), washed with aq. NaHCO₃ (1 M, 2 x 10 ml), dried (MgSO₄) and concentrated *in vacuo*. The residue was purified by HPLC using a Luna C-18 column with the following gradient: 0.1% aq. TFA + 10% aq. ACN/ACN = 90/10 to 10/90 (v/v) in 30 min. The title compound was then lyophilized from a mixture of 1,4-dioxane, 0.1% aq. TFA and water.

Yield: 59 mg (TFA-salt)

MS-ESI: $[M+H]^+ = 539.2$

HPLC: $R_t = 11.01$ min, column Luna C-18(2), 3 μ m, 100 x 2.0 mm, detection UV = 210 nm, oven temperature = 40°C, flow = 0.25 ml/min, eluent phosphate buffer 50 mM pH 2.1/water/ACN = 10/80/10 to 10/10/80 (v/v/v), run time = 20 min.

Example 15

tert-Butyl 5-amino-2-(2-thienyl)-4-(3-((N-(methoxycarbonylmethyl)-glyciny)-amino)-phenyl)-thieno[2,3-*d*]pyrimidine-6-carboxamide

To a stirred solution of *tert*-butyl 5-amino-4-(3-(2-bromoacetamido)-phenyl)-2-(2-thienyl)-thieno[2,3-*d*]pyrimidine-6-carboxamide (example 14(h), 100 mg) and DiPEA (0.5 ml) in DCM (5 ml) was added glycine methyl ester hydrochloride (250 mg). After stirring for 17 h at room temperature, the reaction mixture was diluted with DCM (50 ml), washed with aq. NaHCO₃ (1 M, 2 x 10 ml), dried (MgSO₄) and concentrated *in vacuo*. The residue was purified by HPLC using a Luna C-18 column with the following gradient: 0.1% aq. TFA + 10% aq. ACN/ACN = 90/10 to 10/90 (v/v) in 30 min. The title compound was then lyophilized from a mixture of 1,4-dioxane, 0.1% aq. TFA and water.

Yield: 74 mg (TFA-salt)

MS-ESI: $[M+H]^+ = 553.0$

HPLC: $R_f = 12.57$ min, column Luna C-18(2), 3 μ m, 100 x 2.0 mm, detection UV = 210 nm, oven temperature = 40°C, flow = 0.25 ml/min, eluent phosphate buffer 50 mM pH 2.1/water/ACN = 10/80/10 to 10/10/80 (v/v/v), run time = 20 min.

Example 16

tert-Butyl 5-amino-2-(2-thienyl)-4-(3-((N,N-di-(2-methoxyethyl)-glyciny)-amino)-phenyl)-thieno[2,3-*d*]pyrimidine-6-carboxamide

10 To a stirred solution of *tert*-butyl 5-amino-4-(3-(2-bromoacetamido)-phenyl)-2-(2-thienyl)-thieno[2,3-*d*]pyrimidine-6-carboxamide (example 14(h), 100 mg) in DCM (5 ml) was added N,N-di-(2-methoxyethyl)-amine (200 mg). After stirring for 17 h at room temperature, the reaction mixture was diluted with DCM (50 ml), washed with aq. NaHCO₃ (1 M, 2 x 10 ml), dried (MgSO₄) and concentrated *in vacuo*. The residue was
15 purified by HPLC using a Luna C-18 column with the following gradient: 0.1% aq. TFA + 10% aq. ACN/ACN = 90/10 to 10/90 (v/v) in 30 min. The title compound was then lyophilized from a mixture of 1,4-dioxane, 0.1% aq. TFA and water.

Yield: 59 mg (TFA-salt)

MS-ESI: $[M+H]^+ = 597.4$

20 HPLC: $R_f = 13.84$ min, column Luna C-18(2), 3 μ m, 100 x 2.0 mm, detection UV = 210 nm, oven temperature = 40°C, flow = 0.25 ml/min, eluent phosphate buffer 50 mM pH 2.1/water/ACN = 10/80/10 to 10/10/80 (v/v/v), run time = 20 min.

Example 17

25 *tert*-Butyl 5-amino-2-ethylamino-4-(3-((N-ethyl-N-(2-methoxyethyl)-glyciny)-amino)-phenyl)-thieno[2,3-*d*]pyrimidine-6-carboxamide

(a). *tert*-Butyl 5-amino-2-methanesulfinyl-4-(3-((N-ethyl-N-(2-methoxyethyl)-glyciny)-amino)-phenyl)-thieno[2,3-*d*]pyrimidine-6-carboxamide

To a stirred solution of *tert*-butyl 5-amino-2-methylthio-4-(3-((N-ethyl-N-(2-methoxyethyl)-glyciny)-amino)-phenyl)-thieno[2,3-*d*]pyrimidine-6-carboxamide (example 4, 1.0 g) in trifluoroacetic acid (TFA, 25 ml) was added 3-chloroperbenzoic acid (*m*-CPBA, 1.0 g). After 17 h, the reaction mixture was concentrated under reduced pressure at ambient temperature (20 °C), redissolved in DCM (100 ml), carefully washed with sat. aq. NaHCO₃ (2 x 50 ml) and water (50 ml), dried (MgSO₄) and concentrated *in vacuo*. The crude residue was used without further purification in the next step.

Yield: 820 mg

MS-ESI: [M+H]⁺ = 547.3

10 TLC: R_f = 0.2, silica gel, DCM/MeOH = 9/1 (v/v).

(b). *tert*-Butyl 5-amino-2-ethylamino-4-(3-((N-ethyl-N-(2-methoxyethyl)-glyciny)-amino)-phenyl)-thieno[2,3-*d*]pyrimidine-6-carboxamide

Ethyl amine hydrochloride (150 mg) was added to a stirred solution of *tert*-butyl 5-amino-2-methanesulfinyl-4-(3-((N-ethyl-N-(2-methoxyethyl)-glyciny)-amino)-phenyl)-thieno[2,3-*d*]pyrimidine-6-carboxamide (example 17(a), 100 mg) and DIPEA (0.5 ml) in 1,4-dioxane (5 ml) and the reaction mixture was heated to 60 °C for 3 h. After concentration of the reaction mixture under reduced pressure, the residue was taken up in DCM (50 ml) and washed with brine (1 M, 25 ml) and water (25 ml). Subsequently, 20 the organic layer was dried (MgSO₄) and concentrated *in vacuo*. The thus obtained residue was purified by HPLC using a Luna C-18 column with the following gradient: 0.1% aq. TFA + 10% aq. ACN/ACN = 90/10 to 10/90 (v/v) in 30 min. The title compound was then lyophilized from a mixture of 1,4-dioxane, 0.1% aq. TFA and water.

25 Yield: 36 mg (TFA-salt)

MS-ESI: [M+H]⁺ = 528.4

HPLC: R_t = 10.21 min, column Luna C-18(2), 3 µm, 100 x 2.0 mm, detection UV = 210 nm, oven temperature = 40°C, flow = 0.25 ml/min, eluent phosphate buffer 50 mM pH 2.1/water/ACN = 10/80/10 to 10/10/80 (v/v/v), run time = 20 min.

Example 18

tert-Butyl 5-amino-2-(*N,N*-dimethylamino)-4-(3-((*N*-methyl-*N*-(2-hydroxyethyl)-glyciny)-amino)-phenyl)-thieno[2,3-*d*]pyrimidine-6-carboxamide

5 (a). *tert*-Butyl 5-amino-2-methanesulfinyl-4-(3-((*N*-methyl-*N*-(2-hydroxyethyl)-glyciny)-amino)-phenyl)-thieno[2,3-*d*]pyrimidine-6-carboxamide

To a stirred solution of *tert*-butyl 5-amino-2-methylthio-4-(3-((*N*-methyl-*N*-(2-hydroxyethyl)-glyciny)-amino)-phenyl)-thieno[2,3-*d*]pyrimidine-6-carboxamide (example 1(i), 1.0 g) in trifluoroacetic acid (TFA, 25 ml) was added 3-chloroperbenzoic acid (*m*-CPBA, 1.0 g). After 17 h, the reaction mixture was concentrated under reduced pressure at ambient temperature (20 °C), redissolved in DCM (100 ml), carefully washed with sat. aq. NaHCO₃ (2 x 50 ml) and water (50 ml), dried (MgSO₄) and concentrated *in vacuo*. The crude residue was used without further purification in the next step.

Yield: 910 mg

15 MS-ESI: [M+H]⁺ = 519.6

TLC: R_f = 0.15, silica gel, DCM/MeOH = 9/1 (v/v).

(b). *tert*-Butyl 5-amino-2-(*N,N*-dimethylamino)-4-(3-((*N*-methyl-*N*-(2-hydroxyethyl)-glyciny)-amino)-phenyl)-thieno[2,3-*d*]pyrimidine-6-carboxamide

20 Dimethyl amine hydrochloride (150 mg) was added to a stirred solution of *tert*-butyl 5-amino-2-methanesulfinyl-4-(3-((*N*-methyl-*N*-(2-hydroxyethyl)-glyciny)-amino)-phenyl)-thieno[2,3-*d*]pyrimidine-6-carboxamide (example 18(a), 100 mg) and DiPEA (0.5 ml) in 1,4-dioxane (5 ml) and the reaction mixture was heated to 60 °C for 3 h. After concentration of the reaction mixture under reduced pressure, the residue was taken up in DCM (50 ml) and washed with brine (1 M, 25 ml) and water (25 ml). Subsequently, the organic layer was dried (MgSO₄) and concentrated *in vacuo*. The thus obtained residue was purified by HPLC using a Luna C-18 column with the following gradient: 0.1% aq. TFA + 10% aq. ACN/ACN = 90/10 to 10/90 (v/v) in 30 min. The title compound was then lyophilized from a mixture of 1,4-dioxane, 0.1% aq. TFA and

30 water.

Yield: 36 mg (TFA-salt)

MS-ESI: $[M+H]^+ = 500.2$

HPLC: $R_f = 10.03$ min, column Luna C-18(2), 3 μ m, 100 x 2.0 mm, detection UV = 210 nm, oven temperature = 40°C, flow = 0.25 ml/min, eluent phosphate buffer 50 mM pH 2.1/water/ACN = 10/80/10 to 10/10/80 (v/v/v), run time = 20 min.

5

Example 19

tert-Butyl 5-amino-2-ethylamino-4-(3-((N-(methoxycarbonylmethyl)-glyciny)-amino)-phenyl)-thieno[2,3-*d*]pyrimidine-6-carboxamide

10 (a). *tert*-Butyl 5-amino-2-methanesulfinyl-4-(3-((N-(methoxycarbonylmethyl)-glyciny)-amino)-phenyl)-thieno[2,3-*d*]pyrimidine-6-carboxamide

To a stirred solution of *tert*-butyl 5-amino-2-methylthio-4-(3-((N-(methoxycarbonylmethyl)-glyciny)-amino)-phenyl)-thieno[2,3-*d*]pyrimidine-6-carboxamide (example 3, 1.0 g) in trifluoroacetic acid (TFA, 25 ml) was added 3-chloroperbenzoic acid (*m*-CPBA, 1.0 g). After 17 h, the reaction mixture was concentrated under reduced pressure at ambient temperature (20 °C), redissolved in DCM (100 ml), carefully washed with sat. aq. NaHCO₃ (2 x 50 ml) and water (50 ml), dried (MgSO₄) and concentrated *in vacuo*. The crude residue was used without further purification in the next step.

20 Yield: 680 mg

MS-ESI: $[M+H]^+ = 533.6$

TLC: $R_f = 0.17$, silica gel, DCM/MeOH = 9/1 (v/v).

25 (b). *tert*-Butyl 5-amino-2-ethylamino-4-(3-((N-(methoxycarbonylmethyl)-glyciny)-amino)-phenyl)-thieno[2,3-*d*]pyrimidine-6-carboxamide

Ethyl amine hydrochloride (150 mg) was added to a stirred solution of *tert*-butyl 5-amino-2-methanesulfinyl-4-(3-((N-(methoxycarbonylmethyl)-glyciny)-amino)-phenyl)-thieno[2,3-*d*]pyrimidine-6-carboxamide (example 19(a), 100 mg) and DiPEA (0.5 ml) in 1,4-dioxane (5 ml) and the reaction mixture was heated to 60 °C for 3 h. After concentration of the reaction mixture under reduced pressure, the residue was taken up

30

in DCM (50 ml) and washed with brine (1 M, 25 ml) and water (25 ml). Subsequently, the organic layer was dried (MgSO_4) and concentrated *in vacuo*. The thus obtained residue was purified by HPLC using a Luna C-18 column with the following gradient: 0.1% aq. TFA + 10% aq. ACN/ACN = 90/10 to 10/90 (v/v) in 30 min. The title
5 compound was then lyophilized from a mixture of 1,4-dioxane, 0.1% aq. TFA and water.

Yield: 57 mg (TFA-salt)

MS-ESI: $[\text{M}+\text{H}]^+ = 514.2$

HPLC: $R_t = 12.56$ min, column Luna C-18(2), 3 μm , 100 x 2.0 mm, detection UV = 210
10 nm, oven temperature = 40°C, flow = 0.25 ml/min, eluent phosphate buffer 50 mM pH 2.1/water/ACN = 10/80/10 to 10/10/80 (v/v/v), run time = 20 min.

Example 20

tert-Butyl 5-amino-2-isopropylamino-4-(3-((N-ethyl-N-(2-methoxyethyl)-glyciny)-
15 amino)-phenyl)-thieno[2,3-*d*]pyrimidine-6-carboxamide

Isopropyl amine (150 mg) was added to a stirred solution of *tert*-butyl 5-amino-2-methanesulfinyl-4-(3-((N-ethyl-N-(2-methoxyethyl)-glyciny)-amino)-phenyl)-thieno[2,3-*d*]pyrimidine-6-carboxamide (example 17(a), 100 mg) and DiPEA (0.5 ml) in 1,4-dioxane (5 ml) and the reaction mixture was heated to 60 °C for 3 h. After
20 concentration of the reaction mixture under reduced pressure, the residue was taken up in DCM (50 ml) and washed with brine (1 M, 25 ml) and water (25 ml). Subsequently, the organic layer was dried (MgSO_4) and concentrated *in vacuo*. The thus obtained residue was purified by HPLC using a Luna C-18 column with the following gradient: 0.1% aq. TFA + 10% aq. ACN/ACN = 90/10 to 10/90 (v/v) in 30 min. The title
25 compound was then lyophilized from a mixture of 1,4-dioxane, 0.1% aq. TFA and water.

Yield: 57 mg (TFA-salt)

MS-ESI: $[\text{M}+\text{H}]^+ = 542.4$

HPLC: R_t = 11.01 min, column Luna C-18(2), 3 μ m, 100 x 2.0 mm, detection UV = 210 nm, oven temperature = 40°C, flow = 0.25 ml/min, eluent phosphate buffer 50 mM pH 2.1/water/ACN = 10/80/10 to 10/10/80 (v/v/v), run time = 20 min.

5 **Example 21**

tert-Butyl 5-amino-2-allylamino-4-(3-((N-(methoxycarbonylmethyl)-glyciny)-amino)-phenyl)-thieno[2,3-*d*]pyrimidine-6-carboxamide

Allyl amine (200 mg) was added to a stirred solution of *tert*-butyl 5-amino-2-methanesulfinyl-4-(3-((N-(methoxycarbonylmethyl)-glyciny)-amino)-phenyl)-
10 thieno[2,3-*d*]pyrimidine-6-carboxamide (example 19(a), 100 mg) and DiPEA (0.5 ml) in 1,4-dioxane (5 ml) and the reaction mixture was heated to 60 °C for 3 h. After concentration of the reaction mixture under reduced pressure, the residue was taken up in DCM (50 ml) and washed with brine (1 M, 25 ml) and water (25 ml). Subsequently, the organic layer was dried (MgSO₄) and concentrated *in vacuo*. The thus obtained
15 residue was purified by HPLC using a Luna C-18 column with the following gradient: 0.1% aq. TFA + 10% aq. ACN/ACN = 90/10 to 10/90 (v/v) in 30 min. The title compound was then lyophilized from a mixture of 1,4-dioxane, 0.1% aq. TFA and water.

Yield: 65 mg (TFA-salt)

20 MS-ESI: $[M+H]^+$ = 526.4

HPLC: R_t = 13.18 min, column Luna C-18(2), 3 μ m, 100 x 2.0 mm, detection UV = 210 nm, oven temperature = 40°C, flow = 0.25 ml/min, eluent phosphate buffer 50 mM pH 2.1/water/ACN = 10/80/10 to 10/10/80 (v/v/v), run time = 20 min.

25 **Example 22**

tert-Butyl 5-amino-2-methoxy-4-(3-((N-ethyl-N-(2-methoxyethyl)-glyciny)-amino)-phenyl)-thieno[2,3-*d*]pyrimidine-6-carboxamide

Potassium *tert*-butoxide (100 mg) was added to a stirred solution of *tert*-butyl 5-amino-2-methanesulfinyl-4-(3-((N-ethyl-N-(2-methoxyethyl)-glyciny)-amino)-phenyl)-
30 thieno[2,3-*d*]pyrimidine-6-carboxamide (example 17(a), 200 mg) in methanol (5 ml)

and the reaction mixture was heated to 50 °C for 3 h. After concentration of the reaction mixture under reduced pressure, the residue was taken up in DCM (50 ml) and washed with aq. ammonium chloride (1 M, 25 ml), brine (1 M, 25 ml) and water (25 ml). Subsequently, the organic layer was dried (MgSO₄) and concentrated *in vacuo*. The thus
5 obtained residue was purified by HPLC using a Luna C-18 column with the following gradient: 0.1% aq. TFA + 10% aq. ACN/ACN = 90/10 to 10/90 (v/v) in 30 min. The title compound was then lyophilized from a mixture of 1,4-dioxane, 0.1% aq. TFA and water.

Yield: 92 mg (TFA-salt)

10 MS-ESI: [M+H]⁺ = 515.4

HPLC: R_t = 12.21 min, column Luna C-18(2), 3 μm, 100 x 2.0 mm, detection UV = 210 nm, oven temperature = 40°C, flow = 0.25 ml/min, eluent phosphate buffer 50 mM pH 2.1/water/ACN = 10/80/10 to 10/10/80 (v/v/v), run time = 20 min.

15 **Example 23**

tert-Butyl 5-amino-2-allyloxy-4-(3-((N-ethyl-N-(2-methoxyethyl)-glycinyI)-amino)-phenyl)-thieno[2,3-*d*]pyrimidine-6-carboxamide

Potassium *tert*-butoxide (100 mg) was added to a stirred solution of *tert*-butyl 5-amino-2-methanesulfinyl-4-(3-((N-ethyl-N-(2-methoxyethyl)-glycinyI)-amino)-phenyl)-

20 thieno[2,3-*d*]pyrimidine-6-carboxamide (example 17(a), 200 mg) in allyl alcohol (5 ml) and the reaction mixture was heated to 50 °C for 3 h. After concentration of the reaction mixture under reduced pressure, the residue was taken up in DCM (50 ml) and washed with aq. ammonium chloride (1 M, 25 ml), brine (1 M, 25 ml) and water (25 ml). Subsequently, the organic layer was dried (MgSO₄) and concentrated *in vacuo*. The thus
25 obtained residue was purified by HPLC using a Luna C-18 column with the following gradient: 0.1% aq. TFA + 10% aq. ACN/ACN = 90/10 to 10/90 (v/v) in 30 min. The title compound was then lyophilized from a mixture of 1,4-dioxane, 0.1% aq. TFA and water.

Yield: 63 mg (TFA-salt)

30 MS-ESI: [M+H]⁺ = 541.4

HPLC: $R_t = 12.71$ min, column Luna C-18(2), 3 μm , 100 x 2.0 mm, detection UV = 210 nm, oven temperature = 40°C, flow = 0.25 ml/min, eluent phosphate buffer 50 mM pH 2.1/water/ACN = 10/80/10 to 10/10/80 (v/v/v), run time = 20 min.

5 **Example 24**

tert-Butyl 5-amino-2-isopropoxy-4-(3-((*N*-ethyl-*N*-(2-methoxyethyl)-glyciny)-amino)-phenyl)-thieno[2,3-*d*]pyrimidine-6-carboxamide

Potassium *tert*-butoxide (100 mg) was added to a stirred solution of *tert*-butyl 5-amino-2-methanesulfinyl-4-(3-((*N*-ethyl-*N*-(2-methoxyethyl)-glyciny)-amino)-phenyl)-thieno[2,3-*d*]pyrimidine-6-carboxamide (example 17(a), 200 mg) in isopropanol (5 ml) and the reaction mixture was heated to 50 °C for 3 h. After concentration of the reaction mixture under reduced pressure, the residue was taken up in DCM (50 ml) and washed with aq. ammonium chloride (1 M, 25 ml), brine (1 M, 25 ml) and water (25 ml). Subsequently, the organic layer was dried (MgSO_4) and concentrated *in vacuo*. The thus
15 obtained residue was purified by HPLC using a Luna C-18 column with the following gradient: 0.1% aq. TFA + 10% aq. ACN/ACN = 90/10 to 10/90 (v/v) in 30 min. The title compound was then lyophilized from a mixture of 1,4-dioxane, 0.1% aq. TFA and water.

Yield: 32 mg (TFA-salt)

20 MS-ESI: $[M+H]^+ = 543.4$

HPLC: $R_t = 12.93$ min, column Luna C-18(2), 3 μm , 100 x 2.0 mm, detection UV = 210 nm, oven temperature = 40°C, flow = 0.25 ml/min, eluent phosphate buffer 50 mM pH 2.1/water/ACN = 10/80/10 to 10/10/80 (v/v/v), run time = 20 min.

25 **Example 25**

tert-Butyl 5-amino-2-(4-pyridyl)-4-(3-((*N*-(1-hydroxy-2-methyl-prop-2-yl)-glyciny)-amino)-phenyl)-thieno[2,3-*d*]pyrimidine-6-carboxamide

(a). 5-Cyano-4-(3-nitrophenyl)-2-(4-pyridyl)-6-hydroxy-pyrimidine

A mixture of 4-amidino-pyridine hydrochloride (16.5 g), 3-nitrobenzaldehyde (15.1 g), ethyl cyanoacetate (11.2 ml) and potassium carbonate (16.6 g) in abs. EtOH (250 ml) was stirred at 60°C for 16 h. The reaction mixture was cooled to 0°C in an ice bath. The resulting precipitate was filtered off, washed with abs. EtOH and heated in water (100°C) until a clear solution was obtained. The solution was cooled to 50°C, acidified to pH 2 by adding 2N aq. HCl and cooled to 0°C in an ice bath. The resulting precipitate was filtered off and washed with ice water. Residual water was removed by coevaporation with 1,4-dioxane.

Yield: 18.3 g

10 MS-ESI: $[M+H]^+ = 320.2$

TLC: $R_f = 0.2$, silica gel, DCM/MeOH = 9/1 (v/v)

(b). 6-Chloro-5-cyano-4-(3-nitrophenyl)-2-(4-pyridyl)-pyrimidine

POCl₃ (50 ml) was added to a stirred solution of 5-cyano-4-(3-nitrophenyl)-2-(4-pyridyl)-6-hydroxy-pyrimidine (example 25(a), 18.3 g) and dimethylaniline (0.5 ml) in dry 1,4-dioxane p.a. (200 ml). After 3 h at 90°C, the warm mixture was filtered off and the filtrate was concentrated under reduced pressure. The residue was dissolved in 1,4-dioxane and ice water was added. The resulting precipitate was filtered off and washed with water. Residual water was removed by coevaporation with 1,4-dioxane.

20 Yield: 17.2 g

MS-ESI: $[M+H]^+ = 338.4$

TLC: $R_f = 0.7$, silica gel, heptane/EtOAc = 3/2 (v/v)

(c). Ethyl 5-cyano-4-(3-nitrophenyl)-2-(4-pyridyl)-6-(ethoxycarbonylmethylthio)-pyrimidine

DIPEA (9.8 ml) was added to a stirred solution of ethyl 2-mercaptoacetate (5.7 ml) and 6-chloro-5-cyano-4-(3-nitrophenyl)-2-(4-pyridyl)-pyrimidine (example 25(b), 17.2 g) in a mixture of EtOH (125 ml) and DCM (125 ml) under a nitrogen atmosphere. After 2 h at room temperature, the mixture was diluted with DCM until complete dissolution, washed with 0.5N aq. HCl, dried (MgSO₄) and concentrated under reduced pressure.

30 Yield: 20.5 g

MS-ESI: $[M+H]^+ = 422.0$
TLC: $R_f = 0.6$, silica gel, heptane/EtOAc = 3/2 (v/v)

5 (d). Ethyl 5-amino-4-(3-nitrophenyl)-2-(4-pyridyl)-thieno[2,3-d]pyrimidine-6-carboxylate

DIPEA (20.0 ml) was added to a stirred solution of ethyl 5-cyano-4-(3-nitrophenyl)-2-(4-pyridyl)-6-(ethoxycarbonylmethylthio)-pyrimidine (example 25(c), 20.5 g) in a mixture of abs. EtOH (100 ml) and toluene p.a. (100 ml). After 48 h at 100°C, the mixture was cooled to 0°C. The resulting precipitate was filtered off, washed with cold
10 EtOH and dried *in vacuo* at 40°C.

Yield: 15.7 g
MS-ESI: $[M+H]^+ = 422.2$
TLC: $R_f = 0.5$, silica gel, heptane/EtOAc = 3/2 (v/v).

15 (e). Ethyl 5-amino-4-(3-aminophenyl)-2-(4-pyridyl)-thieno[2,3-d]pyrimidine-6-carboxylate

A solution of tin (II) chloride (21.0 g) in abs. EtOH (250 ml) was added to a solution of ethyl 5-amino-4-(3-nitrophenyl)-2-(4-pyridyl)-thieno[2,3-d]pyrimidine-6-carboxylate (example 25(d), 15.7 g) in 1,4-dioxane p.a. (250 ml). 37% aq. HCl (6.9 ml) was added
20 and the mixture was heated under reflux (90°C) for 16 h. The mixture was allowed to cool to room temperature and concentrated under reduced pressure. The residue was suspended in EtOAc (500 ml). 4N aq. NaOH was added to obtain a pH of 10-11. The mixture was diluted by adding sat. aq. NaCl. The organic layer was separated, dried (MgSO₄) and concentrated under reduced pressure.

25 Yield: 12.0 g
MS-ESI: $[M+H]^+ = 392.2$
TLC: $R_f = 0.3$, silica gel, heptane/EtOAc = 3/2 (v/v).

30 (f). 5-Amino-4-(3-aminophenyl)-2-(4-pyridyl)-thieno[2,3-d]pyrimidine-6-carboxylic acid

Potassium hydroxide (15.7 g) was added to a solution of ethyl 5-amino-4-(3-aminophenyl)-2-(4-pyridyl)-thieno[2,3-*d*]pyrimidine-6-carboxylate (example 25(e), 12.0 g) in a mixture of 1,4-dioxane (210 ml) and water (80 ml). After 16 h at 90°C, the mixture was cooled to 0°C. The resulting precipitate was filtered off, suspended in water (300 ml) and cooled to 0°C. The mixture was acidified to pH 3 by adding 2N aq. citric acid and stirred at 0°C up to room temperature for 2 h. The resulting precipitate was filtered off, washed with water and dried *in vacuo* at 40°C.

Yield: 12.0 g

MS-ESI: $[M+H]^+ = 364.2$

10 TLC: $R_f = 0.1$, silica gel, DCM/MeOH = 95/5 (v/v).

(g). *tert*-Butyl 5-amino-4-(3-aminophenyl)-2-(4-pyridyl)-thieno[2,3-*d*]pyrimidine-6-carboxamide

DIPEA (12.9 ml), *tert*-butylamine (7.8 ml) and TBTU (11.9 g) were added to a mixture of 5-amino-4-(3-aminophenyl)-2-(4-pyridyl)-thieno[2,3-*d*]pyrimidine-6-carboxylic acid (example 25(f), 12.0 g) in a mixture of DCM (250 ml) and DMF (50 ml) under a nitrogen atmosphere. After 2 h at room temperature, the mixture was diluted with DCM and washed with sat. aq. NaHCO₃, 0.1N aq. HCl and sat. aq. NaCl. The organic layer was dried (MgSO₄) and concentrated under reduced pressure. The crude product was purified by chromatography on silica gel, using dichloromethane/methanol = 1/0 to 95/5 (v/v) as eluent.

Yield: 12.2 g

MS-ESI: $[M+H]^+ = 419.4$

TLC: $R_f = 0.3$, silica gel, heptane/EtOAc = 3/2 (v/v).

25 (h). *tert*-Butyl 5-amino-4-(3-(2-bromoacetamido)-phenyl)-2-(4-pyridyl)-thieno[2,3-*d*]pyrimidine-6-carboxamide

A solution of bromoacetyl bromide (0.59 ml) in THF (25 ml) was added dropwise to a solution of *tert*-butyl 5-amino-4-(3-aminophenyl)-2-(4-pyridyl)-thieno[2,3-*d*]pyrimidine-6-carboxamide (example 25(g), 2.0 g) and N,N-dimethyl aniline (3.0 ml) in THF (50 ml). After 30 min at room temperature, the mixture was concentrated under

30

reduced pressure, subsequently dissolved in DCM (100 ml), washed with sat. aq. NaHCO₃, dried (MgSO₄) and concentrated *in vacuo*. The residue was used without further purification in the next step.

Yield: 2.3 g

5 MS-ESI: [M+H]⁺ = 539.2

TLC: R_f = 0.3, silica gel, heptane/EtOAc = 3/2 (v/v).

