

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 494 842**

51 Int. Cl.:

**A61K 31/519** (2006.01)

**A61K 9/20** (2006.01)

**A61P 15/08** (2006.01)

**A61P 43/00** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **21.07.2006 E 06781853 (4)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **20.08.2014 EP 1917978**

54 Título: **Agente que previene la ovulación precoz**

30 Prioridad:

**22.07.2005 JP 2005212973**

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

**16.09.2014**

73 Titular/es:

**TAKEDA PHARMACEUTICAL COMPANY LIMITED  
(100.0%)**

**1-1, Doshomachi 4-chome Chuo-ku Osaka-shi  
Osaka 541-0045, JP**

72 Inventor/es:

**FURUYA, SHUICHI y  
KUSAKA, MASAMI**

74 Agente/Representante:

**DE ELZABURU MÁRQUEZ, Alberto**

**ES 2 494 842 T3**

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

## DESCRIPCIÓN

Agente preventivo contra la ovulación precoz

Campo técnico

5 La presente invención se refiere a un uso farmacéutico de un compuesto no peptídico que tiene una acción antagonista de la hormona que libera gonadotropina, y específicamente se refiere a un inhibidor de la ovulación precoz para usar en la fertilización in vitro o en el procedimiento de transferencia de embriones.

Antecedentes de la invención

10 La secreción de la hormona de la pituitaria anterior está regulada por hormonas periféricas secretadas desde los respectivos órganos diana de la hormona y que liberan o inhiben la hormona (de aquí en adelante en la presente memoria descriptiva estos grupos de hormonas se denominarán en general como hormonas hipotalámicas) secretada desde el hipotálamo, el cual es el nervio superior de la pituitaria anterior. Hasta ahora se ha confirmado que 9 clases de hormonas están presentes como hormonas hipotalámicas, por ejemplo, la hormona que libera tirotrópina (TRH), la hormona que libera gonadotropina {GnRH: también denominada hormona que libera la hormona luteinizante (LH-RH)}. Se supone que estas hormonas hipotalámicas expresan su acción hormonal vía receptores que se considera están presentes en la pituitaria anterior, y está en curso el análisis de genes receptores, que incluyen los de seres humanos, específicos para estas hormonas. Por consiguiente, un antagonista o agonista específico y selectivo de esos receptores controlará la acción de las hormonas hipotalámicas y regulará la secreción de hormonas desde la pituitaria anterior. Consecuentemente, se espera que el antagonista o agonista prevenga o trate enfermedades dependientes de esas hormonas secretadas por la pituitaria anterior.

20 Los documentos WO00/56739 y WO04/067535 describen que un antagonista de la hormona que libera gonadotropina (GnRH) es útil como agente para la profilaxis o el tratamiento de cánceres que dependen de hormonas sexuales (por ej., cáncer de próstata, cáncer de útero, cáncer de mama, tumor de la pituitaria, etc.), hiperplasia prostática, fibroide uterino, endometriosis, pubertad precoz, amenorrea, síndrome premenstrual, síndrome de ovario multilocular, acné y similares; un regulador de la reproducción para machos y hembras (por ej., un agente para el control de la natalidad, un regulador del ciclo menstrual, etc.); un fármaco anticonceptivo para machos y hembras; un agente inductor de la ovulación para hembras; un agente terapéutico contra la infertilidad; y como un regulador del celo para animales, un agente mejorador de la calidad de la carne para carne comestible, y un promotor del crecimiento para animales en el campo de la ganadería.

30 Para el tratamiento de la esterilidad está en alza el uso de la fertilización in vitro. Se usa para pacientes estériles con enfermedad del tubo falopiano, endometriosis, oligoespermia, anticuerpos antiesperma y otros tipos de esterilidad de causa desconocida.

35 Para madurar el oocito se realiza la fertilización in vitro, un tratamiento para estimular el ovario, tal como el uso combinado de citrato de clomifeno y HMG (Gonadotropina Menopáusica Humana), administración única de HMG, el uso combinado de un agonista de GnRH y HMG, y tratamientos similares. En general, después de una maduración adecuada del foliculo del ovario, se recoge transvaginalmente un oocito bajo supervisión con ultrasonidos, y el oocito recogido se somete a fertilización in vitro. Se transfiere un embrión incubado a la cavidad uterina y, cuando se tiene éxito, se implanta y da lugar al embarazo. Para el tratamiento de la esterilidad, en la fertilización in vitro la recogida del óvulo hasta la transferencia de embriones se realiza en una secuencia de procedimientos, así como la transferencia de embriones congelados y la transferencia intrafalopiana de gametos.