(i). *tert*-Butyl 5-amino-2-(4-pyridyl)-4-(3-((N-(1-hydroxy-2-methyl-prop-2-yl)-glyciny)-amino)-phenyl)-thieno[2,3-*d*]pyrimidine-6-carboxamide

10 To a stirred solution of *tert*-butyl 5-amino-4-(3-(2-bromoacetamido)-phenyl)-2-(4-pyridyl)-thieno[2,3-*d*]pyrimidine-6-carboxamide (example 25(h), 200 mg) in DCM (5 ml) was added 2-amino-2-methyl-propanol (300 mg). After stirring for 17 h at room temperature, the reaction mixture was diluted with DCM (100 ml), washed with aq. NaHCO₃ (1 M, 2 x 50 ml), dried (MgSO₄) and concentrated *in vacuo*. The residue was
15 purified by HPLC using a Luna C-18 column with the following gradient: 0.1% aq. TFA + 10% aq. ACN/ACN = 90/10 to 10/90 (v/v) in 30 min. The title compound was then lyophilized from a mixture of 1,4-dioxane, 0.1% aq. TFA and water.

Yield: 73 mg (TFA-salt)

MS-ESI: [M+H]⁺ = 548.2

20 HPLC: R_t = 9.65 min, column Luna C-18(2), 3 μm, 100 x 2.0 mm, detection UV = 210 nm, oven temperature = 40°C, flow = 0.25 ml/min, eluent phosphate buffer 50 mM pH 2.1/water/ACN = 10/80/10 to 10/10/80 (v/v/v), run time = 20 min.

Example 26

25 *tert*-Butyl 5-amino-2-(4-pyridyl)-4-(3-((N,N-bis-(2-methoxyethyl)-glyciny)-amino)-phenyl)-thieno[2,3-*d*]pyrimidine-6-carboxamide

To a stirred solution of *tert*-butyl 5-amino-4-(3-(2-bromoacetamido)-phenyl)-2-(4-pyridyl)-thieno[2,3-*d*]pyrimidine-6-carboxamide (example 25(h), 200 mg) in DCM (5 ml) was added bis-(2-methoxyethyl)-amine (300 mg). After stirring for 17 h at room
30 temperature, the reaction mixture was diluted with DCM (100 ml), washed with aq.

NaHCO₃ (1 M, 2 x 50 ml), dried (MgSO₄) and concentrated *in vacuo*. The residue was purified by HPLC using a Luna C-18 column with the following gradient: 0.1% aq. TFA + 10% aq. ACN/ACN = 90/10 to 10/90 (v/v) in 30 min. The title compound was then lyophilized from a mixture of 1,4-dioxane, 0.1% aq. TFA and water.

5 Yield: 170 mg (TFA-salt)

MS-ESI: [M+H]⁺ = 592.2

HPLC: R_t = 12.02 min, column Luna C-18(2), 3 μm, 100 x 2.0 mm, detection UV = 210 nm, oven temperature = 40°C, flow = 0.25 ml/min, eluent phosphate buffer 50 mM pH 2.1/water/ACN = 10/80/10 to 10/10/80 (v/v/v), run time = 20 min.

10

Example 27

CHO-LH and CHO-FSH *in vitro* bioactivity

LH agonistic activity of compounds were tested in Chinese Hamster Ovary (CHO) cells stably transfected with the human LH receptor and cotransfected with a cAMP
15 responsive element (CRE) / promotor directing the expression of a firefly luciferase reporter gene. Binding of ligand to the Gs-coupled LH receptor will result in an increase of cAMP, which in turn will induce an increased transactivation of the luciferase reporter construct. The luciferase signal was quantified using a luminescence counter. For test compounds, EC₅₀ values (concentration of test compound causing half-maximal
20 (50 %) stimulation) were calculated. For that purpose the software program GraphPad PRISM, version 3.0 (GraphPad software Inc., San Diego) was used.

In a similar way FSH agonistic activity of compounds were tested in CHO cells transfected with the luciferase reporter gene and the human FSH receptor. Results are shown in Table 1.

25

In vivo bioactivity

To measure *in vivo* activity of LH/FSH receptor agonistic compounds ovulation induction in immature mice were studied. In this assay immature female mice were primed with urinary FSH (Humegon 12.5 IU/animal). Approximately 48 hours later the animals were
30 treated with a LH /FSH agonistic compound, the preparation of which is described in examples 1, 4, 9 and 17, at a dose-level of 50 mg/kg. The animals were killed 24 hours after LH/FSH agonist treatment and the number of ova in the oviduct was

microscopically assessed. On average 10-15 animals were tested. The mean number of ova amounted 8 with the exception of the compound of example 17 (which was 0.4).

Table 1

5

name	example	LH EC50 (M)	FSH EC50 (M)
tert-Butyl 5-amino-2-methylthio-4-(3-((N-methyl-N-(2-hydroxyethyl)-glycyl)-amino)-phenyl)-thieno[2,3-d]pyrimidine-6-carboxamide	1	2.73E-08	5.89E-08
tert-Butyl 5-amino-2-methylthio-4-(3-((N-(1-hydroxy-2-methyl-prop-2-yl)-glycyl)-amino)-phenyl)-thieno[2,3-d]pyrimidine-6-carboxamide	2	5.42E-08	8.06E-07
tert-Butyl 5-amino-2-methylthio-4-(3-((N-(methoxycarbonylmethyl)-glycyl)-amino)-phenyl)-thieno[2,3-d]pyrimidine-6-carboxamide	3	5.97E-08	1.44E-06
tert-Butyl 5-amino-2-methylthio-4-(3-((N-ethyl-N-(2-methoxyethyl)-glycyl)-amino)-phenyl)-thieno[2,3-d]pyrimidine-6-carboxamide	4	7.00E-08	1.01E-07
tert-Butyl 5-amino-2-methylthio-4-(3-((N-(R-1-methoxycarbonyl-2-methyl-prop-1-yl)-glycyl)-amino)-phenyl)-thieno[2,3-d]pyrimidine-6-carboxamide	5	9.63E-08	3.48E-07
tert-Butyl 5-amino-2-methylthio-4-(3-((N,N-bis-(2-methoxyethyl)-glycyl)-amino)-phenyl)-thieno[2,3-d]pyrimidine-6-carboxamide	6	1.00E-08	1.18E-06
tert-Butyl 5-amino-2-methylthio-4-(3-((2,3-dihydroxy-prop-1-yl)-glycyl)-amino)-phenyl)-thieno[2,3-d]pyrimidine-6-carboxamide	7	1.22E-08	1.13E-06
tert-Butyl 5-amino-2-methylthio-4-(3-((1,3-dihydroxyprop-2-yl)-glycyl)-amino)-phenyl)-thieno[2,3-d]pyrimidine-6-carboxamide	8	2.64E-08	1.00E-06

Table 1 (continued)

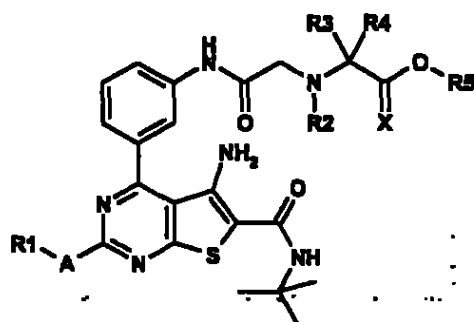
name	example	LH EC50 (M)	FSH EC50 (M)
tert-Butyl 5-amino-2-phenyl-4-(3-((N-ethyl-N-(2-hydroxyethyl)-glycyl)-amino)-phenyl)-thieno[2,3-d]pyrimidine-6-carboxamide	9	4.82E-09	6.06E-07
tert-Butyl 5-amino-2-phenyl-4-(3-(N-(methoxycarbonylmethyl)-glycyl)-amino)-phenyl)-thieno[2,3-d]pyrimidine-6-carboxamide	10	1.01E-08	2.48E-06
tert-Butyl 5-amino-2-(2-furyl)-4-(3-((N-methyl-N-(2-hydroxyethyl)-glycyl)-amino)-phenyl)-thieno[2,3-d]pyrimidine-6-carboxamide	11	4.00E-09	6.16E-07
tert-Butyl 5-amino-2-(2-furyl)-4-(3-(N-(1-hydroxy-2-methyl-prop-2-yl)-glycyl)-amino)-phenyl)-thieno[2,3-d]pyrimidine-6-carboxamide	12	1.18E-08	2.97E-06
tert-Butyl 5-amino-2-(2-furyl)-4-(3-(N-(methoxycarbonylmethyl)-glycyl)-amino)-phenyl)-thieno[2,3-d]pyrimidine-6-carboxamide	13	1.21E-08	2.55E-06
tert-Butyl 5-amino-2-(2-thienyl)-4-(3-((N-methyl-N-(2-hydroxyethyl)-glycyl)-amino)-phenyl)-thieno[2,3-d]pyrimidine-6-carboxamide	14	5.28E-09	1.44E-06
tert-Butyl 5-amino-2-(2-thienyl)-4-(3-((N-(methoxycarbonylmethyl)-glycyl)-amino)-phenyl)-thieno[2,3-d]pyrimidine-6-carboxamide	15	1.82E-08	3.21E-06
tert-Butyl 5-amino-2-(2-thienyl)-4-(3-(((N,N-di-(2-methoxyethyl)-glycyl)-amino)-phenyl)-thieno[2,3-d]pyrimidine-6-carboxamide	16	2.13E-08	6.81E-06

Table 1 (continued)

name	example	LH EC50 (M)	FSH EC50 (M)
tert-Butyl 5-amino-2-ethylamino-4-(3-((N-ethyl-N-(2-methoxyethyl)-glycyl)-amino)-phenyl)-thieno[2,3-d]pyrimidine-6-carboxamide	17	1.04E-08	1.25E-06
tert-Butyl 5-amino-2-(N,N-dimethylamino)-4-(3-((N-methyl-N-(2-hydroxyethyl)-glycyl)-amino)-phenyl)-thieno[2,3-d]pyrimidine-6-carboxamide	18	1.45E-08	1.63E-06
tert-Butyl 5-amino-2-ethylamino-4-(3-((N-(methoxycarbonylmethyl)-glycyl)-amino)-phenyl)-thieno[2,3-d]pyrimidine-6-carboxamide	19	2.29E-08	2.30E-06
tert-Butyl 5-amino-2-isopropylamino-4-(3-((N-ethyl-N-(2-methoxyethyl)-glycyl)-amino)-phenyl)-thieno[2,3-d]pyrimidine-6-carboxamide	20	4.24E-08	2.95E-06
tert-Butyl 5-amino-2-allylamino-4-(3-((N-(methoxycarbonylmethyl)-glycyl)-amino)-phenyl)-thieno[2,3-d]pyrimidine-6-carboxamide	21	5.70E-08	5.80E-07
tert-Butyl 5-amino-2-methoxy-4-(3-((N-ethyl-N-(2-methoxyethyl)-glycyl)-amino)-phenyl)-thieno[2,3-d]pyrimidine-6-carboxamide	22	1.16E-08	9.53E-07
tert-Butyl 5-amino-2-allyloxy-4-(3-((N-ethyl-N-(2-methoxyethyl)-glycyl)-amino)-phenyl)-thieno[2,3-d]pyrimidine-6-carboxamide	23	3.68E-08	1.74E-06
tert-Butyl 5-amino-2-isopropoxy-4-(3-((N-ethyl-N-(2-methoxyethyl)-glycyl)-amino)-phenyl)-thieno[2,3-d]pyrimidine-6-carboxamide	24	7.62E-08	2.51E-06
tert-Butyl 5-amino-2-(4-pyridyl)-4-(3-((N-(1-hydroxy-2-methyl-prop-2-yl)-glycyl)-amino)-phenyl)-thieno[2,3-d]pyrimidine-6-carboxamide	25	3.47E-08	4.00E-07
tert-Butyl 5-amino-2-(4-pyridyl)-4-(3-((N,N-bis-(2-methoxyethyl)-glycyl)-amino)-phenyl)-thieno[2,3-d]pyrimidine-6-carboxamide	26	3.82E-08	1.23E-06

Claims

1. A thieno[2,3-d]pyrimidine derivative according to general formula I,



(Formula I)

- 5 or a pharmaceutically acceptable salt thereof, wherein
X is O or H,
A is S, NH, N(R⁶), O or a bond;
R¹ is (1-4C)alkyl, (2-4C)alkenyl, phenyl or (2-5C)heteroaryl, the phenyl or
heteroaryl ring optionally being substituted with one or more of the group of
substituents: hydroxy, halogen, nitro, trifluoromethyl, cyano, amino or (1-
10 4C)(di)alkylamino.
R² is H, (1-4C)alkyl, (1-4C)alkoxy(2-4C)alkyl or hydroxy(2-4C)alkyl;
R³ and R⁴ can be independently selected from H, (1-4C)alkyl and hydroxy(1-
4C)alkyl;
15 R⁵ is H or (1-4C)alkyl, and
R⁶ can be selected from the same groups as described for R¹.
2. The compound according to claim 1 wherein X is H.
3. The compound according to claims 1 or 2 wherein R⁵ is (1-4C)alkyl.
4. The compound according to claims 1-3 wherein R³ = R⁴.
- 20 5. The compound according to claims 1-4 wherein R³ = R⁴ = H.
6. The compound according to claims 1-5 wherein R¹ is (1-4C)alkyl.
7. The compound according to claims 1-6 for use in therapy.

8. A pharmaceutical composition comprising a thieno[2,3-d]pyrimidine compound according to claims 1-6 or a pharmaceutically acceptable salt or solvate thereof, in admixture with a pharmaceutically acceptable auxiliary.
9. Use of thieno[2,3-d]pyrimidine compounds according to claims 1-6 or a
5 pharmaceutically acceptable salt or solvate thereof for the manufacture of a medicament for the control of fertility.
10. A method to treat fertility disorders in patients in need thereof by administration of an effective amount of a compound according to claims 1-6.

PCT

REQUEST

The undersigned requests that the present international application be processed according to the Patent Cooperation Treaty.

For receiving Office use only

International Application No. 2

International Filing Date

Name of receiving Office and "PCT International Application"

Applicant's or agent's file reference

(if desired) (12 characters maximum)

2001.668 WO

Box No. I TITLE OF INVENTION

"Glycine-substituted thieno[2,3-d]pyrimidines with combined LH and FSH agonistic activity"

Box No. II APPLICANT

Name and address: (Family name followed by given name; for a legal entity, full official designation. The address must include postal code and name of country. The country of the address indicated in this box is the applicant's State (i.e. country) of residence if no State of residence is indicated below)

Akzo Nobel N.V.
Velperweg 76
6824 BM ARNHEM
The Netherlands

☐ This person is also inventor

Telephone No.

0412-666380

Facsimile No.

0412-650592

Teleprinter No.

State (i.e. country) of nationality: The Netherlands

State (i.e. country) of residence: The Netherlands

This person is applicant for the purposes of: ☐ all designated States ☒ all designated States except the United States of America ☐ the United States of America only ☐ the States indicated in the Supplemental Box

Box No. III FURTHER APPLICANT(S) AND/OR (FURTHER) INVENTOR(S)

Name and address: (Family name followed by given name; for a legal entity, full official designation. The address must include postal code and name of country. The country of the address indicated in this box is the applicant's State (i.e. country) of residence if no State of residence is indicated below)

HANSEN, Robert, Gerard, Jules, Marie
NV Organon
P.O. box 20
5340 BH Oss
The Netherlands

This person is:

☐ applicant only

☒ applicant and inventor

☐ inventor only (If this check-box is marked, do not fill in below.)

State (i.e. country) of nationality: NL

State (i.e. country) of residence: NL

This person is applicant for the purposes of: ☐ all designated States ☐ all designated States except the United States of America ☒ the United States of America only ☐ the States indicated in the Supplemental Box

☒ Further applicants and/or (further) inventors are indicated on a continuation sheet.

Box No. IV AGENT OR COMMON REPRESENTATIVE; OR ADDRESS FOR CORRESPONDENCE

The person identified below is hereby/has been appointed to act on behalf of the applicant(s) before the competent International Authorities as: ☒ agent ☐ common representative

Name and address: (Family name followed by given name; for a legal entity, full official designation. The address must include postal code and name of country.)

P.M.G.F. van Wezenbeek
P.O. Box 20
5340 BH Oss
The Netherlands

Telephone No.

0412-666219

Facsimile No.

0412-650592

Teleprinter No.

☐ Mark this check-box where no agent or common representative is/has been appointed and the space above is used instead to indicate a special address to which correspondence should be sent.

Continuation of Box No. III FURTHER APPLICANTS AND/OR (FURTHER) INVENTORS

If none of the following sub-boxes is used, this sheet is not to be included in the request.

Name and address: (Family name followed by given name; for a legal entity, full official designation. The address must include postal code and name of country. The country of the address indicated in this box is the applicant's State (i.e. country) of residence (if no State of residence is indicated below)

TIMMERS, Cornelis, Marlus
 NV Organon
 PO.box 20
 5340 BH Oss
 The Netherlands

This person is:

- ☐ applicant only
☒ applicant and inventor
☐ inventor only (If this check-box is marked, do not fill in below.)

State (i.e. country) of nationality: NL

State (i.e. country) of residence: NL

This person is applicant for the purposes of

- ☐ all designated States ☐ all designated States except the United States of America ☒ the United States of America only ☐ the States indicated in the Supplemental Box

Name and address: (Family name followed by given name; for a legal entity, full official designation. The address must include postal code and name of country. The country of the address indicated in this box is the applicant's State (i.e. country) of residence (if no State of residence is indicated below)

KELDER, Jan
 NV Organon
 PO.box 20
 5340 BH Oss
 The Netherlands

This person is:

- ☐ applicant only
☒ applicant and inventor
☐ inventor only (If this check-box is marked, do not fill in below.)

State (i.e. country) of nationality: NL

State (i.e. country) of residence: NL

This person is applicant for the purposes of

- ☐ all designated States ☐ all designated States except the United States of America ☒ the United States of America only ☐ the States indicated in the Supplemental Box

Name and address: (Family name followed by given name; for a legal entity, full official designation. The address must include postal code and name of country. The country of the address indicated in this box is the applicant's State (i.e. country) of residence (if no State of residence is indicated below)

This person is:

- ☐ applicant only
☐ applicant and inventor
☐ inventor only (If this check-box is marked, do not fill in below.)

State (i.e. country) of nationality:

State (i.e. country) of residence:

This person is applicant for the purposes of

- ☐ all designated States ☐ all designated States except the United States of America ☐ the United States of America only ☐ the States indicated in the Supplemental Box

☐ Further applicants and/or (further) inventors are indicated on another continuation sheet.

Box No. V DESIGNATION OF STATES

Mark the applicable check-boxes below; at least one must be marked.

The following designations are hereby made under Rule 4.9(a):

Regional Patent

- ☒ AP ARIPO Patent: GH Ghana, GM Gambia, KE Kenya, LS Lesotho, MW Malawi, MZ Mozambique, SD Sudan, SL Sierra Leone, SZ Swaziland, TZ United Republic of Tanzania, UG Uganda, ZM Zambia, ZW Zimbabwe, and any other State which is a Contracting State of the Harare Protocol and of the PCT (if other kind of protection or treatment desired, specify on dotted line)
- ☒ EA Eurasian Patent: AM Armenia, AZ Azerbaijan, BY Belarus, KG Kyrgyzstan, KZ Kazakhstan, MD Republic of Moldova, RU Russian Federation, TJ Tajikistan, TM Turkmenistan, and any other State which is a Contracting State of the Eurasian Patent Convention and of the PCT
- ☒ EP European Patent: AT Austria, BE Belgium, BG Bulgaria, CH & LI Switzerland and Liechtenstein, CY Cyprus, CZ Czech Republic, DE Germany, DK Denmark, EE Estonia, ES Spain, FI Finland, FR France, GB United Kingdom, GR Greece, IE Ireland, IT Italy, LU Luxembourg, MC Monaco, NL Netherlands, PT Portugal, SE Sweden, SK Slovakia, TR Turkey, and any other State which is a Contracting State of the European Patent Convention and of the PCT
- ☒ OA OAPI Patent: BF Burkina Faso, BJ Benin, CF Central African Republic, CG Congo, CI Côte d'Ivoire, CM Cameroon, GA Gabon, GN Guinea, GQ Equatorial Guinea, GW Guinea-Bissau, ML Mali, MR Mauritania, NE Niger, SN Senegal, TD Chad, TG Togo, and any other State which is a member State of OAPI and a Contracting State of the PCT (if other kind of protection or treatment desired, specify on dotted line)

National Patent (if other kind of protection or treatment desired, specify on dotted line):

- | | | |
|--|--|---|
| ☒ AE United Arab Emirates | ☐ GM Gambia | ☒ NZ New Zealand |
| ☒ AG Antigua and Barbuda | ☒ HR Croatia | ☐ OM Oman |
| ☒ AL Albania | ☒ HU Hungary | ☒ PH Philippines |
| ☐ AM Armenia | ☒ ID Indonesia | ☒ PL Poland |
| ☐ AT Austria | ☒ IL Israel | ☐ PT Portugal |
| ☒ AU Australia | ☒ IN India | ☒ RO Romania |
| ☐ AZ Azerbaijan | ☒ IS Iceland | ☒ RU Russian Federation |
| ☒ BA Bosnia and Herzegovina | ☒ JP Japan | ☐ SD Sudan |
| ☒ BB Barbados | ☒ KE Kenya | ☐ SE Sweden |
| ☐ BG Bulgaria | ☐ KG Kyrgyzstan | ☒ SG Singapore |
| ☒ BR Brazil | ☒ KP Democratic People's Republic of Korea | ☒ SI Slovenia |
| ☐ BY Belarus | ☒ KR Republic of Korea | ☐ SK Slovakia |
| ☒ BZ Belize | ☐ KZ Kazakhstan | ☐ SL Sierra Leone |
| ☒ CA Canada | ☒ LC Saint Lucia | ☐ TJ Tajikistan |
| ☐ CH & LI Switzerland and Liechtenstein | ☒ LK Sri Lanka | ☐ TM Turkmenistan |
| ☒ CN China | ☒ LR Liberia | ☐ TN Tunisia |
| ☒ CO Colombia | ☐ LS Lesotho | ☐ TR Turkey |
| ☒ CR Costa Rica | ☒ LT Lithuania | ☒ TT Trinidad and Tobago |
| ☒ CU Cuba | ☐ LU Luxembourg | ☐ TZ United Republic of Tanzania |
| ☐ CZ Czech Republic | ☒ LV Latvia | ☒ UA Ukraine |
| ☐ DE Germany | ☒ MA Morocco | ☐ UG Uganda |
| ☐ DK Denmark | ☐ MD Republic of Moldova | ☒ US United States of America |
| ☒ DM Dominica | ☒ MG Madagascar | ☐ UZ Uzbekistan |
| ☒ DZ Algeria | ☒ MK The former Yugoslav Republic of Macedonia | ☒ VN Viet Nam |
| ☒ EC Ecuador | ☒ MN Mongolia | ☒ YU Yugoslavia |
| ☐ EE Estonia | ☐ MW Malawi | ☒ ZA South Africa |
| ☐ ES Spain | ☒ MX Mexico | ☐ ZM Zambia |
| ☐ FI Finland | ☒ MZ Mozambique | ☐ ZW Zimbabwe |
| ☐ GB United Kingdom | ☒ NO Norway | |
| ☒ GD Grenada | | |
| ☒ GE Georgia | | |
| ☐ GH Ghana | | |

Check-boxes below reserved for designating States which have become party to the PCT after issuance of this sheet:

- | | | |
|--------------------------------|--------------------------------|--------------------------------|
| ☐ | ☐ | ☐ |
| ☐ | ☐ | ☐ |

Precautionary Designation Statement: In addition to the designations made above, the applicant also makes under Rule 4.9(b) all other designations which would be permitted under the PCT except any designation(s) indicated in the Supplemental Box as being excluded from the scope of this statement. The applicant declares that those additional designations are subject to confirmation and that any designation which is not confirmed before the expiration of 15 months from the priority date is to be regarded as withdrawn by the applicant at the expiration of that time limit. (Confirmation (including fees) must reach the receiving Office within the 15-month time limit.)

44

Box No. VI **PRIORITY CLAIM** Further priority claims are indicated in the Supplemental Box ☐

The priority of the following earlier application(s) is hereby claimed:

Country (in which, or for which, the application was filed)	Filing Date (day/month/year)	Application No.	Office of filing (only for regional or international application)
item (1) EP (designated NL)	04-09-2001	01203328.8	EPO
item (2)			
item (3)			

Mark the following check-box if the certified copy of the earlier application is to be used by the Office which for the purposes of the present international application is the receiving Office (a fee may be required):

☒ The receiving Office is hereby requested to prepare and transmit to the International Bureau a certified copy of the earlier application(s) identified above as item(s):

Box No. VII **INTERNATIONAL SEARCHING AUTHORITY**

Choice of International Searching Authority (ISA) (If two or more International Searching Authorities are competent to carry out the international search, indicate the Authority chosen; the two-letter code may be used): **ISA IEPO**

Earlier search Fill in where a search (international, international-type or other) by the International Searching Authority has already been carried out or requested and the Authority is now requested to base the international search to the extent possible, on the results of that earlier search. Identify such search or request either by reference to the relevant application (or the translation thereof) or by reference to the search request

Country (or regional Office): **EP** Date (day/month/year) **04-09-2001** Number: **01203328.8**

Box No. VIII **CHECK LIST**

This international application contains the following number of sheets:

1. request	4	sheets
2. description:	53	sheets
3. claims:	2	sheets
4. abstract:	1	sheets
5. drawings	0	sheets
6 Sequence listing	0	sheets
Total :	60	sheets

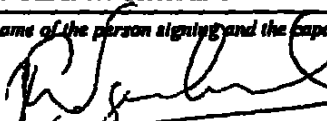
This international application is accompanied by the item(s) marked below:

1. ☒ separate signed power of attorney	5. ☒ fee calculation sheet
2. ☒ copy of general power of attorney	6. ☐ separate indications concerning deposited microorganisms
3. ☐ statement explaining lack of signature	7. ☐ nucleotide and/or amino acid sequence listing (diskette)
4. ☐ priority document(s) identified in Box No VI as item(s)	8. ☒ other (specify): Letter Request Refund copy European Search Report

Figure No. of the drawings (if any) should accompany the abstract when it is published.

Box No. IX **SIGNATURE OF APPLICANT OR AGENT**

Next to each signature, indicate the name of the person signing and the capacity in which the person signs (if such capacity is not obvious from reading the request)


P.M.G.F. van Wezenbeek

For receiving Office use only		2. Drawings:
1. Date of actual receipt of the purported international application:		☐ received
3. Corrected date of actual receipt due to later but timely received papers or drawings completing the purported international application:		☐ not received:
4. Date of timely receipt of the required corrections under PCT Article 11(2):		
5. International Searching Authority specified by the applicant: ISA/	6. ☐ Transmittal of search copy delayed until search fee is paid	

For International Bureau use only

Date of receipt of the record copy by the International Bureau:

PCT
FEE CALCULATION SHEET

For receiving Office use only

Annex to the Request

International application No.

Applicant's or agent's

file reference 2001.668 WO

Date stamp of the receiving Office

Applicant

Akzo Nobel N.V.

CALCULATION OF PRESCRIBED FEES

1. TRANSMITTAL FEE EUR 100,= T

2. SEARCH FEE EUR 945,= S

International search to be carried out by EPO
(If two or more International Searching Authorities are competent in relation to the international application, indicate the name of the Authority which is chosen to carry out the international search.)

3. INTERNATIONAL FEE

Basic Fee

The international application contains 60 sheets.
first 30 sheets EUR 444,= b₁

30 EUR 10= 300,= b₂

remaining sheets additional amount

Add amounts entered at b₁ and b₂ and enter total at B EUR 744,= B

Designation Fees

The international application contains 58 designations

number of designation fees payable (maximum 5) amount of designation fee EUR 480,= D

Add amounts entered at B and D and enter total at I EUR 1224,= I
(Applicants from certain States are entitled to a reduction of 75% of the international fee. Where the applicant is (or all applicants are) so entitled, the total to be entered at I is 25% of the sum of the amounts entered at B and D.)

4. FEE FOR PRIORITY DOCUMENT EUR 30,= P

5. TOTAL FEES PAYABLE

Add amounts entered at T, S, I and P,
and enter total in the TOTAL box EUR 2299,=

TOTAL

☐ The designation fee is not paid at this time.

MODE OF PAYMENT

☒ authorization to charge
deposit account (see below)

☐ bank draft

☐ coupons

☐ cheque

☐ cash

☐ other (specify):

☐ postal money order

☐ revenue stamps

DEPOSIT ACCOUNT AUTHORIZATION (this mode of payment may not be available at all receiving Offices)

The RO/ EPO ☒ is hereby authorized to charge the total fees indicated above to my deposit account.

☒ is hereby authorized to charge any deficiency or credit any overpayment in the total fees indicated above to my deposit account.

☐ is hereby authorized to charge the fee for preparation and transmission of the priority document to the International Bureau of WIPO to my deposit account.

2809 0012

27 August 2002

Deposit Account Number

Date (day/month/year)

Signature P.M.G.F. van Wezenbeek

The demand must be filed directly with the competent International Preliminary Examining Authority or, if two or more Authorities are competent, with the one chosen by the applicant. The full name or two-letter code of that Authority may be indicated by the applicant on the line below:

IPEA/ _____

CHAPTER II

PCT

DEMAND

under Article 31 of the Patent Cooperation Treaty:
The undersigned requests that the international application specified below be the subject of international preliminary examination according to the Patent Cooperation Treaty.

For International Preliminary Examining Authority use only

Identification of IPEA

Date of receipt of DEMAND

Box No. I IDENTIFICATION OF THE INTERNATIONAL APPLICATION

Applicant's or agent's file reference
2001.668 WO

International application No.

International filing date (day/month/year)

(Earliest) Priority date (day/month/year)

PCT/EP02/09648

29-08-2002

04-09-2001

Title of invention

"Glycine-substituted thieno[2,3-d]pyrimidines with combined LH and FSH agonistic activity"

Box No. II APPLICANT(S)

Name and address: (Family name followed by given name; for a legal entity, full official designation. The address must include postal code and name of country.)

Telephone No.:
0412-666380

**Alzo Nobel N.V.
Velperweg 76
6824 RM ARNHEM
The Netherlands**

Facsimile No.:
0412-650592

Teleprinter No.:

State (i.e. country) of nationality: **NL**

State (i.e. country) of residence: **NL**

Name and address: (Family name followed by given name; for a legal entity, full official designation. The address must include postal code and name of country.)

**YANSSEN,
Robert, Gerard, Jules, Marie
N.V. Organon
Postbus 20
5340 BH OSS
The Netherlands**

State (i.e. country) of nationality: **NL**

State (i.e. country) of residence: **NL**

Name and address: (Family name followed by given name; for a legal entity, full official designation. The address must include postal code and name of country.)

**TIMMERS,
Cornelis, Marius
N.V. Organon
Postbus 20
5340 BH OSS
The Netherlands**

State (i.e. country) of nationality: **NL**

State (i.e. country) of residence: **NL**



Further applicants are indicated on a continuation sheet.

47

Sheet No. 2.....

International application No.
PCT/EP02/09648

Continuation of Box No. 11

APPLICANT(S)

If none of the following sub-boxes is used, this sheet is not to be included in the demand

Name and address: (Family name followed by given name; for a legal entity, full official designation. The address must include postal code and name of country.)

KELDER,
Jan
N.V. Organon
Postbus 20
5340 BH OSS
The Netherlands

State (i.e. country) of nationality: **NL**

State (i.e. country) of residence: **NL**

Name and address: (Family name followed by given name; for a legal entity, full official designation. The address must include postal code and name of country.)

State (i.e. country) of nationality:

State (i.e. country) of residence:

Name and address: (Family name followed by given name; for a legal entity, full official designation. The address must include postal code and name of country.)

State (i.e. country) of nationality:

State (i.e. country) of residence:

Name and address: (Family name followed by given name; for a legal entity, full official designation. The address must include postal code and name of country.)

State (i.e. country) of nationality:

State (i.e. country) of residence:



Further applicants are indicated on another continuation sheet.

Box No. III AGENT OR COMMON REPRESENTATIVE; OR ADDRESS FOR CORRESPONDENCE

The following person is ☒ agent ☐ common representative
and ☒ has been appointed earlier and represents the applicant(s) also for international preliminary examination.
☐ is hereby appointed and any earlier appointment of (an) agent(s)/common representative is hereby revoked.
☐ is hereby appointed, specifically for the procedure before the International Preliminary Examining Authority, in addition to the agent(s)/common representative appointed earlier.

Name and address: *(Family name followed by given name; for a legal entity, full official designation. The address must include postal code and name of country.)*

P.M.G.F. van Wezenbeek
P.O. Box 20
5340 BH Oss
The Netherlands

Telephone No.:

0412-666219

Facsimile No.:

0412-650592

Teleprinter No.:

☐ Mark this check-box where no agent or common representative is/has been appointed and the space above is used instead to indicate a special address to which correspondence should be sent.

Box No. IV STATEMENT CONCERNING AMENDMENTS

The applicant wishes the international Preliminary Examining Authority*

(i) ☒ to start the international preliminary examination on the basis of the international application as originally filed.

(ii) ☐ to take into account the amendments under Article 34 of

☐ the description (amendments attached).

☐ the claims (amendments attached).

☐ the drawings (amendments attached).

(iii) ☐ to take into account any amendments of the claims under Article 19 filed with the International Bureau (a copy is attached).

(iv) ☐ to disregard any amendments of the claims made under Article 19 and to consider them as reversed.

(v) ☐ to postpone the start of the international preliminary examination until the expiration of 20 months from the priority date unless that Authority receives a copy of any amendments made under Article 19 or a notice from the applicant that he does not wish to make such amendments (Rule 69.1(d)). *(This check-box may be marked only where the time limit under Article 19 has not yet expired.)*

* Where no check-box is marked, international preliminary examination will start on the basis of the international application as originally filed or, where a copy of amendments to the claims under Article 19 and/or amendments of the international application under Article 34 are received by the International Preliminary Examining Authority before it has begun to draw up a written opinion or the international preliminary examination report, as so amended.

Box No. V ELECTION OF STATES

☒ The applicant hereby elects all eligible States *(that is, all States which have been designated and which are bound by Chapter II of the PCT)* except

(If the applicant does not wish to elect certain eligible States, the name(s) or country code(s) of those States must be indicated above.)

Box No. VI CHECK LIST

The demand is accompanied by the following documents for the purposes of international preliminary examination:

1. amendments under Article 34

description	:	sheets
claims	:	sheets
drawings	:	sheets

2. letter accompanying amendments under Article 34

: sheets

3. copy of amendments under Article 19

: sheets

4. copy of statement under Article 19

: sheets

5. other (specify):

: sheets

For International Preliminary
Examining Authority use only

received	not received
☐	☐
☐	☐
☐	☐
☐	☐
☐	☐
☐	☐

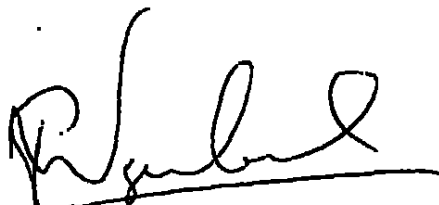
The demand is also accompanied by the item(s) marked below:

1. ☐ separate signed power of attorney
2. ☐ copy of general power of attorney
3. ☐ statement explaining lack of signature

4. ☒ fee calculation sheet
5. ☐ other (specify):

Box No. VII SIGNATURE OF APPLICANT, AGENT OR COMMON REPRESENTATIVE

Next to each signature, indicate the name of the person signing and the capacity in which the person signs (if such capacity is not obvious from reading the demand).



P.M.G.F. van Wezenbeek

For International Preliminary Examining Authority use only

1. Date of actual receipt of DEMAND:

Adjusted date of receipt of demand due
to CORRECTIONS under Rule 60.1(b):

3. ☐ The date of receipt of the demand is AFTER the expiration of 19 months from the priority date and item 4 or 5, below, does not apply. ☐ The applicant has been informed accordingly.
4. ☐ The date of receipt of the demand is WITHIN the period of 19 months from the priority date as extended by virtue of Rule 80.5.
5. ☐ Although the date of receipt of the demand is after the expiration of 19 months from the priority date, the delay in arrival is EXCUSED pursuant to Rule 82.

For International Bureau use only

Demand received from IPEA on:

FEE CALCULATION SHEET

Annex to the Demand for international preliminary examination

International application No. PCT/EP02/09648 Applicant's or agent's file reference 2001.668 WO Applicant Akzo Nobel N.V.	For International Preliminary Examining Authority use only Date stamp of the IPEA								
Calculation of prescribed fees 1. Preliminary examination fee..... EUR 1530,= P 2. Handling fee (<i>Applicants from certain States are entitled to a reduction of 75% of the handling fee. Where the applicant is (or all applicants are) so entitled, the amount to be entered at H is 25% of the handling fee.</i>)..... EUR 159,= H 3. Total of prescribed fees Add the amounts entered at P and H and enter total in the TOTAL box..... EUR 1689,= TOTAL									
Mode of Payment <table style="width: 100%;"><tr><td>☒ authorization to charge deposit account with the IPEA (see below)</td><td>☐ cash</td></tr><tr><td>☐ cheque</td><td>☐ revenue stamps</td></tr><tr><td>☐ postal money order</td><td>☐ coupons</td></tr><tr><td>☐ bank draft</td><td>☐ other (specify):</td></tr></table>		☒ authorization to charge deposit account with the IPEA (see below)	☐ cash	☐ cheque	☐ revenue stamps	☐ postal money order	☐ coupons	☐ bank draft	☐ other (specify):
☒ authorization to charge deposit account with the IPEA (see below)	☐ cash								
☐ cheque	☐ revenue stamps								
☐ postal money order	☐ coupons								
☐ bank draft	☐ other (specify):								

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No
PCT/EP 02/09648A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
IPC 7 C07D495/04 A61K31/505 A61P15/08

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

IPC 7 C07D A61K

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

EPO-Internal, WPI Data, BIOSIS

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	WO 00 61586 A (AKZO NOBEL NV ; ADANG ANTON EGBERT PETER (NL); GERRITSMA GERRILDINA) 19 October 2000 (2000-10-19) cited in the application page 3, line 9-21; claims 1,8,15; example 116; table 1	1-10



Further documents are listed in the continuation of box C.



Patent family members are listed in annex.

* Special categories of cited documents:

- *A* document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
- *E* earlier document but published on or after the international filing date
- *L* document which may throw doubt on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
- *O* document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
- *P* document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

- *T* later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
- *X* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
- *Y* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
- *G* document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

2 December 2002

Date of mailing of the international search report

10/12/2002

Name and mailing address of the ISA

European Patent Office, P.B. 5818 Patentplan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel (+31-70) 340-2040, Tx 31 651 epo nl
Fax (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Guspanova, J

PATENT COOPERATION TREATY

WO 03/020727
PCT/EP02/009648

From the INTERNATIONAL BUREAU

26 MARCH 2003
J-2

PCT

NOTICE INFORMING THE APPLICANT OF THE
COMMUNICATION OF THE INTERNATIONAL
APPLICATION TO THE DESIGNATED OFFICES

(PCT Rule 47.1(c), first sentence)

To:	
P.M.G.F. VAN WEZENBEEK P.O. BOX 20 NL-5340 BH Oss PAYS-BAS	
Behandeld door	pvw
Adm. opgenomen	AUL
Bericht d.d.	
Berev. d.d.	
Alleggen	dw

202

Date of mailing (day/month/year) 13 March 2003 (13.03.03)		
Applicant's or agent's file reference 2001.668 WO		
IMPORTANT NOTICE		
International application No. PCT/EP02/009648	International filing date (day/month/year) 29 August 2002 (29.08.02)	Priority date (day/month/year) 04 September 2001 (04.09.01)
Applicant AKZO NOBEL N.V.		

1. Notice is hereby given that the International Bureau has communicated, as provided in Article 20, the international application to the following designated Offices on the date indicated above as the date of mailing of this notice:

KP, KR, US

In accordance with Rule 47.1(c), third sentence, those Offices will accept the present notice as conclusive evidence that the communication of the international application has duly taken place on the date of mailing indicated above and no copy of the international application is required to be furnished by the applicant to the designated Office(s).

2. The following designated Offices have waived the requirement for such a communication at this time:

AE, AG, AL, AP, AU, BA, BB, BR, BZ, CA, CN, CO, CR, CU, DM, DZ, EA, EC, EP, GD, GE, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, LC, LK, LR, LT, LV, MA, MG, MK, MN, MX, MZ, NO, NZ, OA, PH, PL, RO, RU, SG, SI, TT, UA, UZ, VN, YU, ZA

The communication will be made to those Offices only upon their request. Furthermore, those Offices do not require the applicant to furnish a copy of the international application (Rule 49.1(a-bis)).

3. Enclosed with this notice is a copy of the international application as published by the International Bureau on 13 March 2003 (13.03.03) under No. WO 03/020727.

4. **TIME LIMITS** for filing a demand for International preliminary examination and for entry into the national phase

The applicable time limit for entering the national phase will, subject to what is said in the following paragraph, be 30 MONTHS from the priority date, not only in respect of any elected Office if a demand for international preliminary examination is filed before the expiration of 19 months from the priority date, but also in respect of any designated Office, in the absence of filing of such demand, where Article 22(1) as modified with effect from 1 April 2002 applies in respect of that designated Office. For further details, see *PCT Gazette* No. 44/2001 of 1 November 2001, pages 19926, 19932 and 19934, as well as the *PCT Newsletter*, October and November 2001 and February 2002 issues.

In practice, time limits other than the 30-month time limit will continue to apply, for various periods of time, in respect of certain designated or elected Offices. For regular updates on the applicable time limits (20, 21, 30 or 31 months, or other time limit), Office by Office, refer to the *PCT Gazette*, the *PCT Newsletter* and the *PCT Applicant's Guide*, Volume II, National Chapters, all available from WIPO's Internet site, at <http://www.wipo.int/pct/en/index.html>.

For filing a demand for International preliminary examination, see the *PCT Applicant's Guide*, Volume I/A, Chapter IX. Only an applicant who is a national or resident of a PCT Contracting State which is bound by Chapter II has the right to file a demand for international preliminary examination (at present, all PCT Contracting States are bound by Chapter II).

It is the applicant's sole responsibility to monitor all these time limits.

The International Bureau of WIPO 34, chemin des Colombes 1211 Geneva 20, Switzerland	Authorized officer Judith Zahra
Facsimile No. (41-22) 740.14.35	Telephone No. (41-22) 338.91.11

PATENT COOPERATION TREATY

J-3

From the INTERNATIONAL SEARCHING AUTHORITY

PCT

NOTIFICATION OF TRANSMITTAL OF
THE INTERNATIONAL SEARCH REPORT
OR THE DECLARATION

(PCT Rule 44.1)

To:	
VAN WEZENBEEK, P.M.G.	
P.O. Box 20	
NL-5340 BH Oss	
NETHERLANDS	
Beland's doc.	
Adm. d.a.	
Enrich d.d.	
aan:	
Enrich d.d.	
Allegor:	

Date of mailing
(day/month/year)

10/12/2002

Applicant's or agent's file reference

2001.668 WO

FOR FURTHER ACTION

See paragraphs 1 and 4 below

International application No.

PCT/EP 02/09648

International filing date
(day/month/year)

29/08/2002

Applicant

AKZO NOBEL N.V.

1. ☒ The applicant is hereby notified that the International Search Report has been established and is transmitted herewith.

Filing of amendments and statement under Article 19:

The applicant is entitled, if he so wishes, to amend the claims of the International Application (see Rule 46):

When? The time limit for filing such amendments is normally 2 months from the date of transmittal of the International Search Report; however, for more details, see the notes on the accompanying sheet.

Where? Directly to the International Bureau of WIPO
34, chemin des Colombettes
1211 Geneva 20, Switzerland
Facsimile No.: (41-22) 740.14.35

For more detailed instructions, see the notes on the accompanying sheet.

2. ☐ The applicant is hereby notified that no International Search Report will be established and that the declaration under Article 17(2)(a) to that effect is transmitted herewith.

3. ☐ With regard to the protest against payment of (an) additional fee(s) under Rule 40.2, the applicant is notified that:

☐ the protest together with the decision thereon has been transmitted to the International Bureau together with the applicant's request to forward the texts of both the protest and the decision thereon to the designated Offices.

☐ no decision has been made yet on the protest; the applicant will be notified as soon as a decision is made.

4. Further action(s): The applicant is reminded of the following:

Shortly after 18 months from the priority date, the International application will be published by the International Bureau. If the applicant wishes to avoid or postpone publication, a notice of withdrawal of the International application, or of the priority claim, must reach the International Bureau as provided in Rules 90bis.1 and 90bis.3, respectively, before the completion of the technical preparations for international publication.

Within 18 months from the priority date, a demand for international preliminary examination must be filed if the applicant wishes to postpone the entry into the national phase until 30 months from the priority date (in some Offices even later).

Within 20 months from the priority date, the applicant must perform the prescribed acts for entry into the national phase before all designated Offices which have not been elected in the demand or in a later election within 18 months from the priority date or could not be elected because they are not bound by Chapter II.

Name and mailing address of the International Searching Authority



European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL-2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Sandrine Polenzani

In these Notes, "Article", "Rule", and "Section" refer to the provisions of the PGT, the PGT Regulations and the PGT Administrative Instructions respectively.

The applicant has, after having received the international search report, one opportunity to amend the claims of the international application. It should however be emphasized that, since all parts of the international application (claims, description and drawings) may be amended during the international preliminary examination procedure, there is usually no need to file amendments of the claims under Article 18 except where, e.g. the applicant wants the latter to be published for the purposes of provisional protection or has another reason for amending the claims before international publication. Furthermore, it should be emphasized that provisional protection is available in some States only.

Under Article 19, only the claims may be amended.

During the international phase, the claims may also be amended (or further amended) under Article 34 before the International Preliminary Examining Authority. The description and drawings may only be amended under Article 34 before the International Examining Authority.

Upon entry into the national phase, all parts of the international application may be amended under Article 28 or, where applicable, Article 41.

Within 2 months from the date of transmittal of the international search report or 16 months from the priority date, whichever time limit expires later. It should be noted, however, that the amendments will be considered as having been received on time if they are received by the International Bureau after the expiration of the applicable time limit but before the completion of the technical preparations for international publication (Rule 46.1).

The amendments may only be filed with the International Bureau and not with the receiving Office or the International Searching Authority (Rule 46.2).

Where a demand for international preliminary examination has been/is filed, see below.

Either by cancelling one or more entire claims, by adding one or more new claims or by amending the text of one or more of the claims as filed.

A replacement sheet must be submitted for each sheet of the claims which, on account of an amendment or amendments, differs from the sheet originally filed.

All the claims appearing on a replacement sheet must be numbered in Arabic numerals. Where a claim is cancelled, no renumbering of the other claims is required. In all cases where claims are renumbered, they must be renumbered consecutively (Administrative Instructions, Section 205(b)).

The amendments must be made in the language in which the international application is to be published.

- **Letter (Section 205(b)):**

The amendments must be submitted with a letter.

The letter will not be published with the international application and the amended claims. It should not be confused with the "Statement under Article 19(1)" (see below, under "Statement under Article 19(1)").

The letter must be in English or French, at the choice of the applicant. However, if the language of the international application is English, the letter must be in English; if the language of the international application is French, the letter must be in French.

NOTES TO FORM PCT/ISA/220 (continued)

The letter must indicate the differences between the claims as filed and the claims as amended. It must, in particular, indicate, in connection with each claim appearing in the international application (it being understood that identical indications concerning several claims may be grouped), whether

- (i) the claim is unchanged;
- (ii) the claim is cancelled;
- (iii) the claim is new;
- (iv) the claim replaces one or more claims as filed;
- (v) the claim is the result of the division of a claim as filed.

The following examples illustrate the manner in which amendments must be explained in the accompanying letter:

1. [Where originally there were 48 claims and after amendment of some claims there are 51]:
"Claims 1 to 29, 31, 32, 34, 35, 37 to 48 replaced by amended claims bearing the same numbers; claims 30, 33 and 36 unchanged; new claims 49 to 51 added."
2. [Where originally there were 15 claims and after amendment of all claims there are 11]:
"Claims 1 to 15 replaced by amended claims 1 to 11."
3. [Where originally there were 14 claims and the amendments consist in cancelling some claims and in adding new claims]:
"Claims 1 to 6 and 14 unchanged; claims 7 to 13 cancelled; new claims 15, 16 and 17 added." or
"Claims 7 to 13 cancelled; new claims 15, 16 and 17 added; all other claims unchanged."
4. [Where various kinds of amendments are made]:
"Claims 1-10 unchanged; claims 11 to 13, 18 and 19 cancelled; claims 14, 15 and 16 replaced by amended claim 14; claim 17 subdivided into amended claims 15, 16 and 17; new claims 20 and 21 added."

"Statement under article 19(1)" (Rule 48.4)

The amendments may be accompanied by a statement explaining the amendments and indicating any impact that such amendments might have on the description and the drawings (which cannot be amended under Article 19(1)).

The statement will be published with the international application and the amended claims.

It must be in the language in which the international application is to be published.

It must be brief, not exceeding 500 words if in English or if translated into English.

It should not be confused with and does not replace the letter indicating the differences between the claims as filed and as amended. It must be filed on a separate sheet and must be identified as such by a heading, preferably by using the words "Statement under Article 19(1)."

It may not contain any disparaging comments on the international search report or the relevance of citations contained in that report. Reference to citations, relevant to a given claim, contained in the international search report may be made only in connection with an amendment of that claim.

Consequence if a demand for international preliminary examination has already been filed

If, at the time of filing any amendments under Article 19, a demand for international preliminary examination has already been submitted, the applicant must preferably, at the same time of filing the amendments with the International Bureau, also file a copy of such amendments with the International Preliminary Examining Authority (see Rule 62.2(a), first sentence).

Consequence with regard to translation of the international application for entry into the national phase

The applicant's attention is drawn to the fact that, where upon entry into the national phase, a translation of the claims as amended under Article 19 may have to be furnished to the designated/elected Offices, instead of, or in addition to, the translation of the claims as filed.

For further details on the requirements of each designated/elected Office, see Volume II of the PCT Applicant's Guide.

PCT

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

(PCT Article 18 and Rules 43 and 44)

Applicant's or agent's file reference 2001.668 W0	FOR FURTHER ACTION see Notification of Transmittal of International Search Report (Form PCT/ISA/220) as well as, where applicable, item 5 below.	
International application No. PCT/EP 02/09648	International filing date (day/month/year) 29/08/2002	(Earliest) Priority Date (day/month/year) 04/09/2001
Applicant AKZO NOBEL N.V.		

This International Search Report has been prepared by this International Searching Authority and is transmitted to the applicant according to Article 18. A copy is being transmitted to the International Bureau.

This International Search Report consists of a total of 03 sheets.

☒ It is also accompanied by a copy of each prior art document cited in this report.

1. Basis of the report

- a. With regard to the language, the international search was carried out on the basis of the international application in the language in which it was filed, unless otherwise indicated under this item.

☐ the international search was carried out on the basis of a translation of the international application furnished to this Authority (Rule 23.1(b)).

- b. With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application, the international search was carried out on the basis of the sequence listing:

☐ contained in the international application in written form.

☐ filed together with the international application in computer readable form.

☐ furnished subsequently to this Authority in written form.

☐ furnished subsequently to this Authority in computer readable form.

☐ the statement that the subsequently furnished written sequence listing does not go beyond the disclosure in the international application as filed has been furnished.

☐ the statement that the information recorded in computer readable form is identical to the written sequence listing has been furnished.

2. ☐ Certain claims were found unsearchable (See Box I).

3. ☐ Unity of invention is lacking (see Box II).

4. With regard to the title,

☒ the text is approved as submitted by the applicant.

☐ the text has been established by this Authority to read as follows:

5. With regard to the abstract,

☒ the text is approved as submitted by the applicant.

☐ the text has been established, according to Rule 38.2(b), by this Authority as it appears in Box III. The applicant may, within one month from the date of mailing of this international search report, submit comments to this Authority.

6. The figure of the drawings to be published with the abstract is Figure No.

☐ as suggested by the applicant.

☐ because the applicant failed to suggest a figure.

☐ because this figure better characterizes the invention.

☐ None of the figures.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No
PCT/EP 02/09648

57

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

IPC 7 C07D495/04 A61K31/505 A61P15/08

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

IPC 7 C07D A61K

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

EPO-Internal, WPI Data, BIOSIS

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	WO 00 61586 A (AKZO NOBEL NV ;ADANG ANTON EGBERT PETER (NL); GERRITSMA GERRILDINA) 19 October 2000 (2000-10-19) cited in the application page 3, line 9-21; claims 1,8,15; example 116; table 1 -----	1-10



Further documents are listed in the continuation of box C.



Patent family members are listed in annex.

* Special categories of cited documents:

- *A* document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
- *E* earlier document but published on or after the international filing date
- *L* document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
- *O* document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
- *P* document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

T later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

X document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

Y document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.

S document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

2 December 2002

Date of mailing of the international search report

10/12/2002

Name and mailing address of the ISA

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 851 epo nl,
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Guspanova, J

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No

PCT/EP 02/09648

58

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 0061586	A	19-10-2000	
		AU 3816600 A	14-11-2000
		BR 0009558 A	19-02-2002
		CN 1349535 T	15-05-2002
		CZ 20013605 A3	13-03-2002
		WO 0061586 A1	19-10-2000
		EP 1171443 A1	16-01-2002
		HU 0200653 A2	29-06-2002
		NO 20014824 A	04-10-2001
		TR 200102839 T2	22-04-2002

PATENT COOPERATION TREATY

179
59

From the
INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINING AUTHORITY

PCT

To:

VAN WEZENBEEK, P.M.G.F.
P.O. Box 20
NL-5340 BH Oss
PAYS-BAS

NOTIFICATION OF TRANSMITTAL OF INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

(PCT Rule 71.1)

Date of mailing
(day/month/year)

21/02/2003

Applicant's or agent's file reference
2001.668 WO

IMPORTANT NOTIFICATION

International application No.

PCT/EP 02/09648

International filing date (day/month/year)

29/08/2002

Priority date (day/month/year)

04/09/2001

Applicant

AKZO NOBEL N.V.

1. The applicant is hereby notified that this International Preliminary Examining Authority transmits herewith the international preliminary examination report and its annexes, if any, established on the international application.
2. A copy of the report and its annexes, if any, is being transmitted to the International Bureau for communication to all the elected Offices.
3. Where required by any of the elected Offices, the International Bureau will prepare an English translation of the report (but not of any annexes) and will transmit such translation to those Offices.

4. REMINDER

The applicant must enter the national phase before each elected Office by performing certain acts (filing translations and paying national fees) within 30 months from the priority date (or later in some Offices)(Article 39(1))(see also the reminder sent by the International Bureau with Form PCT/IB/301).

Where a translation of the international application must be furnished to an elected Office, that translation must contain a translation of any annexes to the international preliminary examination report. It is the applicant's responsibility to prepare and furnish such translation directly to each elected Office concerned.

For further details on the applicable time limits and requirements of the elected Offices, see Volume II of the PCT Applicant's Guide.

The applicant's attention is drawn to Article 33(5), which provides that the criteria of novelty, inventive step and industrial applicability described in Article 33(2) to (4) merely serve the purposes of international preliminary examination and that "any Contracting State may apply additional or different criteria for the purposes of deciding whether, in that State, the claimed inventions is patentable or not" (see also Article 27(5)). Such additional criteria may relate, for example, to exemptions from patentability, requirements for enabling disclosure, clarity and support for the claims.

Name and mailing address of the IPEA/



European Patent Office
D-80298 Munich
Tel. (+49-89) 2399-0, Tx: 523656 epmu d
Fax: (+49-89) 2399-4465

Authorized officer

OBERHAUSER A S

Tel. (+49-89) 2399 2828



PATENT COOPERATION TREATY

PCT

INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

(PCT Article 36 and Rule 70)

(Rationalised Report according to the Notice of the President of the EPO published in the OJ11/2001)

Applicant's or agent's file reference 2001.668 WO	FOR FURTHER ACTION See Notification of Transmittal of International Preliminary Examination Report (Form PCT/IPEA/416)	
International application No. PCT/EP 02/ 09648	International filing date (<i>day/month/year</i>) 29/08/2002	Priority date (<i>day/month/year</i>) 04/09/2001
International Patent Classification (IPC) or national classification and IPC C07D495/04		
Applicant AKZO NOBEL N.V.		

1. This international preliminary examination report has been prepared by this International Preliminary Examining Authority and is transmitted to the applicant according to Article 36.
2. This REPORT consists of a total of 2 sheets, including this cover sheet.

☐ This report is also accompanied by ANNEXES, i.e., sheets of the description, claims and/or drawings which have been amended and are the basis for this report and/or sheets containing rectifications made before this Authority (see Rule 70.16 and Section 607 of the Administrative Instructions under the PCT).

These annexes consists of a total of sheets.

3. This report contains indications relating to the following items:
 - I ☒ Basis of the report
 - II ☐ Priority
 - III ☐ Non-establishment of opinion with regard to novelty, inventive step and industrial applicability
 - IV ☐ Lack of unity of invention
 - V ☒ Reasoned statement under Article 35(2) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement
 - VI ☐ Certain documents cited
 - VII ☐ Certain defects in the international application
 - VIII ☐ Certain observations on the international application

Date of submission of the demand 03/02/2003	Date of completion of this report 18/02/2003
Name and mailing address of the IPEA/ European Patent Office D-80298 Munich Tel. (+49-89) 2399-0, Tx: 523656 epmu d Fax: (+49-89) 2399-4465	Authorized officer TZSCHOPPE D A Tel. (+49-89) 2399 2828



**INTERNATIONAL PRELIMINARY
EXAMINATION REPORT**International application No PCT/EP 02/ 09648

I. Basis of the report

The basis of this international preliminary examination is the application as originally filed.

V. Reasoned statement under Rule 66.2(a)(II) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability

In light of the documents cited in the international search report, it is considered that the invention as defined in the claims meets the criteria mentioned in Article 33 (1) PCT, i.e. it appears to be novel, to involve an inventive step and to be industrially applicable.

62

TRATADO DE COOPERACIÓN DE PATENTES
PCT
INFORME DE EXAMEN PRELIMINAR INTERNACIONAL
(Artículo 36 y Regla 70 del PCT)

Referencia del expediente del agente o solicitante 2001.688 WO	PARA ACTUACIONES ADICIONALES	Ver notificación de Transmisión del Reporte de Examen Preliminar (Formato PCT/IPEA416)
Solicitud Internacional No. PCT/EP02/09848	Fecha de presentación internacional (día/mes/año) 28/08/2002	Fecha de prioridad (día/mes/año) 04/08/2001
Clasificación Internacional de Patentes (IPC) o clasificación nacional e IPC C07D 495/04		
Solicitante AKZO NOBEL N.V.		