40 Se ha informado del uso de un antagonista peptídico de GnRH que disminuye la concentración de LH (hormona luteinizante) en la fertilización in vitro (IVF) (European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology 115S (2004) S44-S56).

45 Sin embargo, los compuestos peptídicos son aún problemáticos en muchos aspectos tales como la capacidad de absorción oral, la forma de administración, la dosis, la estabilidad del agente farmacéutico, la sostenibilidad de la acción y la estabilidad metabólica. Hay una fuerte demanda de un compuesto no peptídico que tenga una acción antagonista de la hormona que libera gonadotropina, el cual sea superior en capacidad de absorción oral, pueda potenciar o ayudar a la fertilización in vitro y no provoque una acción transitoria sobre la gonadotropina de la pituitaria.

50 Un objeto de la presente invención es proporcionar un inhibidor de la ovulación precoz para usar en la fertilización in vitro o en el procedimiento de transferencia de embriones, el cual tenga una acción antagonista de GnRH superior, sea menos tóxico, sea superior en la capacidad de absorción oral, tenga sostenibilidad de la acción, estabilidad y farmacocinética, sea fácil de producir y pueda usarse con seguridad para reforzar o ayudar en la fertilización in vitro o en el procedimiento de transferencia de embriones.

## Descripción de la invención

Los presentes inventores han encontrado inesperadamente que un compuesto que tiene un acción antagonista sobre la hormona que libera gonadotropina es, sobre la base de su estructura química específica, útil como inhibidor de la ovulación precoz para la fertilización in vitro o el procedimiento de transferencia de embriones, o un inhibidor de la ovulación precoz bajo estimulación controlada del ovario, y puede administrarse oralmente. Estudios adicionales basados en estos hallazgos dieron lugar a la finalización de la presente invención.

Por consiguiente, la presente invención se refiere a [1] un compuesto, N-(4-(1-(2,6-difluorobencil)-5-((dimetilamino)metil)-3-(6-metoxi-3-piridazinil)-2,4-dioxo-1,2,3,4-tetrahidrotieno[2,3-d]pirimidin-6-il)fenil)-N'-metoxiurea o una de sus sales, para usar en la inhibición de la ovulación precoz durante la fertilización in vitro o el procedimiento de transferencia de embriones en un mamífero, excluyendo procedimientos de transferencia de embriones de ser humano industriales o comerciales.

Como la sal de N-(4-(1-(2,6-difluorobencil)-5-((dimetilamino)metil)-3-(6-metoxi-3-piridazinil)-2,4-dioxo-1,2,3,4-tetrahidrotieno[2,3-d]pirimidin-6-il)fenil)-N'-metoxiurea, son preferibles las sales de adición de ácidos fisiológicamente aceptables. Ejemplos de tales sales incluyen sales con un ácido inorgánico (por ej., ácido clorhídrico, ácido bromhídrico, ácido nítrico, ácido sulfúrico y ácido fosfórico) y sales de ácidos orgánicos (por ej., ácido fórmico, ácido acético, ácido trifluoroacético, ácido fumárico, ácido oxálico, ácido tartárico, ácido maleico, ácido cítrico, ácido succínico, ácido málico, ácido metanosulfónico, ácido bencenosulfónico y ácido p-toluenosulfónico).

La N-(4-(1-(2,6-difluorobencil)-5-((dimetilamino)metil)-3-(6-metoxi-3-piridazinil)-2,4-dioxo-1,2,3,4-tetrahidrotieno[2,3-d]pirimidin-6-il)fenil)-N'-metoxiurea puede producirse por un método conocido, por ejemplo los métodos descritos en el documento WO04/067535.

Cuando la N-(4-(1-(2,6-difluorobencil)-5-((dimetilamino)metil)-3-(6-metoxi-3-piridazinil)-2,4-dioxo-1,2,3,4-tetrahidrotieno[2,3-d]pirimidin-6-il)fenil)-N'-metoxiurea tiene uno o más átomos de carbono asimétricos en una molécula, tanto la configuración R como la S debidas a tal átomo de carbono asimétrico también están englobadas en la presente invención.

La N-(4-(1-(2,6-difluorobencil)-5-((dimetilamino)metil)-3-(6-metoxi-3-piridazinil)-2,4-dioxo-1,2,3,4-tetrahidrotieno[2,3-d]pirimidin-6-il)fenil)-N'-metoxiurea puede marcarse con un isótopo (por ej., 3H, 14C, 35S).