1. Este informe de examen preliminar internacional ha sido preparado por esta Administración encargada del Examen Preliminar Internacional y se envía al solicitante en concordancia con el artículo 36.

2. Este INFORME consta de una total de 2 hojas, incluyendo la portada

☐ Este informe también se acompaña de ANEXOS, esto es documentos de la descripción, reivindicaciones y/o dibujos que han sido corregidos y que son la base de este informe y/o documentos que contienen rectificaciones realizadas ante esta Administración (Ver Regla 70.16 y Sección 607 de las Instrucciones Administrativas según el PCT)

Estos anexos constan de un total de _____ hojas.

3. Este informe contiene indicaciones relativas a los siguientes aspectos:

I ☒ Fundamentos del Informe

II ☐ Prioridad

III ☐ No se establece concepto relativo a la novedad, nivel inventivo y aplicación industrial

IV ☐ Carencia de unidad de la invención

V ☒ Declaración razonada según el artículo 35(2), en relación con la novedad, nivel inventivo o aplicación industrial; citaciones y explicaciones que soportan dicha declaración

VI ☐ Ciertos documentos citados

VII ☐ Ciertos defectos de la solicitud internacional

VIII ☐ Ciertas observaciones respecto a la solicitud internacional

Fecha de presentación de la demanda 03/02/2003	Fecha de terminación de este reporte 18/02/2003
Nombre y dirección de correo de la autoridad encargada del examen preliminar  Oficina Europea de Patentes D-80299 Munich Tel. +49 89 2399 - 0 Tlx 523656 epmu d Fax +49 89 2399 - 4485	Funcionario Autorizado TZSCHOPPE D A Teléfono No. +49 89 2399-2782

I. Base del Informe

La base de este examen preliminar internacional es la solicitud como originilante fue presentada.

V. Declaración motivada según el Artículo 35(2) en cuanto a la novedad, el nivel inventivo y la aplicación Industrial; citas y explicaciones que apoyan esta declaración.

A la luz de los documentos citados en el informe de búsqueda internacional, se considera que la invención tal y como esta definida en las reivindicaciones cumple con los criterios mencionados en el Artículo 33(1) PCT, es decir parece ser novedosa, tener nivel inventivo y tener aplicación industrial.

Tieno[2,3-d]pirimidinas glicina-sustituidas con actividad
agonista LH Y FSH combinadas

La invención se relaciona con compuestos que tienen actividad agonista de la hormona glicoproteína, en particular con compuestos que tienen tanto actividad agonista de Hormona Luteinizante (LH) como de la Hormona Estimulante del Folículo. La invención se relaciona además con composiciones farmacéuticas que contienen la misma así como también el uso de estos compuestos en terapia médica, particularmente para usos como un control de fertilidad.

Las gonadotropinas sirven para importantes funciones en una variedad de funciones del cuerpo que incluyen metabolismo, regulación de temperatura y el proceso reproductivo. Las gonadotropinas hipofíseas FSH y LH por ejemplo juegan un papel de pivote en la estimulación del desarrollo del folículo y la maduración mientras que el LH está involucrado en la inducción del proceso ovulatorio (Sharp, R.M. Clin. Endocrinol 33, 787-807, 1990; Dorrington y Armstrong, Recent Prog. Horm. Res 35, 301-342, 1979; Levy et al, Human Reproduction 15,

2258-2265, 2000).

Habitualmente, el LH se aplica clínicamente, en combinación con el FSH, para estimulación del ovario es decir hiperestimulación del ovario para fertilización in vitro (IVF) e inducción de ovulación en mujeres anovulatorias infértiles (Insler, V., Int. J. Fertility 33, 85-97, 1988, Navot y Rosenwaks, J. Vitro Fert. Embryo Transfer 5, 3-13, 1988), así como también para hipogonadismo de machos e infertilidad de hembras.

Las gonadotropinas actúan sobre tipos de célula de gónada específicos para iniciar la diferenciación y la esteroidogénesis del ovario y testículos. Las acciones de estas hormonas pituitaria y de placenta son mediadas por receptores de membrana de plasma específicos que son miembros de la gran familia de los receptores acoplados G-proteína. Ellos consisten de un polipéptido simple con siete dominios de transmembrana y son capaces de interactuar con la proteína Gs, conduciendo a la activación de la adenil ciclasa.

Las gonadotropinas destinadas a propósitos terapéuticos se pueden aislar de las fuentes de orina humana y son de

baja pureza (Morse et al, Amer. J. Reproduct. Immunol. and Microbiology 17: 143, 1988). Alternativamente, ellas se pueden preparar como gonadotropinas recombinantes. Además de estas proteínas, los receptores de gonadotropinas se pueden activar o desactivar mediante compuestos sintéticos de bajo peso molecular. Los compuestos heteroaromáticos Biciclitos se han descrito en la Wo 00/61586. Mediante experimentos *in vitro* e *in vivo* ellos han mostrado ser útiles como agonistas LH.

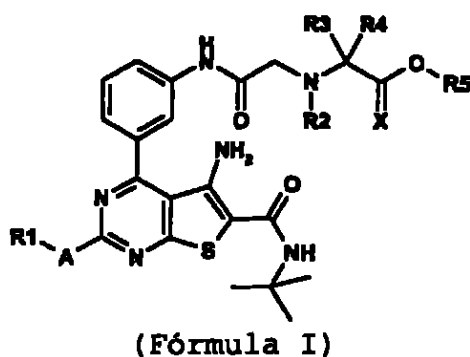
En hembras normales la liberación del LH y FSH de pituitaria se caracteriza por una ondulación de ciclo medio que precede la ovulación. La ovulación se caracteriza por tres distintos fenómenos fisiológicos es decir la maduración del oocito, ruptura folicular y luteinización. Aunque el papel de la ondulación de LH en la inducción *in vivo* de estos fenómenos no está en disputa, el papel de la ondulación de FSH es menos claro. Sin embargo, se ha mostrado recientemente que el FSH induce la maduración del oocito *in vitro* al inducir células cúmulos al producir un factor que soluciona positivamente la detención meiótica inducida por hipoxantina (Lu et al. Mol. Cell. Endocrinol. 164: 191-196, 2000). Se cree que este factor es un esteroide

activado por la meiosis (MAS).

La presente invención suministra compuestos de bajo peso molecular que muestran actividad LH. Además de la actividad LH inesperadamente ellos también tienen actividad HSH. En general estos compuestos son tieno[2,3-d]pirimidinas las cuales en la posición 4 del anillo de pirimidina están sustituidos por un grupo fenilo que a su vez está sustituido en la posición meta. Este sustituyente comprende un espaciador de 3 átomos (NH-C(O)-CH₂), el cual está además funcionalizado con un grupo amino sustituido. Generalmente

Los compuestos tienen actividad agonista FSH en grados variantes pero típicamente menos que la actividad agonista LH.

La presente invención reside en derivados de tieno[2,3-d]pirimidina sustituida por glicina de acuerdo con la fórmula general I,



o una sal farmacéuticamente aceptable de esta, en donde

X es O o H, H

A es S, NH, N(R⁶), O o un enlace;

R¹ es alquilo (C₁-C₄), alquenilo (C₂-C₄), fenilo o heteroarilo (C₂-C₅), el anillo de fenilo o heteroarilo opcionalmente están sustituidos con uno o más del grupo de sustituyentes: hidróxi, halógeno, nitro, triflorometilo, ciano, amino o (C₁-C₄)(di)alquilamino y

R² es H, alquilo (C₁-C₄), (C₁-C₄)alcoxi(C₂-C₄)alquilo o hidroxí (C₂-C₄)alquilo;

R³ y R⁴ pueden ser independientemente seleccionados de H, alquilo (C₁-C₄) e hidrófilo (C₁-C₄)alquilo;

R⁵ es H o alquilo (C₁-C₄).

R⁶ puede ser seleccionado de los mismos grupos que se describieron para R¹.

El término alquilo (C_1-C_4) como se utiliza en la definición de la fórmula I significa un grupo alquilo ramificado o no ramificado que tiene 1-4 átomos de carbono, siendo el metilo, etilo, n-propilo, isopropilo, n-butilo, sec-butilo o tert-butilo.

El término alquenilo (C_2-C_4) como se utiliza en la definición de la fórmula I significa un grupo alquenilo ramificado o no ramificado que tiene 2-4 átomos de carbono, siendo vinilo, 1-propenilo, 2-propenilo, 1-metil-vinilo, 1-butenilo, 2-butenilo, 3-butenilo, 2-metil-1-propenil, 2-metil-2-propenilo, 1-metil-1-propenilo, 1-etil-vinilo.

El término (C_1-C_4)alcoxi (C_1-C_4)alquilo significa un grupo alquilo que tiene 1-4 átomos de carbono, unido por vía de un átomo de oxígeno a otro grupo alquilo que tiene 1-4 átomos de carbono, Las porciones alquilo tiene el mismo significado que se definió previamente.

El término (C_1-C_4)alcoxi(C_2-C_4)alquilo significan un grupo alquilo que tienen 1-4 átomos de carbono, unido por vía de un átomo de oxígeno a otro grupo alquilo que tiene 2-4 átomos de carbono, las porciones alquilo tienen el

mismo significado como se definió previamente.

El término hidroxí(C₁-C₄)alquilo significa un grupo hidroxilo unido a un grupo alquilo que tiene 1-4 átomos de carbono, la porción alquilo tiene el mismo significado que se definió previamente.

El término hidroxí(C₂-C₄)alquilo significa un grupo hidrófilo unido a un grupo alquilo que tiene 2-4 átomos de carbono, la porción alquilo tiene el mismo significado que se definió previamente.

El término (C₁-C₄)(di)alquilamino significa uno o dos grupos alquilo que tienen 1-4 átomos de carbono como se definió previamente, unidos a un átomo de nitrógeno.

El término heteroarilo(C₂-C₅) significa un grupo aromático, opcionalmente sustituido, que tiene 2-5 átomos de carbono, al menos incluyendo un heteroátomo seleccionado de N, O y/o S, como imidazolilo, tienilo, furilo o piridilo.

El término halógeno significa fluoruro, bromuro o yoduro.

Se ha mostrado que los compuestos anteriormente mencionados de la fórmula I muestran actividad LH y FSH agonista. En un bioensayo *in Vitro* utilizando célula CHO establemente transfectadas con el receptor LH o FSH humano, respectivamente, el EC_{50} con relación al receptor LH se encontró que era menor a la $5 \cdot 10^{-8}$ M mientras con relación al receptor FSH el EC_{50} era menos de 10^{-5} M. Típicamente la actividad FSH varía desde una actividad de aproximadamente 1% de estimulación agonista LH a aproximadamente 10% de estimulación agonista LH.

La invención además reside en una composición farmacéutica que comprende un compuesto derivado de tieno[2,3-d]pirimidina o sales de estos que tienen la fórmula general I.

Así, los compuestos de acuerdo con la invención se pueden utilizar en terapia. Un aspecto adicional de la invención reside en el uso de un compuesto de tieno[2,3-d]pirimidina que tiene la fórmula general I para la elaboración de un medicamento para el control de fertilidad, más preferiblemente la inducción de ovulación. Los presentes compuestos son utilizados para activar tanto los receptores LH como FSH. El compuesto de

la presente invención se puede utilizar por lo tanto en un método para tratar hembras con problemas de fertilidad.

Los compuestos de tieno[2,3-d]pirimidina de esta invención pueden poseer uno o más átomos de carbono quiral. Los compuestos pueden por lo tanto ser obtenidos como compuestos quiralmemente puros o como una mezcla de diastereómeros y/o enantiómeros. Los métodos para obtener los compuestos quiralmemente puros son bien conocidos en la técnica, por ejemplo, cristalización o cromatografía.

Para uso terapéutico, las sales de los compuestos de fórmula I son aquellas en donde el contraión es farmacéuticamente aceptable. Sin embargo, las sales de adición de ácido de bases de acuerdo con la fórmula I, también pueden encontrar uso, por ejemplo, en la preparación o purificación de un compuesto farmacéuticamente aceptable. Todas las sales, sean farmacéuticamente aceptables o no, están incluidas dentro del ámbito de la presente invención.

Ejemplos de sales de adición de ácido incluyen aquellas derivadas de ácidos minerales tales como ácido

clorhídrico, ácido fosfórico, ácido sulfúrico, preferiblemente ácido clorhídrico, y sale de ácidos orgánicos como ácido cítrico, ácido tartárico, ácido acético, ácido láctico, ácido maleico, ácido malónico, ácido fumárico, ácido glicólico, ácido succínico, y similares.

Las rutas de administración adecuadas para los compuestos de fórmula I o las sales farmacéuticamente aceptables de estas, también denominadas aquí como ingrediente activo son inyecciones intramusculares, inyecciones subcutáneas, inyecciones intravenosas o inyecciones intraperitoneales, administración oral o intranasal. Preferiblemente, los compuestos se pueden administrar oralmente. La dosis exacta y el régimen de administración del ingrediente activo, o una composición farmacéutica de esta, necesariamente dependerá del efecto terapéutico a ser logrado (tratamiento de infertilidad; contracepción), y pueden variar con el compuesto particular, la ruta de administración, y la edad y condición del sujeto individual a quien el medicamento le va ser administrado.

En general, la administración parenteral requiere dosis más bajas que otros métodos de administración que son más

dependientes de la absorción. Sin embargo, una dosis para humanos contiene preferiblemente 0,0001-25 mg por kg de peso de cuerpo. La dosis deseada puede ser presentada como una dosis o como subdosis múltiples administradas a intervalos apropiados a lo largo del día. En el caso de receptores hembras, las dosis se pueden administrar a intervalos apropiados diariamente a lo largo del ciclo menstrual para soporte folicular o como una dosis simple para inducción de ovulación. Las dosis así como el régimen de administración pueden diferir entre el receptor hembra y un macho.

En caso de aplicaciones *in vitro* o *ex vivo*, como en aplicaciones IVF, los compuestos de la invención se deben utilizar en el medio de incubación en una concentración de aproximadamente 0,01-5µg/ml.

La presente invención también se relaciona así con unas composiciones farmacéuticas que comprenden un compuesto de tieno[2,3-*d*]pirimidina de acuerdo con la fórmula I en mezcla con auxiliares farmacéuticamente aceptables, y opcionalmente otros agentes terapéuticos. Los auxiliares deben ser "aceptables" en el sentido de ser compatibles con los otros ingredientes de la composición y no

deletéreos a los receptores de esta.

Las composiciones farmacéuticas incluyen a aquellas adecuadas para administración oral, rectal, nasal, tópica (incluyendo transdérmica, bucal y sublingual), vaginal o parenteral (incluyendo subcutánea, intramuscular, intravenosa, e intradérmica) Las composiciones se pueden preparar mediante cualquier método bien conocido en la técnica de farmacia, por ejemplo, utilizando métodos tales como aquellos descritos en Gennaro et al., Remington Pharmaceutical Sciences (18ed., Mack Publishing Company, 1990, ver especialmente Parte 8: *Pharmaceutical Preparations and Their Manufacture*).

Tales métodos incluyen la etapa de traer en asociación el ingrediente activo con cualquier agente auxiliar. El o los agentes auxiliares, también denominados ingredientes accesorios, incluyen aquellos convencionales en la técnica (Gennaro, *supra*), tales como, llenadores, ligadores, diluyentes, desintegrantes, lubricantes, colorantes, agentes saborizantes y agentes humectantes.

Las composiciones farmacéuticas adecuadas para administración oral pueden estar presentes como unidades

de dosis discretas tales como píldoras, tabletas o cápsulas, o un polvo o gránulos, o como una solución o suspensión. El ingrediente activo también puede estar presente como un bolo o pasta. Las composiciones pueden además ser procesadas en un supositorio o enema para administración rectal.

Para administración parenteral, las composiciones adecuadas incluyen inyección estéril acuosa y no acuosa. Las composiciones pueden estar presentes en recipientes de dosis unitaria o de multidosis, por ejemplo frascos sellados y ampollas, y se pueden almacenar en una condición de secado por congelamiento (liofilizada) que requiere solo la adición de un portador líquido estéril, por ejemplo, agua antes de uso.

Las composiciones, o formulaciones, adecuadas para la administración mediante inhalación nasal incluyen polvos finos o nieblas que se pueden generar por medio de aerosoles, nebulizadores o insufladores presurizados con dosis medidas.

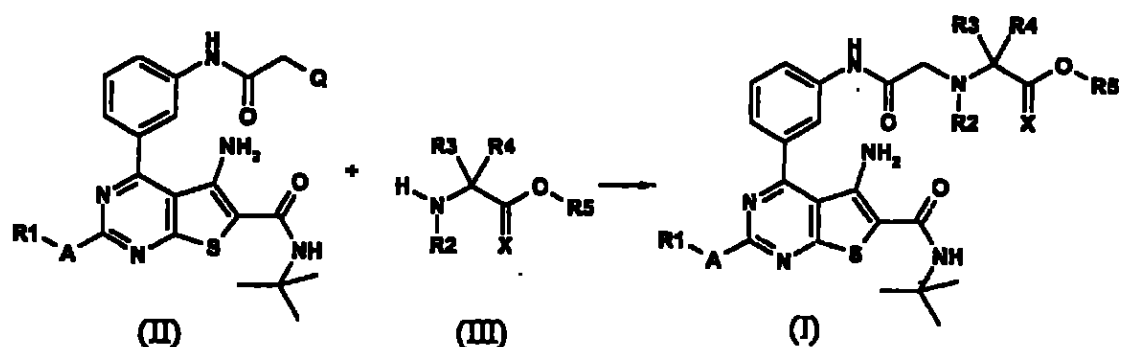
Los compuestos de tieno[2,3-d]pirimidina de la invención se pueden administrar en la forma de dispositivos

farmacéuticos implantables, que consisten de un núcleo de material activo, recubierto por una membrana con proporción regulatoria. Tales implantes se deben aplicar subcutáneamente o localmente, y liberarán el ingrediente activo a una proporción aproximadamente constante durante relativamente largos periodos de tiempo, por ejemplo de semanas a años. Los métodos para la preparación de los dispositivos farmacéuticos implantables como tales son conocidos en la técnica, por ejemplo como se describe en la Patente europea 0,303,306 (AKZO N.V.)

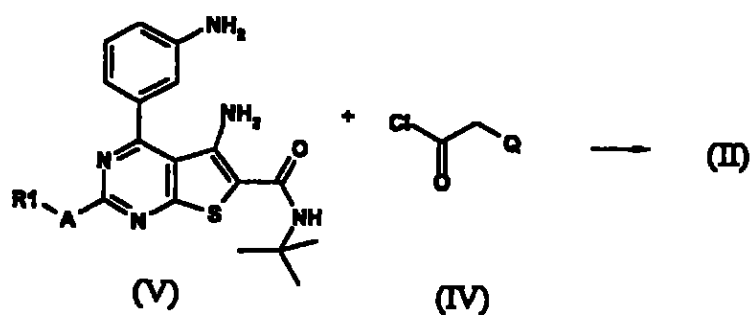
De esta manera, los compuestos de acuerdo con la presente invención se pueden utilizar con los mismos propósitos clínicos que el LH nativo, con la ventaja de que ellos poseen actividad FSH, muestran propiedades de estabilidad alterada y se pueden administrar de manera diferente.

Los compuestos de la presente invención, representados por la fórmula (I) pueden ser preparados generalmente mediante sustitución nucleofílica de compuestos de la fórmula general (II) en donde Q = CL o Br con amins de la fórmula general (III) en un solvente apropiado tal como N,N-dimetilformamida o THF a temperatura ambiente en la presencia de una base terciaria tal como N,N-

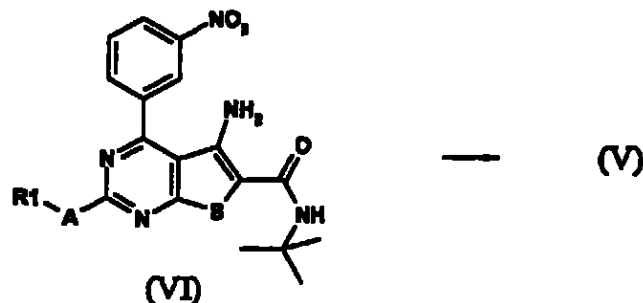
diisopropiletilamina. Muchas aminas de la fórmula general (III) están comercialmente disponibles.



Los derivados de fórmula (II) en donde Q = Cl o Br se pueden preparar mediante acilación regioselectiva de un derivado de meta anilina de la fórmula (V-a) con acil cloruros del tipo (IV), en donde Q = Cl o Br en la presencia de una base terciaria tal como N,N-diisopropiletilamina en un solvente adecuado tal como diclorometano o THF.

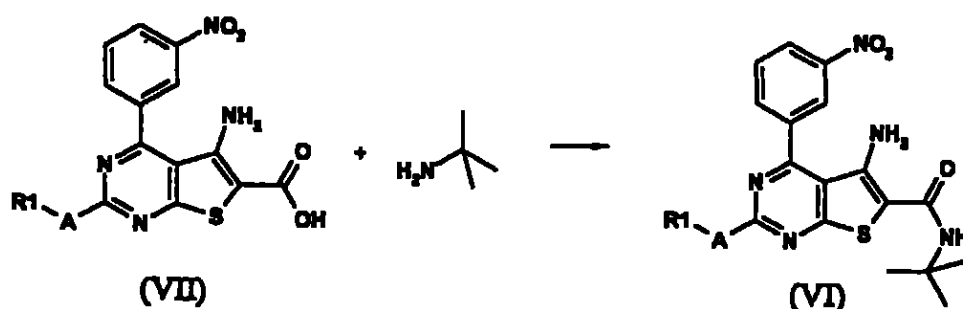


Los compuesto de fórmula (V) son accesibles mediante reducción conocida en la técnica de la función nitro en derivado de fórmula (VI) utilizando un agente reductor apropiado tal como en la presencia e un catalizador de metal (Pd/Pt). Las reducciones relacionadas se han descrito en P. M. Garabateas, P.R. Brundage, K.O. Gelotte, M.D. Gruet, R.R. Lorenz, J. Heterocicl. Chem. 21 1849 (1984). Alternativamente, la reducción se puede afectar con cloruro de estaño (II) en un solvente prótico tal como etanol en la presencia de ácido clorhídrico a temperatura elevada (J. Heibron, J. Chem. Soc, 1279 (1940)).

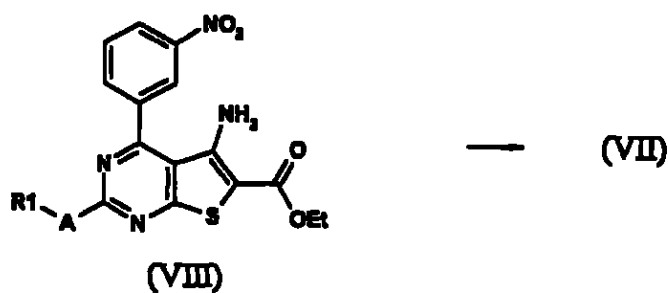


La tienopirimidina (VI) son accesibles por condensación de ácidos carboxílicos (VII) con tert-butilamina bajo la influencia del agente acoplante tal como

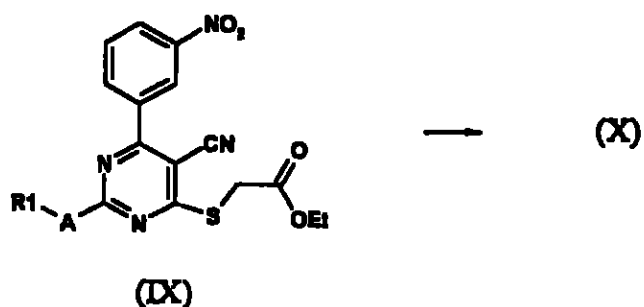
tetrafluoroborato de O-(-benzotriazol-1-il)-N,N,N',N'-tretametiluronio (TBTU) o hexafluorofosfato de bromotripirrolidinofosfonio (PyBrOP) y una base terciaria, por ejemplo N,N-diisopropiletilamina.



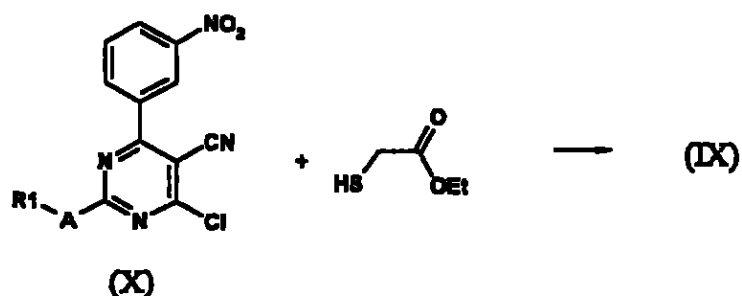
La saponificación del éster de etilo CORRESPONDIENTE (VIII) a ácidos carboxílicos o (VII) tiene lugar en la presencia de una base tal como hidróxido de litio, hidróxido de potasio o hidróxido de sodio en dioxano acuoso a temperatura elevada (80°C a reflujo).



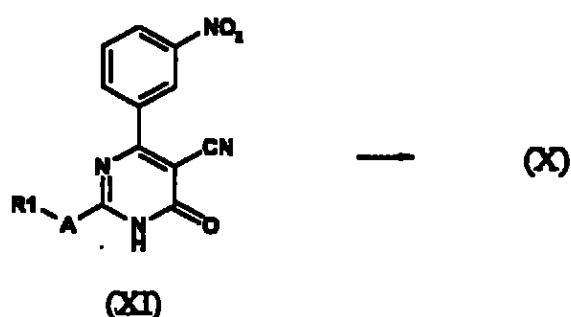
Los sistemas biciclos de la fórmula general (VIII) se forman mediante sustitución de cloruros de la fórmula (X) con etil mercaptoacetato bajo la agencia de N,N-diisopropiletilamina, seguida por el cierre de anillo catalizado por base del tioeter intermedio (IX). Este tipo de formaciones de anillo de tieno[2,3-d]pirimidina se ha descrito en: S.A. Abdel-Hady, M.A. Badaway, Y. A. Ibrahim, Sulfur, Lett. 9, 101 (1989) and S. Tumkevicius, Liebigs Ann, 1703 (1995).



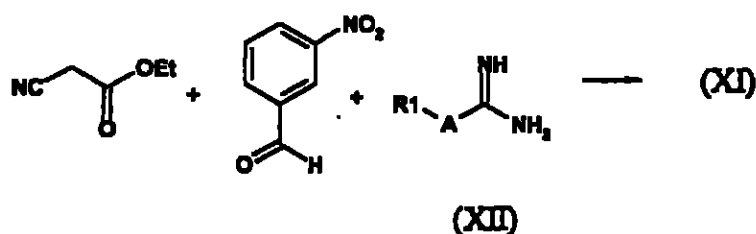
Las condiciones adecuadas para la reacción de ciclización son etóxido de sodio en etanol o N,N-diisopropiletilamina en tolueno/etanol (1/1, v/v) a temperatura de reflujo.



Los compuestos de fórmula (X) se pueden sintetizar siguiendo los procedimientos de la literatura como se describen por ejemplo mediante A.A. Santilli, D.H. Kim S.V. Wanser, J. Heterocicl. Chem. 8, 445, 1971. En un experimento típico, una amida de la estructura general (XI) se trata con POCl₃ a temperatura elevada (80% C a reflujo). La adición de un solvente apropiado, por ejemplo dioxano y/o la adición de cualquiera de PCl₅ o N,N-dimetilanilina a la mezcla de reacción puede resultar en tiempos de reacción más cortos y producciones más altas de cloruros (X).

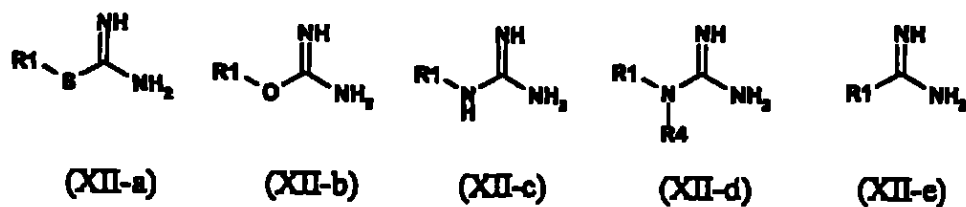


Una ruta general hacia lactamas de la fórmula (XI) comprende condensación de etil cianoacetato con 3-nitrobenzaldehído y compuestos (XII), que pueden ser isotiourea (XII-a), isourea (XII-b), guanidinas monosustituidas (XII-c), guanidinas disustituidas (XII-d) o amidinas (XII-e).

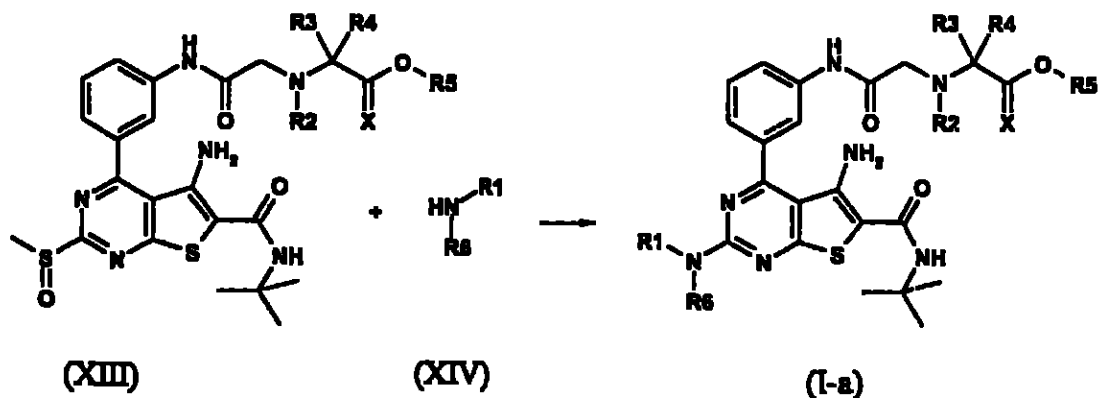


En un experimento típico, el cianoacetato de etilo, el 3-nitrobenzaldehído y el derivado (XII) se suspenden en un solvente apropiado, por ejemplo, etanol, metanol, N,N-dimetilformamida, N-metilpirrolidinona, tetrahidrofurano o piridina y se agrega una base tal como carbonato de potasio, acetato de sodio, metóxido de sodio o etóxido de sodio. La reacción tiene lugar a temperatura elevada (70°C a reflujo). Después de la filtración, los residuos son tomados hasta en agua y acidificados (pH 2) después de lo cual los productos (XI) se precipitan (S. Kambe, K.

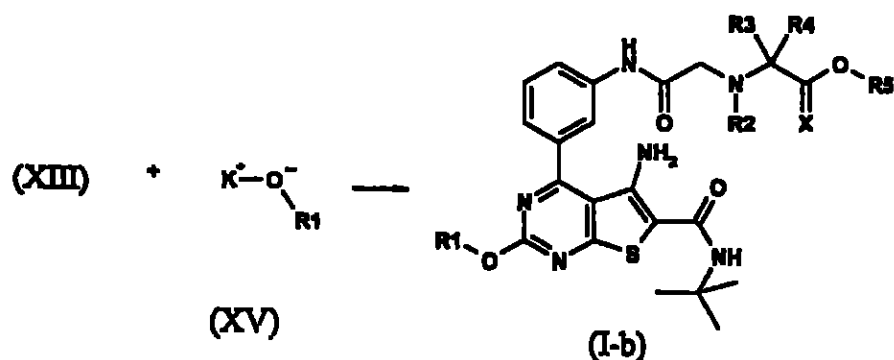
Saito y H. Kishi, síntesis, 287 (1979); A.M. Abd-Elfattah, S.M. Hussain y A.M. El-Reedy, Tetrahedron 39, 3197 (1983); S.M. Hussain, A.A. El-Barbary y S.A. Mansour, J. Heterocicl. Chem. 22, 169 (1985)).



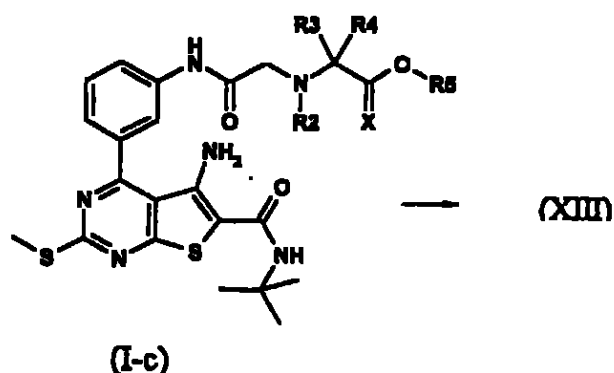
Alternativamente, los compuestos de la presente invención en donde A = N, representados por la fórmula (I-a), se puede preparar de derivados de sulfoxido de la fórmula general (XIII) vía sustitución nucleofílica con nucleófilos de amina de la estructura general (XIV). La reacción se conduce típicamente a temperatura elevada en la presencia de una base terciaria tal como N,N-diisopropiletilamina en un solvente apropiado tal como 1,4-dioxano.



Similarmente, los compuestos de la presente invención en donde A O O, representados por la fórmula (I-b), se pueden preparar de derivados de sulfóxido de la fórmula general (XIII) por vía de sustitución nucleofílica con nucleófilos de alcóxido de la estructura general (XV). La reacción se lleva a cabo en la presencia de tert-butoxido de potasio con un exceso de alcohol R^1-OH .



Los derivados de sulfóxido de la fórmula general (XIII) son accesibles mediante oxidación de los compuestos de la fórmula general (I), en donde $R^1 = \text{Me}$ y $A = \text{S}$, representados por la fórmula (I-c). La oxidación se efectúa mediante ácido 3-clorperbenzoico en ácido trifluoroacético. La naturaleza ácida del solvente evita la oxidación de grupo 5-amino al correspondiente derivado 5-nitroso.



Los métodos para determinar la unión del receptor así como también los ensayos *in vivo* e *in Vitro* para determinar la actividad biológica de las gonadotropinas son bien conocidos. En general, el receptor expresado es puesto en contacto con el compuesto a ser ensayado y la unión o estimulación o inhibición de una respuesta funcional se mide.

Para medir una respuesta funcional ADN aislado que codifica el gen de los receptores de LH o de FSH, preferiblemente el receptor humano, se expresan en células hospederas adecuadas. Tal célula podría ser la célula de ovario de hámster chino, pero también otras células son adecuadas. Preferiblemente las células son de origen de mamífero (Jia et al, Mol. Endocrin., 5:759-776, 1991.

Los métodos para construir líneas de células que expresan LH o FSH recombinantes son bien conocidos en la técnica (Sambrook et al., Molecular Cloning: a Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratory Pres, Cold Spring Harbor, última edición). La expresión del receptor se logra mediante la expresión del ADN que codifica la proteína deseada. Las técnicas para la mutagénesis dirigida a sitio, la ligazón de las secuencias adicionales, PCR, y la construcción de sistemas de expresión adecuados son todas, actualmente, bien conocidas en la técnica. Las porciones o todo el ADN que codifica la proteína deseada se puede construir sintéticamente utilizando técnicas de fase sólida estándar, preferiblemente que incluye sitios de restricción para facilidad de la ligazón. Los

elementos de control adecuados para la transcripción y traducción de la secuencia codificante incluida se pueden suministrar a las secuencias codificantes de ADN. Así como es bien conocido, los sistemas de expresión que están ahora disponibles son compatibles con una alta variedad de huéspedes, incluyendo huéspedes procarióticos tales como bacterias y huéspedes eucarióticos tales como levadura, células de plantas, células de insectos, células de mamíferos, células de aves y similares.

Las células que expresan el receptor son entonces puestas en contacto con el compuesto de ensayo para observar la unión, o estimulación o inhibición de una respuesta funcional.

Alternativamente las membranas de célula aislada que contienen el receptor expresado se pueden utilizar para medir la unión del compuesto.

Para la medición de la unión se pueden utilizar compuestos etiquetados radio activa o fluorescentemente. Como compuesto de referencia se puede utilizar LH o FSH humano recombinante. En la alternativa también se pueden desarrollar ensayos de unión de competición.

Otros ensayos involucran el tamizado de compuestos agonistas de receptores de LH o FSH al determinar la estimulación del receptor mediado por acumulación de cAMP. De esta manera, tal método involucra la expresión del receptor de la superficie de célula de una célula huésped y exponer la célula al compuesto de ensayo. La cantidad de cAMP es entonces medida. El nivel de cAMP se reducirá o incrementará, dependiendo del efecto inhibitorio o estimulante del compuesto de ensayo luego de la unión al receptor.

Además de la medición directa de por ejemplo los niveles de cAMP en la célula expuesta, las células se pueden utilizar las cuales además de la transfección con un ADN que codifica al receptor son también transfectadas con un segundo ADN que codifica un gen reportero cuya expresión responde al nivel de cAMP. Tales genes reporteros podrían ser cAMP inducibles o podrían ser contruidos de tal manera que ellos sean conectados a elementos de respuesta cAMP novedosos. En general, la expresión del gen reportero se podría controlar mediante cualquier elemento de respuesta que reaccione con los niveles de cambio de cAMP. Los genes reporteros adecuados son por ejemplo

LacZ, fosfatasa alcalina, luciferaza de fuego y la proteína de fluorescencia verde. Los principales de tales ensayos de transactivación son bien conocidos en la técnica y son descritos por ejemplo en Estratowa, Ch, Himmler, A y Czernilofski, A. P., (1995) Curr. Opin. Biotechnol. 6:574.

Para Seleccionar compuestos activos en los receptores LH o FSH, ensayos a 10^{-5} M deben resultar en una actividad de más del 20% de la actividad máxima cuando LH o FSH es usado como referencia. Otro criterio puede ser el valor EC_{50} , que debe ser menor a 10^{-5} M, preferiblemente menor a 10^{-7} M.

Los expertos reconocerán que deseablemente los valores EC_{50} son dependientes del compuesto ensayado. Por ejemplo, un compuesto con un EC_{50} , que es menor de 10^{-5} M es generalmente, considerado un candidato para selección de droga. Preferiblemente este valor es inferior a 10^{-7} M. Sin embargo, un compuesto que tenga un EC_{50} mayor, pero es selectivo para el receptor particular, puede aún ser un mejor candidato.

Tamizando los compuestos agonistas receptores de LH

también se puede desarrollar al utilizar un bioensayo de células de ratón Leydig (Van Damme, M., Robersen, D. y Diczfalusy, E. (1974). Acta Endocrinol. 77: 655-671 Mannaerts, B. Kloosterboer, H. y Schuurs, A., (1987) Neuroendocrinology of Reproduction. R. Rolland et al. Ediciones., Elsevier Science Publishers B. V., 49-58. En este ensayo, la estimulación del receptor LH mediado por producción de testosterona puede ser medida en células Leydig aisladas de ratones macho. .

La actividad agonística del FSH de los compuestos puede también ser determinada en un modelo ex vivo usando folículos cultivados de ratón de acuerdo con Nayudu, P. Y Osborn, S. (1992), J. Reproduction and Fertility 95:349-362). Por lo tanto, los folículos de ovario de ratón son aislados y cultivados en la presencia de compuestos agonistas FSH para inducir el crecimiento folicular. Las mediciones del diámetro folicular y el estradiol en el medio de cultivo son indicativos del crecimiento folicular.

Para medir la actividad in vivo de los compuestos LH, la inducción de ovulación en ratones inmaduros puede ser estudiada. En este ensayo los ratones hembras inmaduros

son iniciados con FSH urinario y aproximadamente 48 horas después tratados con un compuesto agonista LH. Los animales son muertos después del tratamiento agonista LH y el número de ova en el oviducto se evalúa microscópicamente.

Para medir la actividad FSH *in vivo* de los compuestos se tratan ratas hembras inmaduras a 0, 8, 24 y 32 horas con un compuesto agonista FSH para inducir el crecimiento folicular. 52 horas después del inicio del experimento los animales son inyectados con hCG para inducir la ovulación. Los animales son muertos 72 horas después del inicio del experimento y el número de ova en el oviducto es evaluado microscópicamente. Se determina además el peso del ovario.

Los compuestos de la presente invención pueden ser aplicados clínicamente en aquellos regímenes en donde ahora es usado el LH o el hCG. Estos incluyen la sustitución de LH entre sujetos con hipogonadismo hipogonadal sea en macho o hembra, la administración en ciclos medios para inducir la ovulación (inducción de ovulación (OI) o hiperestimulación controlada (COH) o estimulación del corpus luteum.

Los siguientes ejemplos son ilustrativos para la invención y no deben ser interpretados de ninguna manera como limitativos del alcance de la invención.

EJEMPLOS

Ejemplo 1

5-amino-2-metiltio-4-(3-((N-metil-N-(2-hidroxietil)-glicinil)-amino)-fenil)-tieno[2,3-d]pirimidina-6-carboxamida de terc-butilo

(a). 5-ciano-4-(3-nitrofenil)-2-metiltio-6-hidroxipirimidina

Una mezcla de sulfato de S-metilisotiurea (69,0 g), 3-nitrobenzaldehído (75,0 g), etil cianoacetato (56,0 ml) y carbonato de potasio (72,5 g) en abs. EtOH absoluto (1500 ml) fueron agitados a 60°C durante 16 horas. La mezcla de reacción fue enfriada a 0°C en un baño de hielo. El precipitado resultante fue filtrado, lavado con abs. EtOH abs y se disolvió en agua caliente (100°C). La solución fue enfriada a temperatura ambiente de cuarto,

acidificada con HCL al 2N hasta un pH 2 y enfriada a 0°C en un baño de hielo. El precipitado resultante fue filtrado y se lavó con agua de hielo. El agua residual en el precipitado fue removida por coevaporación con 1,4-dioxano.

Producción: 54,0 g

MS-ESI: $[M+H]^+ = 289,0$

TLC: $R_f = 0,3$, sílica gel, DCM/MeOH = 9/1
(v/v).

(b). 6-cloro-5-ciano-4-(3-nitrofenil)-2-metiltio-
pirimidina

$POCl_3$ (100 ml) fue agregado a una solución agitada de 5-ciano-4-(3-nitrofenil)-2-metiltio-6-hidroxi-pirimidina (ejemplo 1 (a), 25,0 g) en 1-4-dioxano seco (300 ml). Después de 3 horas a 90°C la mezcla fue enfriada a temperatura ambiente y concentrada bajo presión reducida. El residuo fue disuelto en 1,4-dioxano (100 ml) y la solución resultante fue enfriada a 0°C. Agua con hielo fue agregada cuidadosamente. El precipitado resultante fue filtrado y lavado con agua. El agua residual en el precipitado fue removida por coevaporación con 1,4-

dioxano.

Producción: 26,0 g
MS-ESI: $[M+H]^+ = 307,0$
TLC: $R_f = 0,5$, sílica gel, heptano/EtOAc =
3/2 (v/v).

(c)etil5-ciano-4-(3-nitrofenil)-2-metiltio-6-
(etoxicarbonilmetiltio)-pirimidina.

DIPEA (15,7 ml) fue agregado a una solución agitada de 2-mercaptoacetato de etilo (9,3 ml) y 6-cloro-5-ciano-4-(3-nitrofenil)-2-metiltio-pirimidina (ejemplo 1 (b), 26,0 g) en una mezcla de EtOH (250 ml) y DCM (250 ml). Después de 1 h a temperatura ambiente de cuarto, se agregó HCl acuoso al 0,1 N (500 ml) a la mezcla la cual fue entonces extraída con DCM (3 x 500 ml), secada ($MgSO_4$) y concentrada bajo presión reducida.

Producción: 28,0 g
MS-ESI: $[M+H]^+ = 391,4$
TLC: $R_f = 0,5$, sílica gel, heptano/EtOAc =
3/2 (v/v).

(d). Etil 5-amino-4-(3-nitrofenil)-2-metiltio-tieno [2,3-d]pirimidina-6-carboxilato.

Una mezcla de etil 5-ciano-4-(3-nitrofenil)-2-metiltio-6-(etoxicarbonilmetiltio)-pirimidina (ejemplo 1(c), 28.0 g) y DIPEA (30 ml) en una mezcla de tolueno (150 ml) y EtOH (150 ml) fue agitado a temperatura de reflujo (100°C) durante 16 h. La mezcla fue entonces enfriada a temperatura ambiente de cuarto y concentrada bajo presión reducida. El DIPEA residual fue removido por coevaporación con tolueno.

Producción: 28,0 g

MS-ESI: $[M+H]^+ = 391,4$

TLC: $R_f = 0,6$, Silica gel, heptano/EtOAc = 3/2 (v/v).

(e). Etil 5-amino-4-(3-aminofenil)-2-metiltio-tieno [2,3-d]pirimidina-6-carboxilato.

EtOH (400 ml) fue agregado a una mezcla de etil 5-amino-4-(3-nitrofenil)-2-metiltio-tieno[2,3-d]pirimidina-6-carboxilato (ejemplo 1(d), 28,0 g) HCl acuoso concentrado (15 ml) y cloruro de estaño (II) (41,0 g) en 1,4-dioxano

(400 ml). La mezcla fue agitada a 90°C durante 16 h. La mezcla fue entonces enfriada a temperatura ambiente de cuarto y concentrada bajo presión reducida. El residuo fue suspendido en EtOAc (1000 ml).

NaOH acuoso al 4N fue agregado para obtener un pH entre 10 y 11. La mezcla fue agitada vigorosamente y la capa orgánica fue separada, secada (MgSO_4) y concentrada bajo presión reducida.

Producción: 21,0 g

MS-ESI: $[\text{M}+\text{H}]^+ = 361,0$

TLC: $R_f = 0,6$, sílica gel, heptano/EtOAc = 3/2 (v/v).

(F). Ácido 5-amino-4-(3-aminofenil)-2-metiltio-tieno [2,3-d]pirimidina-6-carboxílico.

Hidróxido de potasio (32,4 g) fue agregado a una solución de etil 5-amino-4-(3-aminofenil)-2-metiltio-tieno[2,3-d]pirimidina-6-carboxilato (ejemplo 1(e), 21,0 g) en una mezcla de 1,4-dioxano(300 ml) y agua (100 ml). Después de 16 h a 90°C, la mezcla fue enfriada a 10°C y ácido cítrico acuoso al 2N (300 ml) fue agregado bajo agitación

vigorosa. El precipitado resultante fue filtrado y lavado con agua (180 ml) y secado en vacío.

Producción: 14,0 g
MS-ESI: $[M+H]^+ = 333,0$
TLC: $R_f = 0,5$, sílica gel, DCM/MeOH= 9/1
(v/v).

(g). Tert-butil 5-amino-4-(3-aminofenil)-2-metiltio-tieno
[2,3-d]pirimidina-6-carboxamida.

TBTU (16,1 g) fue agregado a una solución de ácido 5-amino-4-(3-aminofenil)-2-metiltio-tieno[2,3-d]pirimidina-6-carboxílico (ejemplo 1(f), 14,0 g), DIPEA (17,4 ml) y tert-butilamina (7,3 g) en DCM/DMF (1/1, v/v, 250 ml). Después de 3 h a una temperatura ambiente de cuarto, la mezcla fue diluida con DCM (50 ml), se lavo con NaHCO_3 acuoso saturado (3 x 100 ml), HCl acuoso al 0,1 N (100 ml) y agua (100 ml). La capa orgánica fue concentrada bajo presión reducida. El producto crudo fue purificado por cristalización a partir de abs. EtOH caliente (300 ml).

Producción: 10,5 g

MS-ESI: $[M+H]^+ = 388,2$

HPLC: $R_f = 30,72$ min, Luna C-18(2), 5 μ m, 250 x 2,0 mm, detección de UV=210 nm, temperatura de horno = 40°C, flujo = 0,25 ml/min eluyente agua/ACN/MeOH = 90/9,5/0,5 a 0/95-5, tiempo de corrida = 50 min.

(h). Tert-butil 5-amino-2-metiltio-(4)-(3-(2-bromoacetamido)-fenil)-tieno [2,3-d]pirimidina-6-carboxamida.

Bromoacetilcloruro (615 mg) fue agregado a una solución de Tert-butil 5-amino-2-metiltio-4-(3-aminofenil)-tieno[2,3-d]-pirimidina-6-carboxamida (ejemplo 1(g), 1,08 g) y DIPEA (2,43 ml) en DCM seco (20 ml). Después de 3 h a una temperatura ambiente e cuarto, la mezcla fue diluida con DCM, lavada con NaHCO₃ acuoso saturado, secada (MgSO₄) y concentrada bajo presión reducida. El producto crudo fue purificado por cromatografía sobre sílica gel usando heptano/EtOAc = 3/2 (v/v) como eluyente.

Producción: 910 mg

MS-ESI: $[M+H]^+ = 510,2$

TLC: $R_f = 0,3$ sílica gel, heptano/EtOAc =

3/2 (v/v).

(i). Tert-butil 5-amino-2-metiltio-(4)-(3-(N-metil-N-(2-hidroxi-etil)-glicinil)-amino)-fenil)-tieno[2,3-d]pirimidina-6-carboxamida

N-metil-2-amino-etanol (250 mg) se agregó a una solución de tert-butil 5-amino-4-(3-(2-bromoacetamido)-fenil)-2-metiltio-tieno [2,3-d]pirimidina-6-carboxamida (ejemplo 1 (h), 250 mg) en DCM (5 ml). Después de 16 h a temperatura ambiente de cuarto, la mezcla se diluyó con DCM (50 ml), se lavó con NaHCO₃, acuoso saturado, secada (MgSO₄) y concentrada bajo presión reducida. El producto crudo fue purificado por HPLC usando una columna Luna C-18 con el siguiente gradiente: TFA acuoso al 0,1% + ACN acuoso al 10%/ACN = 90/10 a 10/90 (v/v) en 30 min. El compuesto titulado fue entonces liofilizado de una mezcla de 1,4-dioxano 0,1% de TFA acuoso y agua.

Producción: 112 mg (TFA-sal)

MS-ESI: [M+H]⁺ = 503,2

HPLC: R_t: 11,45 min, columna Luna C-18 (II),
3 µm, 100 x 2,0 mm, detección UV = 210 nm, temperatura de

horno = 40° C, flujo = 0,25 ml/min, eluyente de amortiguador de fosfato 50 mM pH 2,1/agua/ACN = 10/80/10 a 10/10/80 (v/v/v), tiempo de corrido = 20 min.

Ejemplo 2

5-amino-2-metiltio-4-(3-((N-(1-hidroxi-2-metil-prop-2-il)-glicinil)-amino)-fenil)-tieno[2,3-d]pirimidin-6-carboxamida de terc-butilo

Se agregó 2-amino-2-metil-propanol (250 mg) a una solución de 5-amino-4-(3-(2-bromoacetamido)-fenil)-2-metiltio-tieno[2,3-d]pirimidin-6-carboxamida de terc-butilo (ejemplo 1(h), 250 mg) en DCM (5 ml). Después de 16 h a temperatura ambiente, la mezcla se diluyó con DCM (50 ml), lavada con NaHCO₃ acuoso saturado, secado (MgSO₄) y concentrado bajo presión reducida. El producto crudo se purificó mediante HPLC usando una columna Luna C-18 con el siguiente gradiente: TFA acuoso al 0,1% + ACN acuoso al 10%/ACN = 90/10 a 10/90 (v/v) en 30 min. El compuesto titulado fue entonces liofilizado a partir de una mezcla de 1,4-dioxano, TFA acuoso al 0,1% y agua.

Producción: 67 mg (TFA-sal)

102

MS-ESI: $[M+H]^+ = 517,2$

HPLC: R_t : 12,67 min, columna Luna C-18(2), 3 μ m, 100 x 2,0 mm, detección UV = 210 nm, temperatura de horno = 40° C, flujo = 0,25 ml/min, eluyente de amortiguador de fosfato 50 mM pH 2,1/agua/ACN = 10/80/10 a 10/10/80 (v/v/v), tiempo de corrido = 20 min.

Ejemplo 3

5-amino-2-metiltio-4-(3-((N-(metoxicarbonilmetil)-glicinil)-amino)-fenil)-tieno[2,3-d]pirimidin-6-carboxamida de terc-butilo

Se agregó hidrocloreuro de glicina metil éster (200 mg) a una solución de 5-amino-4-(3-(2-bromoacetamido)-fenil)-2-metiltio-tieno[2,3-d]pirimidin-6-carboxamida de terc-butilo (ejemplo 1(h), 250 mg) y N,N-diisopropiletillamina (0,20 ml) en DCM (5 ml). Después de 16 h a temperatura ambiente, la mezcla se diluyó con DCM (50 ml), lavada con NaHCO₃ acuoso saturado, secado (MgSO₄) y concentrada bajo presión reducida. El producto crudo fue purificado mediante HPLC usando una columna Luna C-18 con el siguiente gradiente: TFA acuoso al 0,1% + ACN acuoso al

10%/ACN = 90/10 a 10/90 (v/v) en 30 min. El compuesto titulado fue entonces liofilizado a partir de una mezcla de 1,4-dioxano, TFA acuoso al 0,1% y agua.

Producción: 133 mg (TFA-sal)

MS-ESI: $[M+H]^+ = 517,2$

HPLC: R_t : 11,87 min, columna Luna C-18(2), 3 μ m, 100 x 2,0 mm, detección UV = 210 nm, temperatura de horno = 40° C, flujo = 0,25 ml/min, eluyente de amortiguador de fosfato 50 mM pH 2,1/agua/ACN = 10/80/10 a 10/10/80 (v/v/v), tiempo de corrido = 20 min.

Ejemplo 4

5-amino-2-metiltio-4-(3-((N-etil-N-(2-metoxietil)-glicinil)-amino)-fenil)-tieno[2,3-d]pirimidin-6-carboxamida de terc-butilo

Se agregó N-(2-metoxietil)-etilamina (266 mg) a una solución de 5-amino-4-(3-(2-bromoacetamido)-fenil)-2-metiltio-tieno[2,3-d]pirimidin-6-carboxamida de terc-butilo (ejemplo 1(h), 200 mg) en DCM (5 ml). Después de 16 h a temperatura ambiente, la mezcla se diluyó con DCM

(50 ml), lavada con NaHCO_3 acuoso saturado, secado (MgSO_4) y concentrado bajo presión reducida. El producto crudo fue purificado mediante HPLC usando una columna Luna C-18 con el siguiente gradiente: TFA acuoso al 0,1% + ACN acuoso al 10%/ACN = 90/10 a 10/90 (v/v) en 30 min. El compuesto titulado fue entonces liofilizado a partir de una mezcla de 1,4-dioxano, TFA acuoso al 0,1% y agua.

Producción: 84 mg (TFA-sal)

MS-ESI: $[\text{M}+\text{H}]^+ = 531,2$

HPLC: R_t : 12,62 min, columna Luna C-18(2), 3 μm , 100 x 2,0 mm, detección UV = 210 nm, temperatura de horno = 40° C, flujo = 0,25 ml/min, eluyente de amortiguador de fosfato 50 mM pH 2,1/agua/ACN = 10/80/10 a 10/10/80 (v/v/v), tiempo de corrido = 20 min.

Ejemplo 5

5-amino-2-metiltio-4-(3-((N-(R-1-metoxycarbonil-2-metil-prop-1-il)-glicinil)-amino)-fenil)-tieno[2,3-d]pirimidin-6-carboxamida de terc-butilo



Se agregó hidrocloreuro de D-Valina metil éster (250 mg) a una solución de 5-amino-4-(3-(2-bromoacetamido)-fenil)-2-metiltio-tiano[2,3-d]pirimidin-6-carboxamida de terc-butilo (ejemplo 1(h), 200 mg) y N,N-diisopropiletilamina (0,20 ml) en DCM (5 ml). Después de 16 h a temperatura ambiente, la mezcla se diluyó con DCM (50 ml), lavada con NaHCO₃ acuoso saturado, secado (MgSO₄) y concentrado bajo presión reducida. El producto crudo fue purificado mediante HPLC usando una columna Luna C-18 con el siguiente gradiente: TFA acuoso al 0,1% + ACN acuoso al 10%/ACN = 90/10 a 10/90 (v/v) en 30 min. El compuesto titulado fue luego liofilizado a partir de una mezcla de 1,4-dioxano, TFA acuoso al 0,1% y agua.

Producción: 77 mg (TFA-sal)

MS-ESI: [M+H]⁺ = 559,2

HPLC: R_t: 13,22 min, columna Luna C-18(2), 3 µm, 100 x 2,0 mm, detección UV = 210 nm, temperatura de horno = 40° C, flujo = 0,25 ml/min, eluyente de amortiguador de fosfato 50 mM pH 2,1/agua/ACN = 10/80/10 a 10/10/80 (v/v/v), tiempo de corrido = 20 min.

Ejemplo 6

5-amino-2-metiltio-4-(3-((N,N-bis-(2-metoxietil)-glicinil)-amino)-fenil)-tieno[2,3-d]pirimidin-6-carboxamida de terc-butilo

Se agregó N,N-bis-(2-metoxietil)-amina (400 mg) a una solución de 5-amino-4-(3-(2-bromoacetamido)-fenil)-2-metiltio-tiano[2,3-d]pirimidin-6-carboxamida de terc-butilo (ejemplo 1(h), 250 mg) en DCM (5 ml). Después de 16 h a temperatura ambiente, la mezcla se diluyó con DCM (50 ml), lavada con NaHCO₃ acuoso saturado, secado (MgSO₄) y concentrado bajo presión reducida. El producto crudo fue purificado mediante HPLC usando una columna Luna C-18 con el siguiente gradiente: TFA acuoso al 0,1% + ACN acuoso al 10%/ACN = 90/10 a 10/90 (v/v) en 30 min. El compuesto titulado fue luego liofilizado a partir de una mezcla de 1,4-dioxano, TFA acuoso al 0,1% y agua.

Producción: 166 mg (TFA-sal)

MS-ESI: [M+H]⁺ = 561,3

HPLC: R_t: 13,62 min, columna Luna C-18(2), 3 µm, 100 x 2,0 mm, detección UV = 210 nm, temperatura de horno

107

= 40° C, flujo = 0,25 ml/min, eluyente de amortiguador de fosfato 50 mm pH 2,1/agua/ACN = 10/80/10 a 10/10/80 (v/v/v), tiempo de corrido = 20 min.

Ejemplo 7

5-amino-2-metiltio-4-(3-((2,3-dihidroxi-prop-1-il)-glicinil)-amino)-fenil)-tieno[2,3-d]pirimidin-6-carboxamida de terc-butilo

Se agregó 3-amino-2-hidroxi-propanol (250 mg) a una solución de 5-amino-4-(3-(2-bromoacetamido)-fenil)-2-metiltio-tiano[2,3-d]pirimidin-6-carboxamida de terc-butilo (ejemplo 1(h), 250 mg) en DCM (5 ml). Después de 16 h a temperatura ambiente, la mezcla se diluyó con DCM (50 ml), lavada con NaHCO₃ acuoso saturado, secado (MgSO₄) y concentrado bajo presión reducida. El producto crudo fue purificado mediante HPLC usando una columna Luna C-18 con el siguiente gradiente: TFA acuoso al 0,1% + ACN acuoso al 10%/ACN = 90/10 a 10/90 (v/v) en 30 min. El compuesto titulado fue luego liofilizado a partir de una mezcla de 1,4-dioxano, TFA acuoso al 0,1% y agua.

Producción: 164 mg (TFA-sal)

MS-ESI: $[M+H]^+ = 519,2$

HPLC: R_t : 12,62 min, columna Luna C-18(2), 3 μ m,
100 x 2,0 mm, detección UV = 210 nm, temperatura de horno
= 40° C, flujo = 0,25 ml/min, eluyente de amortiguador de
fosfato 50 mM pH 2,1/agua/ACN = 10/80/10 a 10/10/80
(v/v/v), tiempo de corrido = 20 min.

Ejemplo 8

5-amino-2-metiltio-4-(3-((1,3-dihidroxi-prop-2-il)-
glicinil)-amino)-fenil)-tieno[2,3-d]pirimidin-6-
carboxamida de terc-butilo

Se agregó 2-amino-3-hidroxi-propanol (250 mg) a una
solución de 5-amino-4-(3-(2-bromoacetamido)-fenil)-2-
metiltio-tieno[2,3-d]pirimidin-6-carboxamida de terc-
butilo (ejemplo 1(h), 250 mg) en DCM (5 ml). Después de
16 h a temperatura ambiente, la mezcla se diluyó con DCM
(50 ml), lavada con NaHCO_3 acuoso saturado, secado (MgSO_4)
y concentrado bajo presión reducida. El producto crudo
fue purificado mediante HPLC usando una columna Luna C-18
con el siguiente gradiente: TFA acuoso al 0,1% + ACN
acuoso al 10%/ACN = 90/10 a 10/90 (v/v) en 30 min. El

109

compuesto titulado fue luego liofilizado a partir de una mezcla de 1,4-dioxano, TFA acuoso al 0,1% y agua.

Producción: 117 mg (TFA-sal)

MS-ESI: $[M+H]^+ = 519,2$

HPLC: R_t : 12,62 min, columna Luna C-18(2), 3 μ m, 100 x 2,0 mm, detección UV = 210 nm, temperatura de horno = 40° C, flujo = 0,25 ml/min, eluyente de amortiguador de fosfato 50 mM pH 2,1/agua/ACN = 10/80/10 a 10/10/80 (v/v/v), tiempo de corrido = 20 min.

Ejemplo 9

5-amino-2-fenil-4-(3-((N-etil-N-(2-hidroxietil)-glicinil)-amino)-fenil)-tieno[2,3-d]pirimidin-6-carboxamida de terc-butilo

(a). 5-ciano-4-(3-nitrofenil)-2-fenil-6-hidroxi-pirimidina

Una mezcla de hidrocloreuro de benzamidina (16,4 g), 3-nitrobenzaldehido (15,1 g), cianoacetato de etilo (11,2 ml) y carbonato de potasio (16,6 g) en EtOH absoluto (250



ml) se agitaron a 60° C durante 8 h. La mezcla de reacción fue enfriada a 0° C en baño de hielo. El precipitado resultante fue filtrado, lavado con EtOH absoluto y calentado en agua (100° C) hasta que se obtuvo una solución clara. La solución fue enfriada a 50° C, acidificada a un pH 2 mediante la adición de HCl acuoso al 2N y enfriada 0° C en baño de hielo. El precipitado resultante fue filtrado y lavado con agua helada. El agua residual se removi6 mediante coevaporación con 1,4-dioxano.

Producción: 15,0 g

MS-ESI: $[M+H]^+ = 319,2$

TLC: $R_f = 0,3$, gel de sílice, DCM/MeOH = 9/1
(v/v)

(b). 6-cloro-5-ciano-4-(3-nitrofenil)-2-fenil-pirimidina

POCl₃ (50 ml) se agregó a una solución agitada 5-ciano-4-(3-nitrofenil)-2-fenil-6-hidroxi-pirimidina (ejemplo 9(a), 15,0 g) y dimetilanilina (0,5 ml) en 1,4-dioxano seco p.a. (200 ml). Después de 3 h a 90° C, la mezcla tibia se filtr6 y el filtrado fue concentrado bajo presión reducida. El residuo se disolvi6 en 1,4-dioxano y

se agregó agua helada. El precipitado resultante se filtró y se lavó con agua. El agua residual se removió mediante coevaporación con 1,4-dioxano.

Producción: 15,8 g

MS-ESI: $[M+H]^+ = 337,4$

TLC: $R_f = 0,8$, gel de sílice, heptano/EtOAc = 3/2 (v/v).

(c). 5-ciano-4-(3-nitrofenil)-2-fenil-6-(etoxicarbonilmetiltio)-pirimidina de etilo

Se agregó DIPEA (8,71 ml) a una solución agitada de 2-mercaptoacetato de etilo (5,15 ml) y 6-cloro-5-ciano-4-(3-nitrofenil)-2-fenil-pirimidina (ejemplo 9(b), 15,8 g) en una mezcla de EtOH (125 ml) y DCM (125 ml) bajo una atmósfera de nitrógeno. Después de 2 h a temperatura ambiente, la mezcla fue diluida con DCM hasta que la disolución fue completa, se lavó con HCL acuoso al 0,5N, se secó ($MgSO_4$) y se concentró bajo presión reducida.

Producción: 19,7 g

MS-ESI: $[M+H]^+ = 421,2$.

112

TLC: $R_f = 0,7$, gel de sílice, heptano/EtOAc = 3/2 (v/v).

(d). 5-amino-4-(3-nitrofenil)-2-fenil-tieno[2,3-d]pirimidin-6-carboxilato de etilo

DIPEA (20,0 ml) fue agregado a una solución agitada de 5-ciano-4-(3-nitrofenil)-2-fenil-6-(etoxicarbonilmetiltio) pirimidina de etilo (ejemplo 9(c), 19,7 g) en una mezcla de EtOH absoluto (100 ml) y tolueno p.a. (100 ml). Después de 48 h a 100° C, la mezcla fue enfriada a 0° C. El precipitado resultante fue filtrado, lavado con EtOH frío y secado en vacío a 40° C.

Producción: 17,0 g

MS-ESI: $[M+H]^+ = 421,2$

TLC: $R_f = 0,5$, gel de sílice, heptano/EtOAc = 3/2 (v/v).

(e). 5-amino-4-(3-aminofenil)-2-fenil-tieno[2,3-d]pirimidin-6-carboxilato de etilo

Una solución de cloruro de estaño (II) (23,0 g) en EtOH absoluto (250 ml) fue agregado a una solución de 5-amino-

113

4-(3-nitrofenil)-2-fenil-tieno[2,3-d]pirimidina-6-carboxilato de etilo (ejemplo 9(d), 16,6 g) en 1,4-dioxano p.a. (250 ml). HCl acuoso al 37% (6,9 ml) fue agregado y la mezcla fue calentada bajo reflujo (90° C) durante 16 h. La mezcla se le permitió enfriarse a temperatura ambiente y se concentró bajo presión reducida. El residuo fue suspendido en EtOAc (500 ml). NaOH acuosa al 4N fue agregado para obtener un pH de 10 y 11. La mezcla fue diluida por medio de agregar NaCl acuoso saturado. La capa orgánica fue separada, secada (MgSO₄) y concentrada bajo presión reducida.

Producción: 17,0 g

MS-ESI: [M+H]⁺ = 421,2

TLC: R_f: 0,5, gel de sílice, heptano/EtOAc = 3/2 (v/v).

(f). Ácido 5-amino-4-(3-aminofenil)-2-fenil-tieno[2,3-d]pirimidin-6-carboxílico

Hidróxido de potasio (20,0 g) fue agregado a una solución de 5-amino-4-(3-aminofenil)-2-fenil-tieno[2,3-d]pirimidin-6-carboxilato de etilo (ejemplo 9(e), 17,0 g) en una mezcla de 1,4-dioxano (210 ml) y agua (80 ml).

114

Después de 16 h a 90° C, la mezcla fue enfriada a 0° C. el precipitado resultante fue filtrado, suspendido en agua (300 ml) y enfriado a 0° C. la mezcla fue acidificada a un pH 3 por medio de la adición de ácido cítrico acuoso al 2N y agitada a 0° C hasta temperatura ambiente durante 2 h. el precipitado resultante fue filtrado, lavado con agua y secado en vacío a 40° C.

Producción: 13,3 g

MS-ESI: $[M+H]^+ = 363,0$

TLC: R_f : 0,2, gel de sílice, DCM/MeOH = 95/5 (v/v).

(g). 5-amino-4-(3-aminofenil)-2-fenil-tieno[2,3-d]pirimidin-6-carboxamida de terc-butilo

DIPEA (15,3 ml), terc-butilamina (9,3 ml) y TBTU (14,1 g) fueron agregados a una mezcla de ácido 5-amino-4-(3-aminofenil)-2-fenil-tieno[2,3-d]pirimidin-6-carboxílico (ejemplo 9(f), 13,3 g) en una mezcla de DCM (250 ml) y DCF (50 ml) bajo una atmósfera de nitrógeno. Después de 3 h a temperatura ambiente, la mezcla fue diluida con DCM y lavada con NaHCO₃ acuoso saturado, HCL acuoso al 0,1N y NaCl acuoso saturado. La capa orgánica fue secada (MgSO₄)

115

y concentrada bajo presión reducida. El producto crudo fue purificado por cromatografía sobre gel de sílice, usando heptano/EtOAc = 3/7 a 1/1 (v/v) como eluyente.

Producción: 14,7 g

MS-ESI: $[M+H]^+ = 418,4$

TLC: R_f : 0,4, gel de sílice, heptano/EtOAc = 3/2 (v/v).

(h). 5-amino-4-(3-(2-bromoacetamido)fenil)-2-fenil-tieno[2,3-d]pirimidin-6-carboxamida de terc-butilo

Una solución de cloruro de bromoacetilo (2,80 ml) fue agregada gota a gota a una solución de 5-amino-4-(3-aminofenil)-2-fenil-tieno[2,3-d]pirimidin-6-carboxamida de terc-butilo (ejemplo 9(g), 5,8 g) y DIPEA (12,2 ml) en DCM, (50 ml). Después de 3 h a temperatura ambiente, la mezcla se diluyó con DCM, se lavó con NaHCO_3 acuoso saturado, se secó (MgSO_4) y se concentró bajo presión reducida. El producto crudo se purificó mediante cromatografía sobre gel de sílice utilizando heptano/EtOAc = 3/2 (v/v) como eluyente. Una mezcla 1:1 (mol/mol) de 5-amino-4-(3-(2-bromoacetamido)-fenil)-2-fenil-tieno[2,3-d]pirimidin-6-carboxamida de terc-butilo

y 5-amino-4-(3-(2-bromoacetamido)-fenil)-2-fenil-tieno[2,3-d]pirimidin-6-carboxamida de terc-butilo se obtuvo.

Producción: 2,6 g

MS-ESI: $[M+H]^+ = 540,2$, $[M'+H]^+ = 494,2$

TLC: R_f : 0,3, gel de sílice, heptano/EtOAc = 3/2 (v/v).

(i). 5-amino-2-fenil-4-(3-((N-etil-N-(2-hidroxietil)-glicinil)-amino)-fenil)-tieno[2,3-d]pirimidin-6-carboxamida de terc-butilo

A una solución agitada de 5-amino-4-(3-(2-bromoacetamido)-fenil)-2-fenil-tieno[2,3-d]pirimidin-6-carboxamida de terc-butilo (ejemplo 9(h), 500 mg) en DCM (5 ml) se agregó N-etil-2-amino-etanol (500 mg). Después de agitar durante 17 h a temperatura ambiente, la mezcla de reacción fue diluida con DCM (100 ml), lavada con NaHCO_3 acuoso (1 M, 2 x 50 ml), secada (MgSO_4) y concentrada en vacío. El residuo fue purificado por HPLC usando una columna Luna C-18 con el siguiente gradiente: TFA acuoso al 0,1% + ACN acuoso al 10%/ACN = 90/10 a 10/90 (v/v) en 30 min. El compuesto titulado fue entonces

112

liofilizado a partir de una mezcla de 1,4-dioxano, TFA acuoso al 0,1% y agua.

Producción: 271 mg (TFA-sal)

MS-ESI: $[M+H]^+ = 547,2$

HPLC: R_t : 12,54 min, columna Luna C-18 (II), 3 μ m, 100 x 2,0 mm, detección UV = 210 nm, temperatura de horno = 40° C, flujo = 0,25 ml/min, eluyente de amortiguador de fosfato 50 mM pH 2,1/agua/ACN = 10/80/10 a 10/10/80 (v/v/v), tiempo de corrido = 20 min.

Ejemplo 10

5-amino-2-fenil-4-(3-(N-(metoxycarbonilmetil)-glicinil)-amino)-fenil)-tieno[2,3-d]pirimidin-6-carboxamida de terc-butilo

A una solución agitada de 5-amino-4-(3-(2-bromoacetamido)-fenil)-2-metiltio-tiano[2,3-d]pirimidin-6-carboxamida de terc-butilo (ejemplo 9(h), 500 mg) y N,N-diisopropiletil amina (DIPEA, 1 ml) en DCM (5 ml) se agregó hidrocloreuro de glicil metil éster (700 mg). Después de agitar durante 16 h a temperatura ambiente, la

118

mezcla de reacción se diluyó con DCM (100 ml), se secó con NaHCO_3 acuoso (1 M, 2 x 50 ml), se secó (MgSO_4) y se concentró en vacío. El residuo fue purificado mediante HPLC usando una columna Luna C-18 con el siguiente gradiente: TFA acuoso al 0,1% + ACN acuoso al 10%/ACN = 90/10 a 10/90 (v/v) en 30 min. El compuesto titulado fue luego liofilizado a partir de una mezcla de 1,4-dioxano, TFA acuoso al 0,1% y agua.

Producción: 321 mg (TFA-sal)

MS-ESI: $[\text{M}+\text{H}]^+ = 547,2$

HPLC: R_t : 12,54 min, columna Luna C-18(2), 3 μm , 100 x 2,0 mm, detección UV = 210 nm, temperatura de horno = 40° C, flujo = 0,25 ml/min, eluyente de amortiguador de fosfato 50 mM pH 2,1/agua/ACN = 10/80/10 a 10/10/80 (v/v/v), tiempo de corrido = 20 min.

Ejemplo 11

5-amino-2-(2-furil)-4-(3-((N-metil-N-(2-hidroxietil)-glicinil)-amino)-fenil)-tieno[2,3-d]pirimidin-6-carboxamida de terc-butilo

119

(a) 2-amidinofuran

Se agregó HCl etanólico saturado enfriado a (0° C) (40 ml) a un recipiente de reacción enfriado (enfriado en hielo, 0° C), que contiene 2-furonitril (13 ml). La solución resultante se le permitió alcanzar temperatura ambiente y agitarse bajo atmósfera de nitrógeno durante 48 h. Después de concentración de la mezcla de reacción en vacío, el residuo, que contiene el correspondiente imidato 2-furil de etilo, se redisolvió en etanol (20 ml) y se agitó a 0° C bajo atmósfera de nitrógeno. Posteriormente, se agregó amonio etanólico saturado (40 ml) y la mezcla de reacción se agitó en un frasco de reacción sellado en un frasco de reacción sellado durante 48 h. Después de filtración de la mezcla de reacción, el filtrado fue concentrado bajo presión reducida. El compuesto crudo fue utilizado sin purificación adicional en la siguiente etapa.

Producción: 15,0 g

(b). 5-ciano-4-(3-nitrofenil)-2-(2-furil)-6-hidroxi-
pirimidina

JPD

Una mezcla de 2-amidinofuran (ejemplo 11(a), 15 g), 3-nitrobenzaldehído (24 g), cianoacetato de etilo (17 ml) y carbonato de potasio (25 g) en EtOH absoluto (300 ml) se agitaron a 60° C durante 17 h. La mezcla de reacción se enfrió a 0° C en baño de hielo. El precipitado resultante se filtró, se lavó con EtOH absoluto y se calentó en agua (100° C) bajo agitación hasta que una suspensión lechosa se obtuvo. La suspensión fue enfriada a 50° C, acidificada a un pH de 2 mediante la adición de HCl acuoso a 2N y enfriada a 10° C en baño de hielo. El precipitado resultante se filtró y se lavó con agua helada. El agua residual se removió mediante coevaporación con 1,4-dioxano.

Producción: 16,0 g

MS-ESI: $[M+H]^+ = 309,2$

TLC: R_f : 0,3, gel de sílice, DCM/MeOH = 9/1 (v/v).

(c). 6-cloro-5-ciano-4-(3-nitrofenil)-2-(2-furil)-
pirimidina

121

POCL₃ (50 ml) fue agregado a una solución agitada de 5-ciano-4-(3-nitrofenil)-2-(2-furil)-6-hidroxi-pirimidina (ejemplo 11(b), 16,0 g) y dimetilanilina (0,5 ml) en 1,4-dioxano seco p.a. (250 ml). Después de 2 h a 90° C, la mezcla caliente fue filtrada y el filtrado fue concentrado bajo presión reducida. El residuo fue disuelto en 1,4-dioxano y agua con hielo fue agregada. El precipitado resultante fue filtrado y lavado con agua. El agua resultante fue removida por coevaporación con 1,4-dioxano.

Producción: 16,0 g

MS-ESI: [M+H]⁺ = 327,1

TLC: R_f: 0,75, gel de sílice, heptano/EtOAc = 3/2 (v/v).

(d). 5-ciano-4-(3-nitrofenil)-2-(2-furil)-6-etoxicarbonilmetiltio)-pirimidina de etilo

DIPEA (9,1 ml) fue agregado a una solución de 2-mercaptoacetato de etilo (5,4 ml) y 6-cloro-5-ciano-4-(3-nitrofenil)-2-(2-furil)-pirimidina (ejemplo 11(c), 16,0 g) en una mezcla de EtOH (125 ml) y DCM (125 ml) bajo una atmósfera de nitrógeno. Después de 2 h a temperatura

ambiente, la mezcla fue diluida con DCM hasta que la disolución fue completa, se lavó con HCL acuoso al 0,5N, se secó (MgSO_4) y se concentró bajo presión reducida.

Producción: 20,0 g

MS-ESI: $[\text{M}+\text{H}]^+ = 411,2$.

TLC: $R_f = 0,7$, gel de sílice, heptano/EtOAc = 3/2 (v/v).

(e). 5-amino-4-(3-nitrofenil)-2-(2-furil)-tieno[2,3-d]pirimidin-6-carboxilato de etilo

DIPEA (20,0 ml) fue agregado a una solución agitada de 5-ciano-4-(3-nitrofenil)-2-(2-furil)-6-(etoxicarbonilmetiltio) pirimidina de etilo (ejemplo 11(d), 20 g) en una mezcla de EtOH absoluto (100 ml) y tolueno p.a. (100 ml). Después de 48 h a 100° C, la mezcla fue enfriada a 0° C. El precipitado resultante fue filtrado, lavado con EtOH frío y secado en vacío a 40° C.

Producción: 20,0 g

MS-ESI: $[\text{M}+\text{H}]^+ = 411,2$

TLC: $R_f = 0,6$, gel de sílice, heptano/EtOAc = 3/2 (v/v).

(f). 5-amino-4-(3-aminofenil)-2-(2-furil)-tieno[2,3-d]pirimidina-6-carboxilato de etilo

Una solución de cloruro de estaño (II) (28,0 g) en EtOH (250 ml) se agregó a una solución de 5-amino-4-(3-nitrofenil)-2-(2-furil)-tieno[2,3-d]-pirimidina-6-carboxilato de etilo (ejemplo 11(e), 20 g) en 1,4-dioxano p.a. (250 ml). HCl acuoso al 37% (8,5 ml) fue agregado y la mezcla fue calentada bajo reflujo (90° C) durante 16 h. La mezcla se le permitió enfriarse a temperatura ambiente y se concentró bajo presión reducida. El residuo fue suspendido en EtOAc (500 ml). NaOH acuoso al 4N fue agregado para obtener un pH entre 10 a 11. La mezcla fue diluida por medio de agregar NaCl acuoso saturada. La capa orgánica fue separada, secada (MgSO₄) y concentrada bajo presión reducida.

Producción: 17,5 g

MS-ESI: [M+H]⁺ = 353,2

TLC: R_f = 0,4, gel de sílice, heptano/EtOAc
= 3/2 (v/v)

(g). ácido 5-amino-4-(3-aminofenil)-2-(2-furil)-
tieno[2,3-d]pirimidina-6-carboxílico

hidróxido de potasio (23,0 g) fue agregado a una solución de 5-amino-4-(3-aminofenil)-2-(2-furil)-tieno[2,3-d]pirimidina-6-carboxilato de etilo (ejemplo 11 (f), 17,5 g) en una mezcla de 1,4-dioxano (210 ml) y agua (80 ml). después de 8 h a 90° C, la mezcla fue enfriada a 0° C. El precipitado resultante fue filtrado, suspendido en agua (300 ml) y enfriado a 0° C. La mezcla fue acidificada a un pH 3 por medio de agregar ácido cítrico acuoso al 2N y agitar a 0° C hasta temperatura ambiente durante 2 h. El precipitado resultante fue filtrado, lavado con agua y secado en vacío a 40° C.

Producción: 16,9 g

MS-ESI: $[M+H]^+ = 353,2$

TLC: $R_f = 0,2$, gel de sílice, DCM/MeOH =
95/5 (v/v)

(h). 5-amino-4-(3-aminofenil)-2-(2-furil)-tieno[2,3-d]pirimidina-6-carboxamida de terc-butilo

DIPEA (19,2 ml), terc-butilamina (11,6 ml) y TBTU (17,7 g) fueron agregados a una solución de ácido 5-amino-4-(3-aminofenil)-2-(2-furil)-tieno[2,3-d]pirimidina-6-carboxílico (ejemplo 11(g), 16,9 g) en una mezcla de DCM (250 ml) y DMF (50 ml) bajo una atmósfera de nitrógeno. Después de 3 h a temperatura ambiente, una cantidad sustancial del precipitado amarillo había sido formada la cual fue filtrada. El residuo fue lavado con dietiléter y secado en vacío a 40° C.

Producción: 18,0 g
MS-ESI: $[M+H]^+ = 408,2$
TLC: $R_f \approx 0,4$, gel de sílice, heptano/EtOAc
= 3/2 (v/v)

(i). 5-amino-4-(3-(2-bromoacetamido)-fenil)-2-(2-furil)-tieno[2,3-d]pirimidina-6-carboxamida de terc-butilo

Cloruro de bromoacetilo (100 l) se agregó gota a gota a una solución de 5-amino-4-(3-aminofenil)-2-(2-furil)-tieno[2,3-d]pirimidina-6-carboxamida de terc-butilo (ejemplo 11 (h), 250 mg) y DIPEA (0,5 ml) en DCM (5 ml). Después de 3 h a temperatura ambiente, la mezcla fue diluida con DCM, lavada con NaHCO₃ acuoso saturada,

secada (MgSO_4) y concentrada bajo presión reducida. El producto crudo fue purificado por cromatografía sobre gel de sílice usando heptano/EtOAc = 3/2 (v/v) como eluyente. Una mezcla de 1:1 (mol/mol) de 5-amino-4-(3-(2-bromoacetamido)-fenil)-2-(2-tienil)-tieno[2,3-d]pirimidina-6-carboxamida de terc-butilo y 5-amino-4-(3-(2-cloroacetamido)-fenil)-2-(2-tienil)-tieno[2,3-d]pirimidina-6-carboxamida de terc-butilo fue obtenida.

Producción: 124 mg
 MS-ESI: $[M+H]^+ = 540,2$, $[M'+H]^+ = 494,2$
 TLC: $R_f = 0,3$, gel de sílice, heptano/EtOAc = 3/2 (v/v)

(j). 5-amino-2-(2-furil)-4-(3-(N-metil-N-(2-hidroxietil)-glicinil)-amino)-fenil)-tieno[2,3-d]pirimidina-6-carboxamida de terc-butilo

A una solución de 5-amino-4-(3-(2-bromoacetamido)-fenil)-2-(2-furil)-tieno[2,3-d]pirimidina-6-carboxamida de terc-butilo (ejemplo 11(i), 130 mg) en DCM (5 ml) se agregó N-meetil-2-amino-etanol (200 mg). Después de agitar durante 17 h a temperatura ambiente, la mezcla de reacción fue diluida con DCM (50 ml), lavada con NaHCO_3 acuoso (1 M, 2

127

x 10 ml), secada (MgSO_4) y concentrada en vacío. El residuo fue purificado por HPLC usando una columna Luna C-18 con el siguiente gradiente: TFA acuoso al 0,1% + ACN acuoso al 10%/ACN = 90/10 a 10/90 (v/v) en 30 min. El compuesto titulado fue entonces liofilizado a partir de una mezcla de 1,4 - dioxano, TFA acuoso al 0,1% y agua.

Producción: 81 mg (TFA-sal)

MS-ESI: $[\text{M}+\text{H}]^+ = 523,2$

HPLC: $R_t = 11,01$ min, columna Luna C-18 (2), 3 μ m, 100 x 2,0 nm, detección de UV = 210 nm, temperatura de horno = 40° C, flujo = 0,25 ml/min, eluyente amortiguador de fosfato 50 mM pH 2,1/agua/ACN = 10/80/10 a 10/10/80 (v/v/v), tiempo de corrida = 20 min.

Ejemplo 12

5-amino-2-(2-furil)-4-(3-(N-(1-hidroxi-2-metil-prop-2-il)-glicinil)-amino)-fenil)-tieno[2,3-d]pirimidina-6-carboxamida de terc-butilo

A una solución agitada de 5-amino-4-(3-(2-bromoacetamido)-fenil)-2-(2-furil)-tieno[2,3-

d)pirimidina-6-carboxamida de terc-butilo (ejemplo 11 (i), 130 mg) en DCM (5 ml) se agregó 2-amino-2-metilpropanol (260 mg). Después de agitación durante 17 h a temperatura ambiente, la mezcla de reacción fue diluida con DCM (50 ml), lavada con NaHCO₃ acuoso (1 M, 2 x 10 ml), secada (MgSO₄) y concentrada en vacío. El residuo fue purificado por HPLC usando una columna Luna C-18 con el siguiente gradiente: TFA acuoso al 0,1% + ACN acuoso al 10% /ACN = 90/10 a 10/90 (v/v) en 30 min. El compuesto titulado fue entonces liofilizado a partir de una mezcla de 1,4-dioxano, TFA acuoso al 0,1% y agua.

Producción: 50 mg (TFA-sal)

MS-ESI: [M+H]⁺ = 537,2

HPLC: R_t = 11,15 min, columna Luna C-18 (2),
3 μ m, 100 x 2,0 mm, detección de UV = 210 nm,
temperatura de horno = 40° C, flujo = 0,25 ml/min,
eluyente amortiguador de fosfato 50 mM pH 2,1/agua/ACN =
10/80/10 a 10/10/80 (v/v/v), tiempo de corrida = 20 min.

Ejemplo 13

5-amino-2-(2-furil)-4-(3-(N-(metoxycarbonilmetil)-
glicinil)-amino)-fenil)-tieno[2,3-d]pirimidina-6-
carboxamida de terc-butilo

A una solución agitada de 5-amino-4-(3-(2-bromoacetamido)-fenil)-2-(2-furil)-tieno[2,3-d]pirimidina-6-carboxamida de terc-butilo (ejemplo 11 (i), 130 mg) y DIPEA (0,5 ml) en DCM (5 ml) se agregó hidrocclururo de éster de glicina de metilo (324 mg). Después de agitar durante 17 h a temperatura ambiente, la mezcla de reacción fue diluida con DCM (50 ml), lavada con NaHCO₃ acuoso (1 M, 2 x 10 ml), secada (MgSO₄) y concentrada en vacío. El residuo fue purificado por HPLC usando una columna Luna C-18 con el siguiente gradiente: TFA acuoso al 0,1% + ACN acuoso al 10%/ACN = 90/10 a 10/90 (v/v) en 30 min. El compuesto titulado fue entonces liofilizado a partir de una mezcla de 1,4-dioxano, TFA acuoso al 0,1% y agua.

Producción: 74 mg (TFA-sal)

MS-ESI: [M+H]⁺ = 537,2

HPLC: $R_t = 12,09$ min, columna Luna C-18 (2),
3 μ m, 100 x 2,0 mm, detección de UV = 210 nm,
temperatura de horno = 40° C, flujo = 0,25 ml/min,
eluyente amortiguador de fosfato 50 mM pH 2,1/agua/ACN =
10/80/10 a 10/10/80 (v/v/v), tiempo de corrida = 20 min.

Ejemplo 14

5-amino-2-(2-tienil)-4-(3-(N-metil-N-(2-hidroxietil)-
glicinil)-amino)-fenil)-tieno[2,3-d]pirimidina-6-
carboxamida de terc-butilo

(a). 5-ciano-4-(3-nitrofenil)-2-(2-tienil)-6-hidroxi-
pirimidina

Una mezcla de hidrocloreuro de 2-amidinotiofeno (10,0 g),
3-nitrobenzaldehido (9,7 g), cianoacetato de etilo (6,81
ml) y carbonato de potasio (10,1 g) en EtOH absoluto (20
ml) fue agitado a 60° C durante 8 h. la mezcla de
reacción fue enfriada a 0° C en un baño de hielo,
filtrada, lavada con EtOH absoluto y el residuo fue
disuelto en agua (100° C). La solución fue enfriada a 50°
C, acidificada con HCl acuoso al 2N hasta un pH de 2 y

131

enfriada a 0° C en un baño de hielo. El precipitado resultante fue filtrado y lavado con agua y hielo. El agua residual fue removida por coevaporación con 1,4-dioxano.

Producción: 10,0 g

MS-ESI: $[M+H]^+ = 325,0$

TLC: $R_f = 0,3$, gel de sílice, DCM/MeOH = 9/1 (v/v).

(b). 6-cloro-5-ciano-4-(3-nitrofenil)-2-(2-tienil)-pirimidina

POCl₃ (30 ml) se agregó a una solución agitada de 5-cino-4-(3-nitrofenil)-2-(2-tienil)-6-hidroxi-pirimidina (ejemplo 14 (a), 10,0 g) y dimetilanilina (unas pocas gotas) en 1,4-dioxano seco (150 ml). Después de 3 h a 90° C, la mezcla fue enfriada a temperatura ambiente y concentrada bajo presión reducida. El residuo fue disuelto en 1,4-dioxano y agua con hielo fue agregada cuidadosamente. El precipitado resultante fue filtrado y lavado con agua. El agua residual fue removida por coevaporación con 1,4-dioxano y secad en vacío a 40° C.

Producción: 9,8 g
MS-ESI: $[M+H]^+ = 343,4$
TLC: $R_f = 0,8$, gel de sílice, heptano/EtOAc
= 3/2 (v/v).

(c). 5-ciano-4-(3-nitrofenil)-2-(2-tienil)-6-(etoxicarbonilmetiltio)-pirimidina de etilo

DIPEA (5,57 ml) fue agregada a una solución agitada de 2-mercaptoacetato de etilo (3,28 ml) y 6-cloro-5-ciano-4-(3-nitrofenil)-2-(2-tienil)pirimidina (ejemplo 14 (b), 9,8 g) en una mezcla de EtOH (80 ml) y DCM (80 ml) bajo atmósfera de nitrógeno. Después de 2 h a temperatura ambiente, la mezcla fue diluida con DCM hasta que la disolución se completó, se lavó con HCl acuoso al 0,5 N, se secó ($MgSO_4$) y se concentró bajo presión reducida.

Producción: 12,9 g
MS-ESI: $[M+H]^+ = 427,2$
TLC: $R_f = 0,7$, gel de sílice, heptano/EtOAc
= 3/2 (v/v).

(d). 5-amino-4-(3-nitrofenil)-2-(2-tienil)-tieno[2,3-d]pirimidina-6-carboxilato de etilo

DIPEA (13,0 ml) se agregó a una solución agitada de 5-ciano-4-(3-nitrofenil)-2-(2-tienil)-6-(etoxicarbonilmetiltio)-pirimidina de etilo (ejemplo 14 (c), 12,9 g) en una mezcla de EtOH absoluto (75 ml) y tolueno p.a. (75 ml). Después de 48 h a 100° C la mezcla fue enfriada a 0° C. el precipitado resultante fue filtrado, lavado con EtOH frío y secado en vacío a 40° C.

Producción: 11,0 g

MS-ESI: $[M+H]^+ = 427,2$

TLC: $R_f = 0,6$, gel de sílice, heptano/EtOAc = 3/2 (v/v).

(e). 5-amino-4-(3-aminofenil)-2-(2-tienil)-tieno[2,3-d]pirimidina-6-carboxilato de etilo

Una solución de cloruro de estaño (2) (15 g) en EtOH absoluto (150 ml) se agregó a una solución de 5-amino-4-(3-nitrofenil)-2-(2-tienil)-tieno[2,3-d]pirimidina-6-carboxilato de etilo (ejemplo 14 (d), 10, 86 g) en 1,4-dioxano (150 ml). HCl acuoso al 37% (4,5 ml) se agregó y la mezcla fue calentada bajo reflujo durante 16 h. La mezcla se le permitió enfriar se a temperatura ambiente y

se concentró bajo presión reducida. El residuo fue suspendido en EtOAc (400 ml) y THF se agregó hasta que la disolución se completó. NaOH acuoso al 4N se agregó para obtener un pH entre 10 y 11. La mezcla fue diluida agregando NaCl acuoso saturado. La capa orgánica fue separada, secada (MgSO_4) y concentrada bajo presión reducida.

Producción: 12,0 g

MS-ESI: $[\text{M}+\text{H}]^+ = 397,2$

TLC: $R_f = 0,4$, gel de sílice, heptano/EtOAc
= 3/2 (v/v).

(f). ácido 5-amino-4-(3-aminofenil)-2-(2-tienil)-
tieno[2,3-d]pirimidina-6-carboxílico

hidróxido de potasio (13 g) se agregó a una solución de 5-amino-4-(3-aminofenil)-2-(2-tienil)-tieno[2,3-d]pirimidina-6-carboxilato de etilo (ejemplo 14 (e), 10,1 g) en una mezcla de 1,4-dioxano (150 ml) y agua (50 ml). después de 16 h a 90° C, la mezcla fue enfriada a 0° C. el precipitado resultante fue filtrado, suspendido en agua (180 ml) y enfriado a 0° C. La mezcla fue acidificada a un pH de 3 agregando ácido cítrico acuoso

✓35

al 2N y agitando a 0° durante 2 h. el precipitado resultante fue filtrado, lavado con agua y secado en vacío a 40° C.

Producción: 6,3 g

MS-ESI: $[M+H]^+ = 369,2$

TLC: $R_f = 0,2$, gel de sílice, DCM/MeOH = 95/5 (v/v).

(g). 5-amino-4-(3-aminofenil)-2-(2-tienil)-tieno[2,3-d]pirimidina-6-carboxamida de terc-butilo

DIPEA (7,1 ml), terc-butilamina (4,3 ml) y TBTU (6,6 g) fueron agregados a una mezcla de ácido 5-amino-4-(3-aminofenil)-2-(2-tienil)-tieno[2,3-d]pirimidina-6-carboxílico (ejemplo 14 (f), 3 g) en una mezcla de DCM (125 ml) y DMF (N,N-dimetilformamida) (25 ml) bajo una atmósfera de nitrógeno. Después de 3 h a temperatura ambiente, la mezcla fue diluida con DCM y lavada con NaHCO_3 acuoso saturado, HCl acuoso al 0,1 N y NaCl acuoso saturado. La capa orgánica fue secada (MgSO_4) y concentrada bajo presión reducida. El producto crudo fue purificado por cromatografía sobre gel de sílice usando heptano/EtOAc = 3/7 a 1/1 (v/v) como eluyente.

Producción: 6,45 g
MS-ESI: $[M+H]^+ = 424,2$
TLC: $R_f = 0,3$, gel de sílice, heptano/EtOAc
 $= 3/2$ (v/v).

(h). 5-amino-4-(3-(2-bromoacetamido)-fenil)-2-(2-tienil)-
tieno[2,3-d]pirimidina-6-carboxamida de terc-butilo

cloruro de bromo acetilo (2,40 ml) fue agregado a una solución de 5-amino-4-(3-aminofenil)-2-(2-tienil)-tieno[2,3-d]pirimidina-6-carboxamida de terc-butilo (ejemplo 14 (g), 5,0 g) y DIPEA (10,5 mo) en DCM (50 ml). después de 3 h a temperatura ambiente, la mezcla fue diluida con DCM, lavada con NaHCO_3 , acuoso saturado, secada (MgSO_4) y concentrada bajo presión reducida. El producto crudo fue purificado por cromatografía sobre gel de sílice usando heptano/EtOAc = 3/2 (v/v) como eluyente. Una mezcla de 5-amino-4-(3-(2-bromoacetamino)-fenil)-2-(2-tienil)-tieno[2,3-d]pirimidin-6-carboxamida de terc-butilo y 5-amino-4-(3-(2-cloroacetamido)-fenil)-2-(2-tienil)-tieno[2,3-d]pirimidin-6-carboxamida fue obtenido.

Producción: 3,0 g

MS-ESI: $[M+H]^+ = 546,2$, $[M'+H]^+ = 500,2$

TLC: $R_f = 0,2$, gel de sílice,

tolueno/EtOAc=7/1 (v/v)

(i). 5-amino-2-(2-tienil)-4-(3-((N-metil-N-(2-hidroxietil)-glicinil)-amino)-fenil)-tieno[2,3-d]pirimidina-6-carboxamida de terc-butilo

A una solución agitada de 5-amino-4-(3-(2-bromoacetamido)-fenil)-2-(2-tienil)-tieno[2,3-d]pirimidin-6-carboxamida de terc-butilo (ejemplo 14(h), 100 mg) en DCM (5 ml) se agregó N-metil-2-aminoetanol (140 mg). Después de agitar durante 17 h a temperatura ambiente, la mezcla de reacción fue diluida con DCM (50 ml), lavada con NaHCO_3 acuoso (1 M, 2 x 10 ml), secada (MgSO_4) y concentrada en vacío. El residuo fue purificado por HPLC usando una columna Luna C-18 con el siguiente gradiente: TFA acuoso al 0,1% + ACN acuoso al 10%/ACN = 90/10 (v/v) en 30 min. El compuesto titulado fue entonces liofilizado a partir de una mezcla de 1,4-dioxano, TFA acuoso al 0,1% y agua.

Producción: 59 mg (TFA-sal)

MS-ESI: $[M+H]^+ = 539,2$

HPLC: R_t : 11,01 min, columna Luna C-18(2), 3 μ m, 100 x 2,0 mm, detección UV = 210 nm, temperatura de horno = 40° C, flujo = 0,25 ml/min, eluyente de amortiguador de fosfato 50 mM pH 2,1/agua/ACN = 10/80/10 a 10/10/80 (v/v/v), tiempo de corrido = 20 min.

Ejemplo 15

5-amino-2-(2-tienil)-4-(3-((N-(metoxycarbonilmetil)-glicinil)-amino)-fenil)-tieno[2,3-d] pirimidina-6-carboxamida de terc-butilo

A una solución agitada de 5-amino-4-(3-(2-bromoacetamido)-fenil)-2-(2-tienil)-tieno[2,3-d]pirimidin-6-carboxamida de terc-butilo (ejemplo 14(h), 100 mg) y DIPEA (0,5 ml) en DCM (5 ml) se agregó hidrocloruro de éster de glicina de metilo (250 mg). Después de agitar durante 17 h a temperatura ambiente, la mezcla de reacción fue diluida con DCM (50 ml), lavada con NaHCO₃ acuoso (1 M, 2 x 10 ml), secada (MgSO₄) y concentrada en vacío. El residuo fue purificado por HPLC usando una columna Luna C-18 con el siguiente gradiente: TFA acuoso al 0,1% + ACN acuoso al 10%/ACN = 90/10 a

10/90 (v/v) en 30 min. El compuesto titulado fue entonces liofilizado a partir de una mezcla de 1,4-dioxano, TFA acuoso al 0,1% y agua.

Producción: 74 mg (TFA-sal)

MS-ESI: $[M+H]^+ = 553,0$

HPLC: R_t : 12,57 min, columna Luna C-18(2), 3 μ m, 100 x 2,0 mm, detección UV = 210 nm, temperatura de horno = 40° C, flujo = 0,25 ml/min, eluyente de amortiguador de fosfato 50 mM pH 2,1/agua/ACN = 10/80/10 a 10/10/80 (v/v/v), tiempo de corrido = 20 min.

Ejemplo 16

5-amino-2-(2-tienil)-4-(3-((N,N-di-(2-metoxietil)-glicinil)-amino)-fenil)-tieno[2,3-d]pirimidin-6-carboxamida de terc-butilo

A una solución agitada de 5-amino-4-(3-(2-bromoacetamido)-fenil)-2-(2-tienil)-tieno[2,3-d]pirimidina-6-carboxamida de terc-butilo (ejemplo 14(h), 100 mg) en DCM (5 ml) se agregó N,N-di-(2-metoxietil)-amina (200 mg). Después de agitar durante 17 h a

temperatura ambiente, la mezcla de reacción fue diluida con DCM (50 ml), lavada con NaHCO₃ acuoso (1 M, 2 x 10 ml), secada (MgSO₄) y concentrada en vacío. El residuo fue purificado por HPLC usando una columna Luna C-18 con el siguiente gradiente: TFA acuoso al 0,1% + ACN acuoso al 10%/ACN = 90/10 a 10/90 (v/v) en 30 min. El compuesto titulado fue entonces liofilizado a partir de una mezcla de 1,4-dioxano, TFA acuoso al 0,1% y agua.

Producción: 59 mg (TFA-sal)

MS-ESI: [M+H]⁺ = 597,4

HPLC: R_t: 13,84 min, columna Luna C-18(2), 3 µm, 100 x 2,0 mm, detección UV = 210 nm, temperatura de horno = 40° C, flujo = 0,25 ml/min, eluyente de amortiguador de fosfato 50 mM pH 2,1/agua/ACN = 10/80/10 a 10/10/80 (v/v/v), tiempo de corrido = 20 min.

Ejemplo 17

5-amino-2-etilamino-4-(3-((N-etil-N-(2-metoxietil)-glicinil)-amino)-fenil)-tieno[2,3-d]pirimidin-6-carboxamida de terc-butilo

141

(a). 5-amino-2-metanosulfinil-4-(3-((N-etil-N-(2-metoxietil)-glicinil)-amino)-fenil)-tieno[2,3-d]pirimidina-6-carboxamida de terc-butilo

A una solución agitada de 5-amino-2-metiltio-4-(3-((N-etil-N-(2-metoxietil)-glicinil)-amino)-fenil)-tieno[2,3-d]pirimidin-6-carboxamida de terc-butilo (ejemplo 4, 1,0 g) en ácido trifluoroacético (TFA, 25 ml) se agregó ácido 3-cloroperbenzoico (m-CPBA, 1,0 g). Después de 17 h, la mezcla de reacción fue concentrada bajo presión reducida a temperatura ambiente (20° C), redisuelta en DCM (100 ml), lavada cuidadosamente con NaHCO₃ acuoso saturado (2 x 50 ml) y agua (50 ml), secada (MgSO₄) y concentrada en vacío. El residuo crudo fue usado sin purificación adicional en la siguiente etapa

Producción: 820 mg (TFA-sal)

MS-ESI: [M+H]⁺ = 547,3

TLC: R_f: 0,2, gel de sílice, DCM/MeOH 9/1 (v/v)

(b). 5-amino-2-etilamino-4-(3-((N-etil-N-(2-metoxietil)-glicinil)-amino)-fenil)-tieno[2,3-d]pirimidin-6-carboxamida de terc-butilo

142

Hidrocloreuro de etilamina (150 mg) fue agregado a una solución agitada de 5-amino-2-metanosulfinil-4-(3-((N-etil-N-(2-metoxietil)-glicinil)-amino)-fenil)-tieno[2,3-d]pirimidin-6-carboxamida de terc-butilo (ejemplo 17 (a), 100 mg) y DIPEA (0,5 ml) en 1,4-dioxano (5 ml) y la mezcla de reacción fue calentada a 60° C durante 3 h. Después de concentración de la mezcla bajo presión reducida, el residuo fue retirado en DCM (50 ml) y lavado con salmuera (1 M, 25 ml) y agua (25 ml). Subsecuentemente, la capa orgánica fue secada (MgSO₄) y concentrada en vacío. El residuo así obtenido fue purificado por HPLC usando una columna Luna c-18 con el siguiente gradiente: TFA acuoso al 0,1% + ACN acuoso al 10%/ACN = 90/10 a 10/90 (v/v) en 30 min. El compuesto titulado fue entonces liofilizado a partir de una mezcla de 1,4-dioxano, TFA acuoso al 0,1% y agua.

Producción: 36 mg (TFA-sal)

MS-ESI: [M+H]⁺ = 547,3

HPLC: R_t: 10,21 min, columna C-18(2), 3 µm, 100 x 2,0 mm, detección de UV = 210 nm, temperatura de horno = 40° C, flujo = 0,25 ml/min, eluyente de amortiguador de

fosfato 50 mM pH 2,1/agua/ACN = 10/80/10 a 10/10/80
(v/v/v), tiempo de corrida = 20 min.

Ejemplo 18

5-amino-2-(N,N-dimetilamino)-4-(3-((N-metil-N-(2-hidroxi-
etil)-glicinil)-amino)-fenil)-tieno[2,3-
d]pirimidin-6-carboxamida de terc-butilo

(a). 5-amino-2-metanosulfinil-4-(3-((N-metil-N-(2-hidroxi-
etil)-glicinil)-amino)-fenil)-tieno[2,3-
d]pirimidin-6-carboxamida de terc-butilo

A una solución de 5-amino-2-metiltio-4-(3-((N-metil-N-(2-hidroxi-
etil)-glicinil-amino)-fenil)-tieno[2,3-
d]pirimidin-6-carboxamida de terc-butilo (ejemplo 1 (i),
1,0 g) en ácido trifluoroacético (TFA, 25 ml) se agregó
ácido 3-cloroperbenzoico (*m*-CPBA, 1,0 g). Después de 17
h, la mezcla de reacción fue concentrada bajo presión
reducida a temperatura ambiente (20° C) redisuelta en
DCM) (100 ml), lavada cuidadosamente con HCO₃ acuoso
saturado (2 x 50 ml) y agua (50 ml), secada (MgSO₄) y
concentrada en vacío. El residuo crudo fue usado sin
purificación adicional en la siguiente etapa.

M4

Producción: 910 mg

MS-ESI: $[M+H]^+ = 519,6$

TLC: R_f : 0,15, gel de sílice, DCM/MeOH 9/1 (v/v)

(b). 5-amino-2-(N,N-dimetilamino)-4-(3-((N-metil-N-(2-hidroxietil)-glicinil)-amino)-fenil)-tieno[2,3-d]pirimidin-6-carboxamida de terc-butilo

Hidrocloreuro de dimetilamina (150 mg) fue agregado a una solución agitada de 5-amino-2-metanosulfinil-4-(3-((N-metil)-N-(2-hidroxietil)-glicinil)-amino)-fenil)-tieno[2,3-d]pirimidin-6-carboxamida de terc-butilo ejemplo 18 (a), 100 mg) y DIPEA (0,5 ml) en 1,4-dioxano (5 ml) y la mezcla de reacción fue calentada a 60° C durante 3 h. Después de concentración de la mezcla de reacción bajo presión reducida, el residuo fue retirado en DCM (50 ml) y lavado con salmuera (1 M, 25 ml) y agua (25 ml). Subsecuentemente, la capa orgánica fue secada ($MgSO_4$) y concentrada en vacío. El residuo así obtenido fue purificado por HPLC usando una columna Luna C-18 con el siguiente gradiente: TFA acuoso al 10,1% + ACN acuoso al 10%/ACN = 90/10 a 10/90 (v/v) en 30 min. El compuesto

titulado fue entonces liofilizado a partir de una mezcla de 1,4-dioxano, TFA acuoso al 0,1% y agua.

Producción: 36 mg (TFA-sal)

MS-ESI: $[M+H]^+ = 500,2$

HPLC: R_t : 10,03 min, columna Luna C-18 (II), 3 μ m, 100 x 2,0 mm, detección UV = 210 nm, temperatura de horno = 40° C, flujo = 0,25 ml/min, eluyente de amortiguador de fosfato 50 mM pH 2,1/agua/ACN = 10/80/10 a 10/10/80 (v/v/v), tiempo de corrido = 20 min.

EJEMPLO 19

5-amino-2-etilamino-4-(3-((N-(metoxycarbonilmetil)-glicinil)-amino)-fenil)-tieno[2,3-d]pirimidin-6-carboxamida de terc-butilo

(a). 5-amino-2-metanosulfinil-4-(3-((N-metoxycarbonilmetil)-glicinil)-amino)-fenil)-tieno[2,3-d]pirimidin-6-carboxamida de terc-butilo

A una solución agitada de 5-amino-2-metiltio-4-(3-((N-(metoxycarbonilmetil)-glicinil)-amino)-fenil)-tieno[2,3-

d]pirimidin-6-carboxamida de terc-butilo (ejemplo 3, 1,0 g) en ácido trifluoroacético (TFA, 25 ml) se agregó ácido 3-cloroperbenzoico (*m*-CPBA, 1,0 g). Después de 17 h, la mezcla de reacción fue concentrada bajo presión reducida a temperatura ambiente (20° C), redisuelta en DCM (100 ml), lavada cuidadosamente en NaHSO₃ acuoso saturado (2 x 50 ml) y agua (50 ml), secada (MgSO₄) y concentrada en vacío. El residuo crudo fue utilizado sin purificación adicional en la siguiente etapa:

Producción: 680 mg

MS-ESI: [M+H]⁺ = 533,6

TLC: R_f: 0,17, gel de sílice, DCM/MeOH 9/1
(v/v).

(b). 5-amino-2-etilamino-4-(3-((N-metoxycarbonilmetil)-glicinil)-amino)-fenil)-tieno[2,3-d]pirimidin-6-carboxamida de terc-butilo

hidrocloruro de etilamina (150 mg) fue agregado a una solución agitada de 5-amino-2-metanosulfinil-4-(3-((N-metoxycarbonilmetil)-glicinil)-amino)-fenil)-tieno[2,3-d]pirimidin-6-carboxamida de terc-butilo (ejemplo 19 (a), 100 mg) y DIPEA (0,5 ml) en 1,4-dioxano (5 ml) y la

mezcla de reacción fue agitada a 60° C durante 3 h. después de concentración de la mezcla de reacción bajo presión reducida, el residuo fue retirado en DCM (50 ml) y lavado con salmuera (1 M, 25 ml) y agua (25 ml). Subsecuentemente, la capa orgánica fue secada (MgSO₄) y concentrada en vacío. El residuo así obtenido fue purificado por HPLC usando una columna C-18 con el siguiente gradiente: TFA acuoso al 0,1% más ACN acuoso al 10% /ACN = 90/10 a 10/90 (v/v) en 30 min. El compuesto titulado fue entonces liofilizado a partir de una mezcla de 1,4-dioxano, TFA acuoso al 0,1% y agua.

Producción: 57 mg (TFA-sal)

MS-ESI: [M+H]⁺ = 514,2

HPLC: R_t: 12,56 min, columna Luna C-18 (II), 3 μm, 100 x 2,0 mm, detección UV = 210 nm, temperatura de horno = 40° C, flujo = 0,25 ml/min, eluyente de amortiguador de fosfato 50 mM pH 2,1/agua/ACN = 10/80/10 a 10/10/80 (v/v/v), tiempo de corrido = 20 min.

Ejemplo 20

5-amino-2-isopropilamino-4-(3-((N-etil-N-(2-metoxietil)-glicinil)-amino)-fenil)-tieno[2,3-d]pirimidin-6-carboxamida de terc-butilo

isopropilamina (150 mg) fue agregado a una solución agitada de 5-amino-2-metanosulfinilo-4-(3-((N-etil-N-(2-metoxietil)-glicinil)-amino)-fenil)-tieno[2,3-d]pirimidin-6-carboxamida de terc-butilo (ejemplo 17 (a), 100 mg) y DIPEA (0,5 ml) en 1,4-dioxano (5 ml) y la mezcla de reacción fue calentada a 60° C durante 3 h. Después de concentración de la mezcla de reacción bajo presión reducida, el residuo fue retirado en DCM (50 ml) y lavado con salmuera (1 M, 25 ml) y agua (25 ml). Subsecuentemente, la capa orgánica fue secada (MgSO₄) y concentrada en vacío. El residuo así obtenido fue purificado por HPLC usando una columna Luna C-18 con el siguiente gradiente: TFA acuoso al 0,1% + ACN acuoso al 10%/ACN = 90/10 a 10/90 (v/v) en 30 min. El compuesto titulado fue liofilizado a partir de una mezcla de 1,4-dioxano, TFA acuoso al 0,1% y agua.

Producción: 57 mg (TFA-sal)

MS-ESI: $[M+H]^+ = 542,4$

HPLC: R_t : 11,01 min, columna Luna C-18 (II), 3 μ m, 100 x 2,0 mm, detección UV = 210 nm, temperatura de horno = 40° C, flujo = 0,25 ml/min, eluyente de amortiguador de fosfato 50 mM pH 2,1/agua/ACN = 10/80/10 a 10/10/80 (v/v/v), tiempo de corrido = 20 min.

Ejemplo 21

5-amino-2-alilamino-4-(3-((N-(metoxycarbonilmetil)-glicinil)-amino)-fenil)-tieno[2,3-d]pirimidin-6-carboxamida de terc-butilo

alilamina (200 mg) fue agregado a una solución agitada de 5-amino-2-metanosulfinil-4-(3-((N-(metoxycarbonilmetil)-glicinil-amino-fenil)-tieno[2,3-d]pirimidin-6-carboxamida de terc-butilo (ejemplo 19 (a), 100 mg) y de DIPEA (0,5 ml) en 1,4-dioxano (5 ml) y la mezcla de reacción fue calentada a 60° C durante 3 h. Después de concentración de la mezcla de reacción bajo presión reducida, el residuo fue retirado en DCM (50 ml) y lavado con salmuera (1 M, 25 ml) y agua (25 ml). Subsecuentemente, la capa orgánica fue secada ($MgSO_4$) y concentrada en vacío. El

residuo así obtenido fue purificado por HPLC usando una columna Luna C-18 con el siguiente gradiente: TFA acuoso al 0,1% + ACN acuoso al 10%/ACN = 90/10 a 10/90 (v/v) en 30 min. El compuesto titulado fue liofilizado a partir de una mezcla de 1,4-dioxano, TFA acuoso al 0,1% y agua.

Producción: 65 mg (TFA-sal)

MS-ESI: $[M+H]^+ = 526,4$

HPLC: R_t : 13,18 min, columna Luna C-18 (II), 3 μ m, 100 x 2,0 mm, detección UV = 210 nm, temperatura de horno = 40° C, flujo = 0,25 ml/min, eluyente de amortiguador de fosfato 50 mM pH 2,1/agua/ACN = 10/80/10 a 10/10/80 (v/v/v), tiempo de corrido = 20 min.

Ejemplo 22

5-amino-2-metoxi-4-(3-((N-etil-N-(2-metoxietil)-glicinil)-amino)-fenil)-tieno[2,3-d]pirimidin-6-carboxamida de terc-butilo

Terc-butoxido de potasio (100 mg) fue agregado a una solución agitada de 5-amino-2-metanosulfinil-4-(3-((N-etil-N-(2-metoxietil)-glicinil)-amino)-fenil)-tieno[2,3-

157

d)pirimidin-6-carboxamida de terc-butilo (ejemplo 17 (a), 200 mg) en metanol (5 ml) y la mezcla de reacción fue calentada a 50° C durante 3 h. Después de concentración de la mezcla de reacción bajo presión reducida, el residuo fue retirado en DCM (50 ml) y lavado con cloruro de amonio acuoso (1 M, 25 ml) salmuera (1 M, 25 ml) y agua (25 ml). Subsecuentemente, la capa orgánica fue secada (MgSO₄) y concentrada en vacío. El residuo así obtenido fue purificado por HPLC usando una columna Luna C-18 con el siguiente gradiente: TFA acuoso al 0,1% + ACN acuoso al 10%/ACN = 90/10 a 10/90 (v/v) en 30 min. El compuesto titulado fue liofilizado a partir de una mezcla de 1,4-dioxano, TFA acuoso al 0,1% y agua.

Producción: 92 mg (TFA-sal)

MS-ESI: [M+H]⁺ = 515,4

HPLC: R_t: 12,21 min, columna Luna C-18 (II), 3 µm, 100 x 2,0 mm, detección UV = 210 nm, temperatura de horno = 40° C, flujo = 0,25 ml/min, eluyente de amortiguador de fosfato 50 mM pH 2,1/agua/ACN = 10/80/10 a 10/10/80 (v/v/v), tiempo de corrido = 20 min.

Ejemplo 23

5-amino-2-aliloxi-4-(3-((N-etil-N-(2-metoxietil)-glicinil)-amino)-fenil)-tieno[2,3-d]pirimidin-6-carboxamida de terc-butilo

Terc-butoxido de potasio (100 mg) fue agregado a una solución agitada de 5-amino-2-metanosulfinil-4-(3-((N-etil-N-(2-metoxietil)-glicinil)-amino)-fenil)-tieno[2,3-d]pirimidin-6-carboxamida de terc-butilo (ejemplo 17 (a), 200 mg) en alcohol de alilo (5 ml) y la mezcla de reacción fue calentada a 50° C durante 3 h. Después de concentración de la mezcla de reacción bajo presión reducida, el residuo fue retirado en DCM (50 ml) y lavado con cloruro de amonio acuoso (1 M, 25 ml), salmuera (1 M, 25 ml) y agua (25 ml). Subsecuentemente, la capa orgánica fue secada (MgSO₄) y concentrada en vacío. El residuo así obtenido fue purificado por HPLC usando una columna Luna C-18 con el siguiente gradiente: TFA acuoso al 0,1% + ACN acuoso al 10%/ACN = 90/10 a 10/90 (v/v) en 30 min. El compuesto titulado fue liofilizado a partir de una mezcla de 1,4-dioxano, TFA acuoso al 0,1% y agua.

Producción: 63 mg (TFA-sal)

MS-ESI: $[M+H]^+ = 541,4$

HPLC: R_t : 12,71 min, columna Luna C-18 (II), 3 μ m, 100 x 2,0 mm, detección UV = 210 nm, temperatura de horno = 40° C, flujo = 0,25 ml/min, eluyente de amortiguador de fosfato 50 mM pH 2,1/agua/ACN = 10/80/10 a 10/10/80 (v/v/v), tiempo de corrido = 20 min.

Ejemplo 24

5-amino-2-isopropoxi-4-(3-((N-etil-N-(2-metoxietil)-glicinil)-amino)-fenil)-tieno[2,3-d]pirimidin-6-carboxamida de terc-butilo

Terc-butoxido de potasio (100 mg) fue agregado a una solución agitada de 5-amino-2-metanosulfinil-4-(3-((N-etil-N-(2-metoxietil)-glicinil)-amino)-fenil)-tieno[2,3-d]pirimidin-6-carboxamida de terc-butilo (ejemplo 17 (a), 200 mg) en isopropanol (5 ml) y la mezcla de reacción fue calentada a 50° C durante 3 h. Después de concentración de la mezcla de reacción bajo presión reducida, el residuo fue retirado en DCM (50 ml) y lavado con cloruro de amonio acuoso (1 M, 25 ml) salmuera (1 M, 25 ml) y agua (25 ml). Subsecuentemente, la capa orgánica fue

154

secada (MgSO_4) y concentrada en vacío. El residuo así obtenido fue purificado por HPLC usando una columna Luna C-18 con el siguiente gradiente: TFA acuoso al 0,1% + ACN acuoso al 10%/ACN = 90/10 a 10/90 (v/v) en 30 min. El compuesto titulado fue entonces liofilizado a partir de una mezcla de 1,4-dioxano, TFA acuoso al 0,1% y agua.

Producción: 32 mg (TFA-sal)

MS-ESI: $[\text{M}+\text{H}]^+ = 543,4$

HPLC: R_t : 12,93 min, columna Luna C-18 (II), 3 μm , 100 x 2,0 mm, detección UV = 210 nm, temperatura de horno = 40° C, flujo = 0,25 ml/min, eluyente de amortiguador de fosfato 50 mM pH 2,1/agua/ACN = 10/80/10 a 10/10/80 (v/v/v), tiempo de corrido = 20 min.

Ejemplo 25

5-amino-2-(4-piridil)-4-(3-((N-(1-hidroxi-2-metil-prop-2-il)-glicinil)-amino)-fenil)-tieno[2,3-d]pirimidin-6-carboxamida de terc-butilo

(a). 5-ciano-4-(3-nitrofenil)-2-(4-piridil)-6-hidroxi-pirimidina

✓✓✓

Una mezcla de hidrocloruro 4-amidino-piridina (16,5 g), 3-nitrobenzaldehído (15,1 g), cianoacetato de etilo (11,2 ml) y carbonato de potasio (16,6 g) en EtOH absoluto (250 ml) fue agitado a 60° C durante 16 h. La mezcla de reacción fue enfriada a 0° C en un baño con hielo. El precipitado resultante fue filtrado, lavado con EtOH absoluto y calentado en agua (100° C) hasta que se obtuvo una solución clara. La solución fue enfriada a 50° C, acidificada hasta un pH 2 por adición de HCl acuoso al 2N y enfriada a 0° C en un baño con hielo. El precipitado resultante fue filtrado y lavado con agua y hielo. El agua residual fue removida por coevaporación con 1,4-dioxano.

Producción: 18,3 g

MS-ESI: $[M+H]^+ = 320,2$

TLC: R_f : 0,2, gel de sílice, DCM/MeOH = 9/1
(v/v)

(b). 6-cloro-5-ciano-4-(3-nitrofenil)-2-(4-piridil)-
pirimidina

POCL₃ (50 ml) fue agregado a una solución agitada de 5-ciano-4-(3-nitrofenil)-2-(4-piridil)-6-hidroxi-pirimidina (ejemplo 25(a), 18,3 g) y dimetilanilina (0,5 ml) en 1,4-dioxano seco p.a. (200 ml). Después de 3 h a 90° C, la mezcla caliente fue filtrada y el filtrado fue concentrado bajo presión reducida. El residuo fue disuelto en 1,4-dioxano y agua con hielo fue agregada. El precipitado resultante fue filtrado y lavado con agua. El agua resultante fue removida por coevaporación con 1,4-dioxano.

Producción: 17,2 g

MS-ESI: [M+H]⁺ = 338,4

TLC: R_f: 0,7, gel de sílice, heptano/EtOAc = 3/2
(v/v)

(c). 5-ciano-4-(3-nitrofenil)-2-(4-piridil)-6-
(etoxicarbonilmetiltio)-pirimidina de etilo

DIPEA (9,8 ml) fue agregada a una solución agitada de 2-mercaptoacetato (5,7 ml) y 6-cloro-5-ciano-4-(3-nitrofenil)-2-(4-piridil)-pirimidina (ejemplo 25(b), 17,2 g) en una mezcla de EtOH (125 ml) y DCM (125 ml) bajo una atmósfera de nitrógeno. Después de 2 h a temperatura

157

ambiente, la mezcla fue diluida con DCM hasta que la disolución fue completa, se lavó con HCL acuoso al 0,5N se secó (MgSO_4) y se concentró bajo presión reducida.

Producción: 20,5 g

MS-ESI: $[\text{M}+\text{H}]^+ = 422,0$

TLC: R_f : 0,6, gel de sílice, heptano/EtOAc = 3/2
(v/v)

(d). 5-amino-4-(3-nitrofenil)-2-(4-piridil)-tieno[2,3-d]pirimidin-6-carboxilato de etilo

DIPEA (20,0 ml) fue agregado a una solución agitada de 5-ciano-4-(3-nitrofenil)-2-(4-piridil)-6-(etoxicarbonilmetiltio)pirimidina de etilo (ejemplo 25(c), 20,5 g) en una mezcla de EtOH absoluto (100 ml) y tolueno p.a. (100 ml). Después de 48 h a 100° C, la mezcla fue enfriada a 0° C. el precipitado resultante fue filtrado, lavado con EtOH frío y secado en vacío a 40° C.

Producción: 15,7 g

MS-ESI: $[\text{M}+\text{H}]^+ = 422,2$

TLC: R_f : 0,5, gel de sílice, heptano/EtOAc = 3/2
(v/v)

✓ 58

(e). 5-amino-4-(3-aminofenil)-2-(4-piridil)-tieno[2,3-d]pirimidin-6-carboxilato de etilo

Una solución de cloruro de estaño (II) (21,0 g) en EtOH absoluto (250 ml) fue agregado a una solución de 5-amino-4-(3-nitrofenil)-2-(4-piridil)-tieno[2,3-d]pirimidin-6-carboxilato de etilo (ejemplo 25(d), 15,7 g) en 1,4-dioxano p.a. (250 ml). HCl acuoso al 37% (6,9 ml) fue agregado y la mezcla fue calentada bajo reflujo (90° C) durante 16 h. La mezcla se le permitió enfriarse a temperatura ambiente y se concentró bajo presión reducida. El residuo fue suspendido en EtOAc (500 ml). NaOH acuosa al 4N fue agregado para obtener un pH entre 10 y 11. La mezcla fue diluida por medio de agregar NaCl acuoso saturado. La capa orgánica fue separada, secada (MgSO₄) y concentrada bajo presión reducida.

Producción: 12,0 g

MS-ESI: [M+H]⁺ = 392,2

TLC: R_f: 0,3, gel de sílice, heptano/EtOAc = 3/2 (v/v).

159

(f). Ácido 5-amino-4-(3-aminofenil)-2-(4-piridil)-tieno[2,3-d]pirimidin-6-carboxílico

Hidróxido de potasio (15,7 g) fue agregado a una solución de 5-amino-4-(3-aminofenil)-2-(4-piridil)-tieno[2,3-d]pirimidin-6-carboxilato de etilo (ejemplo 25(e), 12,0 g) en una mezcla de 1,4-dioxano (210 ml) y agua (80 ml). Después de 16 h a 90° C, la mezcla fue enfriada a 0° C. el precipitado resultante fue filtrado, suspendido en agua (300 ml) y enfriado a 0° C. la mezcla fue acidificada a un pH 3 por medio de la adición de ácido cítrico acuoso al 2N y agitada a 0° C hasta temperatura ambiente durante 2 h. el precipitado resultante fue filtrado, lavado con agua y secado en vacío a 40° C.

Producción: 12,2 g

MS-ESI: $[M+H]^+ = 364,2$

TLC: R_f : 0,1, gel de sílice, DCM/MeOH = 95/5 (v/v).

(g). 5-amino-4-(3-aminofenil)-2-(4-piridil)-tieno[2,3-d]pirimidin-6-carboxamida de terc-butilo

DIPEA (12,9 ml), terc-butilamina (7,8 ml) y TBTU (11,9 g) fueron agregados a una mezcla de ácido 5-amino-4-(3-aminofenil)-2-(4-piridil)-tieno[2,3-d]pirimidin-6-carboxílico (ejemplo 25(f), 12,0 g) en una mezcla de DCM (250 ml) y DCF (50 ml) bajo una atmósfera de nitrógeno. Después de 2 h a temperatura ambiente, la mezcla fue diluida con DCM y lavada con NaHCO₃ acuoso saturado, HCL acuoso al 0,1N NaCl acuoso saturado. La capa orgánica fue secada (MgSO₄) y concentrada bajo presión reducida. El producto crudo fue purificado por cromatografía sobre gel de sílice, usando diclorometano/metanol = 1/0 a 95/5 (v/v) como eluyente

Producción: 12,2 g

MS-ESI: [M+H]⁺ = 419,4

TLC: R_f: 0,3, gel de sílice, heptano/EtOAc = 3/2 (v/v).

(h). 5-amino-4-(3-(2-bromoacetamido)fenil)-2-(4-piridil)-tieno[2,3-d]pirimidin-6-carboxamida de terc-butilo

Una solución de bromuro de bromoacetilo (0,59 ml) en THF (25 ml) fue agregada gota a gota a una solución de 5-amino-4-(3-aminofenil)-2-(4-piridil)-tieno[2,3-

d]pirimidin-6-carboxamida de terc-butilo (ejemplo 25(g), 2,0 g) y N,N-dimetil anilina (3,0 ml) en THF (50 ml). Después de 30 min. A temperatura ambiente, la mezcla fue concentrada bajo presión reducida, subsecuentemente se disolvió en DCM (100 ml), se lavó con NaHCO₃ acuoso saturado, se secó (MgSO₄) y se concentró en vacío. El residuo fue usado sin purificación adicional en la siguiente etapa.

Producción: 2,3 g

MS-ESI: [M+H]⁺ = 539,2

TLC: R_f: 0,3, gel de sílice, heptano/EtOAc = 3/2 (v/v).

(i). 5-amino-2-(4-piridil)-4-(3-((N-(1-hidroxi-2-metil-prop-2-il)-glicinil)-amino)-fenil)-tieno[2,3-d]pirimidin-6-carboxamida de terc-butilo

Una solución agitada de 5-amino-4-(3-(2-bromoacetamido)-fenil)-2-(4-piridinil)-tieno[2,3-d]pirimidin-6-carboxamida de terc-butilo (ejemplo 25(h), 200 mg) en DCM (5 ml) se agregó 2-amino-2-metil-propanol (300 mg). Después de agitar durante 17 h a temperatura ambiente, la mezcla de reacción fue diluida con DCM (100 ml), lavada

161
162

con NaHCO_3 acuoso (1 M, 2 x 50 ml), secada (MgSO_4) y concentrada en vacío. El residuo fue purificado por HPLC usando una columna Luna C-18 con el siguiente gradiente: TFA acuoso al 0,1% + ACN acuoso al 10%/ACN = 90/10 a 10/90 (v/v) en 30 min. El compuesto titulado fue entonces liofilizado a partir de una mezcla de 1,4-dioxano, TFA acuoso al 0,1% y agua.

Producción: 73 mg (TFA-sal)

MS-ESI: $[\text{M}+\text{H}]^+ = 548,2$

HPLC: R_t : 9,65 min, columna Luna C-18 (II), 3 μm , 100 x 2,0 mm, detección UV = 210 nm, temperatura de horno = 40° C, flujo = 0,25 ml/min, eluyente de amortiguador de fosfato 50 mM pH 2,1/agua/ACN = 10/80/10 a 10/10/80 (v/v/v), tiempo de corrido = 20 min.

Ejemplo 26

5-amino-2-(4-piridil)-4-(3-((N,N-bis-(2-metoxietil)-glicinil)-amino)-fenil-tieno[2,3-d]pirimidina-6-carboxamida de terc-butilo

163

163

A una solución agitada de 5-amino-4-(3-(2-bromoacetamido)-fenil)-2-(4-piridil)-tieno[2,3-d]pirimidina-6-carboxamida de terc-butilo (ejemplo 25(h), 200 mg) en DCM (5 ml) se agregó bis-(2-metoxietil)-amina (300 mg). Después de agitar durante 17 h a temperatura ambiente, la mezcla de reafición fue diluida con DCM (100 ml), lavada con NaHCO₃ acuoso (1 M, 2 x 50 ml), secada (MgSO₄) y concentrada en vacío. El residuo fue purificado por HPLC usando una columna Luna C-18 con el siguiente gradiente: TFA acuoso al 0,1% + ACN acuoso al 10%/ACN = 90/10 a 10/90 (v/v) en 30 min. El compuesto titulado fue entonces liofilizado a partir de una mezcla de 1,4-dioxano, TFA acuoso al 0,1% y agua.

Producción: 170 mg (TFA - sal)

MS-ESI: [M+H]⁺ = 592,2

Hplc: R_t = 12,02 min, columna Luna C-18(2), 3 µm, 100 x 2,0 mm, detección de UV = 210 nm, temperatura de horno = 40° C, flujo = 0,25 ml/min, eluyente de amortiguador de fosfato 50 mM pH 2,1/agua/ACN = 10/80/10 a 10/10/80 (v/v/v), tiempo de corrida = 20 min.

Ejemplo 27Bioactividad del CHO-LH y CHO-FSH in vitro

La actividad agonística del LH de los compuestos fueron ensayados en células de ovario de Hámster chino (CHO) transfectadas establemente con el receptor de LH humano y cotransfectadas con un elemento que responde al cAMP (CRE)/promotor que dirige la expresión de un gen reportero de la luciferasa de fuego. Ligar la unión del ligando al receptor LH acoplado por Gs resultará en un incremento de cAMP, lo que a su vez inducirá una transactivación de la construcción del reportero de luciferasa. La señal de luciferasa fue cuantificada usando un contador de luminiscencia. Para los compuestos de ensayo, los valores EC_{50} (concentración del compuesto de ensayo que causa la mitad máxima (50%) de la estimulación) fueron calculadas. Para este propósito el programa de software GraphPad PRISM, versión 3.0 (GraphPad Software Inc., San Diego) se usó.

De una manera similar la actividad agonística FSH de los compuestos fueron ensayados en células CHO transfectadas

164
165

con el gen reportero de luciferasa y el receptor FSH humano. Los resultados se muestran en la tabla 1.

Bioactividad in vivo

Para medir la actividad in vivo de los compuestos agonísticos de receptor LH/FSH de inducción de ovulación en ratones inmaduros se estudió. En este ensayo ratones hembra inmaduros fueron cebados con FSH urinario (Humegon 12,5 IU/animal). Aproximadamente 48 horas después los animales fueron tratados con el compuesto agonístico LH/FSH, la preparación del cual se describe en los ejemplos 1, 4, 9, y 17, a un nivel de dosis de 50 mg/kg. Los animales fueron sacrificados 24 horas después del tratamiento con el agonista LH/FSH y el número de óvulos en el oviducto fue accesado microscópicamente. En promedio 10 a 15 animales fueron ensayados. El número promedio de óvulos contados fue 8 con la excepción del compuesto de ejemplo 17 (el cual dio 0,4).

166
165-

Tabla 1

Nombre	Ejemplo	LE EC50 (M)	FSH EC50 (M)
5-amino-2-metiltio-4-(3- ((N-metil-N-(2- hidroxietil)-glicinil)- amino)-fenil)-tieno[2,3- d]pirimidin-6-carboxamida de terc-butilo	1	2,73E-09	5,69E-08
5-amino-2-metiltio-4-(3- ((N-(1-hidrox-2-metil- prop-2-il)-glicinil)- amino)-fenil)-tieno[2,3- d]pirimidin-6-carboxamida de terc-butilo	2	5,42E-09	8,06E-07
5-amino-2-metiltio-4-(3- ((N-(metoxycarbonilmetil)- glicinil)-amino)-fenil)- tieno[2,3-d]pirimidin-6- carboxamida de terc-butilo	3	5,97E-09	1,44E-06
5-amino-2-metiltio-4-(3- ((N-etil-N-(2-metoxietil)- glicinil)-amino)-fenil)- tieno[2,3-d]pirimidin-6- carboxamida de terc-butilo	4	7,00E-09	1,01E-07
5-amino-2-metiltio-4-(3- ((N-(R-1-metoxycarbonil-2- metil-prop-1-il)-	5	9,63E-09	3,48E-07

166
167

glicinil)-amino)-fenil)- tieno[2,3-d]pirimidin-6- carboxamida de terc-butilo			
5-amino-2-metiltio-4-(3- (N,N-bis-(2-metoxietil)- glicinil)-amino)-fenil)- tieno[2,3-d]pirimidin-6- carboxamida de terc-butilo	6	1,00E-08	1,1E-06
5-amino-2-metiltio-4-(3- (2,3-dihidroxi-prop-1- il)-glicinil)-amino)- fenil)-tieno[2,3- d]pirimidin-6-carboxamida de terc-butilo	7	1,22E-08	1,13E-06
5-amino-2-metiltio-4-(3- (1,3-dihidroxi-prop-2-il)- glicinil)-amino)-fenil)- tieno[2,3-d]pirimidin-6- carboxamida de terc-butilo	8	2,64E-08	1,00E-06
5-amino-2-fenil-4-(3-(N- etil-N-(2-hidroxietil)- glicinil)-amino)-fenil)- tieno[2,3-d]pirimidin-6- carboxamida de terc-butilo	9	4,82E-09	6,06E-07
5-amino-2-fenil-4-(3-(N- (metoxycarbonilmetil)- glicinil)-amino)-fenil)- tieno[2,3-d]pirimidin-6- carboxamida de terc-butilo	10	1,01E-08	2,48E-06
5-amino-2-(2-furil)-4-(3- (N-metil-N-(2-	11	4,00E-09	6,16E-07

168

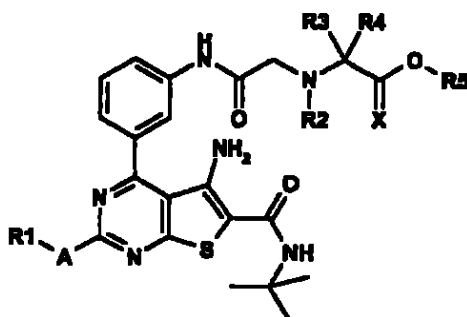
hidroxietil-glicinil)- amino)-fenil)-tieno[2,3- d]pirimidin-6-carboxamida de terc-butilo			
5-amino-2-(2-furil)-4-(3- (N-(1-hidroxi-2-metil- prop-2-1l)-glicinil)- amino)-fenil)-tieno[2,3- d]pirimidina-6-carboxamida de terc-butilo	12	1,18E-08	2,97E-06
5-amino-2-(2-furil)-4-(3- (N-(metoxicarbonilmetil)- glicinil)-amino)-fenil)- tieno[2,3-d]pirimidina-6- carboxamida de terc-butilo	13	1,21E-08	2,55E-06
5-amino-2-(2-tienil)-4-(3- (N-metil-N-(2- hidroxietil)-glicinil)- amino)-fenil)-tieno[2,3- d]pirimidina-6-carboxamida de terc-butilo	14	5,28E-09	1,44E-06
5-amino-2-(2-tienil)-4-(3- (N-(metoxicarbonilmetil)- glicinil)-amino)-fenil)- tieno[2,3-d] pirimidina-6- carboxamida de terc-butilo	15	1,82E-08	3,21E-06
5-amino-2-(2-tienil)-4-(3- (N,N-di-(2-metoxietil)- glicinil)-amino)-fenil)- tieno[2,3-d]pirimidin-6- carboxamida de terc-butilo	16	2,13E-08	6,81E-06

5-amino-2-etilamino-4-(3-((N-etil-N-(2-metoxietil)-glicinil)-amino)-fenil)-tieno[2,3-d]pirimidin-6-carboxamida de terc-butilo	17	1,04E-08	1,25E-06
5-amino-2-(N,N-dimetilamino)-4-(3-((N-metil-N-(2-hidroxietil)-glicinil)-amino)-fenil)-tieno[2,3-d]pirimidin-6-carboxamida de terc-butilo	18	1,45E-08	1,63E-06
5-amino-2-etilamino-4-(3-((N-(metoxicarbonilmetil)-glicinil)-amino)-fenil)-tieno[2,3-d]pirimidin-6-carboxamida de terc-butilo	19	2,29E-08	2,30E-06
5-amino-2-isopropilamino-4-(3-((N-etil-N-(2-metoxietil)-glicinil)-amino)-fenil)-tieno[2,3-d]pirimidin-6-carboxamida de terc-butilo	20	4,24E-08	2,95E-06
5-amino-2-alilamino-4-(3-((N-(metoxicarbonilmetil)-glicinil)-amino)-fenil)-tieno[2,3-d]pirimidin-6-carboxamida de terc-butilo	21	5,70E-08	5,60E-07
5-amino-2-metoxi-4-(3-((N-etil-N-(2-metoxietil)-glicinil)-amino)-fenil)-tieno[2,3-d]pirimidin-6-	22	1,16E-08	9,53E-07

carboxamida de terc-butilo			
5-amino-2-aliloxi-4-(3- (N-etil-N-(2-metoxietil)- glicinil)-amino)-fenil)- tieno[2,3-d]pirimidin-6- carboxamida de terc-butilo	23	3,68E-08	1,74E-06
5-amino-2-isopropoxi-4-(3- (N-etil-N-(2-metoxietil)- glicinil)-amino)-fenil)- tieno[2,3-d]pirimidin-6- carboxamida de terc-butilo	24	7,82E-08	2,51E-06
5-amino-2-(4-piridil)-4- (3-((N-(1-hidroxi-2-metil- prop-2-il)-glicinil)- amino)-fenil)-tieno[2,3- d]pirimidin-6-carboxamida de terc-butilo	25	3,47E-08	4,00E-07
5-amino-2-(4-piridil)-4- (3-((N,N-bis-(2- metoxietil)-glicinil)- amino)-fenil)-tieno[2,3- d]pirimidina-6-carboxamida de terc-butilo	26	3,82E-08	1,23E-06

171
170REIVINDICACIONES

1. Un derivado de tieno[2,3-d]pirimidina de acuerdo con la fórmula general I,



(Fórmula I)

o una sal farmacéuticamente aceptable de esta, en donde

X es O o H,H

A es S, NH, N(R⁶), O o un enlace;

R¹ es alquilo (C₁-C₄), alquenilo (C₂-C₄), fenilo o heteroarilo (C₂-C₃), el anillo de fenilo o heteroarilo opcionalmente están sustituidos con uno o más del grupo de sustituyentes: hidroxí, halógeno, nitro, triflorometilo, ciano, amino o (C₁-C₄)(di)alquilamino

172
1A1

R^2 es H, alquilo (C_1-C_4), (C_1-C_4)alcoxi(C_2-C_4)alquilo o hidroxí (C_2-C_4)alquilo;

R^3 y R^4 pueden ser independientemente seleccionados de H, alquilo (C_1-C_4) e hidroxí (C_1-C_4)alquilo;

R^5 es H o alquilo (C_1-C_4), y

R^6 puede ser seleccionado de los mismos grupos que se describieron para R^1 .

2. El compuesto de acuerdo con la reivindicación 1 en donde X es H,H.

3. El compuesto de acuerdo con las reivindicaciones 1 o 2 en donde R^5 es alquilo (C_1-C_4).

4. El compuesto de acuerdo con las reivindicaciones 1 a 3 en donde R^3 es = a R^4 .

5. El compuesto de acuerdo con las reivindicaciones 1 a 4 en donde $R^3 = R^4 = H$.

D

12
123

6. El compuesto de acuerdo con las reivindicaciones 1 a 5 en donde R^2 es alquilo (C_1-C_4).
7. El compuesto de acuerdo con las reivindicaciones 1 a 6 para uso en terapia.
8. Una composición farmacéutica que comprende un compuesto de tieno[2,3-d]pirimidina de acuerdo con las reivindicaciones 1 a 6 o una sal farmacéuticamente aceptable o solvato del mismo, en mezcla con un auxiliar farmacéuticamente aceptable.
9. El uso de compuestos de tieno[2,3-d]pirimidina de acuerdo con las reivindicaciones 1 a 6 o una sal o solvato farmacéuticamente aceptable de los mismos para la fabricación de un medicamento para el control de la fertilidad.
10. Un método para tratar desórdenes de fertilidad en pacientes que lo necesitan por medio de administrar una cantidad efectiva de un compuesto de acuerdo con las reivindicaciones 1 a 6.

Expediente No		No de Folio
Item	No de unidades	
1	CD	
2	DVD	
3	REVISTA	
4	LIBRO	
5	PERIODICO	
6	DISQUETES	
7	SOBRE DE MANILA	
8	SOBRE BLANCO TAMAÑO CARTA	
9	SOBRE BLANCO TAMAÑO OFICIO <i>A</i>	
10	OTROS:	

Observaciones: *Art final*

175

NIT : 800176089-2

SUPERINDUSTRIA Y COMERCIO

RECIBO OFICIAL DE CAJA : 04 - 16,319
FECHA : MARZO 1 DE 2004

Radicacion : 04200066 00000000 Folios: 174
Fecha (AND): 2004-03-04 17:06:10
Tramite : 011 PCI-PATENT 379 FASE NDC1 411 PRESENTAC:
Dependencia: 2020 DIVISION DE NUEVAS CREACIONES

***** CONSIGNACION *****

DEPOSITANTE	TIPO PAGO	BANCO	CUENTA	No. PAGO	FECHA PGO	Vr. PAGO
CAVELIER ABOGADOS	CONSIGNACION	BANCO POPULAR	050-00110-6	20338560	01/03/2004	31,169,400.00

***** CONCEPTO *****

CANT. RENTISTICO	CONCEPTO	TOTAL CONCEPTO
1 50005-01-01 SOLICITUDES	1 TRAMITES DE SOL. DE PATENTE DE IN	422,000.00
	TOTAL :	\$ 422,000.00

SOM: CUATROCIENTOS VEINTIDOS MIL PESOS

RESPONSABLE :



RECIBO DE CAJA APLICADO AL EXPEDIENTE No. _____

Obb 11214-841-06-3

175
176

SUPERINTENDENCIA Y COMISIÓN
Radicación : 04030066 00000000 Folio: 17
Fecha (MM): 2004-03-04 17:06:10
Trámite : 011 PCI-PATENTE 379 FASE INICI 011 PROC/INIC
Procedencia: PLEN DIVISION DE MARCAS COMERCIALES

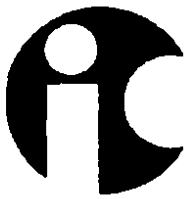
REQUISITOS NECESARIOS PARA PRESENTACION Y AGILIZACION DEL TRAMITE

	USUARIO	RADICADOR
PATENTE DE INVENCION ✓	()	() ✓
- Indicación de que se solicita la concesión de una patente.	()	() ✓
- Datos de identificación del solicitante o de la persona que se presenta la solicitud.	()	() ✓
- Descripción de la invención.	()	() ✓
- Dibujos de ser estos pertinentes.	()	() ✓
- Comprobante de Pago de las tasas establecidas.	()	() ✓
COMPLETA ()		INCOMPLETA ()
DISEÑO INDUSTRIAL ()		
- Indicación de que se solicita el registro de Diseño Industrial	()	()
- Datos de identificación del solicitante o de la persona que presenta la solicitud.	()	()
- Representación gráfica y fotográfica del Diseño Industrial o muestra del Material que incorpora el diseño.	()	()
- Comprobante de pago de las tasas establecidas.	()	()
COMPLETA ()		INCOMPLETA ()
ESQUEMA DE TRAZADO ()		
- Indicación de que solicita el registro de un Esquema de trazado.	()	()
- Datos de identificación del solicitante o de la persona que presenta La solicitud.	()	()
- Representación gráfica del esquema de trazado	()	()
- Comprobante de pago de las tasas establecidas.	()	()
COMPLETA ()		INCOMPLETA ()

Firma Responsable:

Claudia M. Neva

Fecha:



Folio ~~176~~

177

2020
Bogotá DC

Doctor(a)
EMILIO FERRERO
Apoderado(a)
AKZO NOBEL N.V.

REFERENCIA:	Radicación No.	04-20066
	Solicitud Internacional	PCT/EP02/09648
	Fecha inicio fase nacional	04/05/2004
	Trámite	011
	Evento	379
	Actuación	416
	Oficio No.	644
	Folios	001

Teniendo en cuenta que la solicitud de privilegio de patente que se tramita bajo el expediente indicado en la referencia, reúne los requisitos de forma establecidos en la Decisión 486 de la Comisión de la Comunidad Andina, el Tratado de Cooperación en Materia de Patentes (PCT), el Reglamento y la Circular Unica de la Superintendencia de Industria y Comercio, se envía el extracto de la solicitud a la Oficina de Comunicaciones para efecto de su publicación en la Gaceta de Propiedad Industrial.

Cúmplase
Dado en Bogotá DC, **17 O MAYO 2004**


ALIX CARMENZA CESPEDES DE VERGEL
Jefe de la División de Nuevas Creaciones

202060