Cuando la N-(4-(1-(2,6-difluorobencil)-5-((dimetilamino)metil)-3-(6-metoxi-3-piridazinil)-2,4-dioxo-1,2,3,4-tetrahidrotieno[2,3-d]pirimidin-6-il)fenil)-N'-metoxiurea tiene isómeros tales como tautómeros, isómeros ópticos, estereoisómeros, isómeros posicionales e isómeros rotacionales, cualquier isómero y una mezcla de isómeros también están englobados en los compuestos en la presente invención.

Además, cuando la N-(4-(1-(2,6-difluorobencil)-5-((dimetilamino)metil)-3-(6-metoxi-3-piridazinil)-2,4-dioxo-1,2,3,4-tetrahidrotieno[2,3-d]pirimidin-6-il)fenil)-N'-metoxiurea tiene isómeros ópticos, los resueltos a partir de los racematos también están englobados en el compuesto de la presente invención. Estos isómeros pueden obtenerse respectivamente como productos aislados según un método de síntesis o de separación conocido per se (concentración, extracción con disolventes, cromatografía en columna y recristalización).

La N-(4-(1-(2,6-difluorobencil)-5-((dimetilamino)metil)-3-(6-metoxi-3-piridazinil)-2,4-dioxo-1,2,3,4-tetrahidrotieno[2,3-d]pirimidin-6-il)fenil)-N'-metoxiurea puede estar en forma de cristales, y tanto un monocristal como una mezcla de cristales están englobados en el compuesto de la presente invención. Los cristales pueden producirse por cristalización según un método de cristalización conocido per se.

La N-(4-(1-(2,6-difluorobencil)-5-((dimetilamino)metil)-3-(6-metoxi-3-piridazinil)-2,4-dioxo-1,2,3,4-tetrahidrotieno[2,3-d]pirimidin-6-il)fenil)-N'-metoxiurea puede ser un hidrato o no. Ejemplos de los hidratos incluyen 1 hidrato, 1,5 hidrato y 2 hidrato. Cuando el compuesto de la presente invención se obtiene como una mezcla de formas ópticamente activas, pueden resolverse en la forma deseada (R) o (S) según un método de resolución óptica conocido per se. Por otra parte, el compuesto de la presente invención puede marcarse con un isótopo (por ej., 3H, 14C, 35S).

El compuesto no peptídico que tiene una acción antagonista de GnRH es poco tóxico y muestra una acción antagonista de GnRH superior y baja toxicidad. Por otra parte, es superior en capacidad de absorción oral, así como en estabilidad y farmacocinética. Además, su producción es fácil y simple.

La "fertilización in vitro (IVF)" se refiere a un método que comprende recoger un óvulo, fertilizar el óvulo in vitro con un espermatozoo y, cuando la escisión ha progresado hasta un cierto grado, insertar el óvulo en la cavidad uterina. Esto es, incluye los procedimientos de inducción de la ovulación, recogida del óvulo, fertilización y cultivo in vitro, y transferencia de embriones.

Entre los procedimientos de fertilización in vitro, la "transferencia de embriones" se refiere al procedimiento de implantar embriones en la cavidad uterina. Uno a varios de los embriones insertados en la cavidad uterina se implantan en el útero, dando lugar de este modo al embarazo. La expresión también engloba la transferencia de embriones congelados y la transferencia intrafalopiana de gametos que no implican fertilización in vitro.

5 El “procedimiento de transferencia de embriones” se refiere al período completo durante el cual se realizan la inserción de un embrión o gameto en la cavidad uterina o en el tubo falopiano, una secuencia de procedimientos de implantación del embrión o gameto en el útero y el embarazo, la administración de fármacos antes y después de la transferencia de embriones para conseguir el embarazo. La exclusión de “procedimientos de transferencia de embriones de ser humano industriales o comerciales” es requerida por el Artículo 53(a) de la Regla 28(c) de EPC.

La “inhibición de la ovulación precoz” quiere decir inhibir que una ovulación se produzca antes que el momento de la recogida del óvulo para la fertilización in vitro, debido a la ovulación inducida por la oleada de LH durante el período natural. Una vez que se produce la ovulación natural, la recogida exógena del óvulo se torna difícil y no puede realizarse la fertilización in vitro.

10 El compuesto de la presente invención suprime la secreción de la hormona gonadotrópica en mamíferos (por ej., ser humano, mono, bovinos, caballo, perro, gato, conejo, rata y ratón) por su acción antagonista sobre los receptores de GnRH y pueden usarse con seguridad para promover y (o) ayudar a la fertilización in vitro (IVF).

15 El compuesto de la presente invención se usa, por ejemplo, para recoger un óvulo en la fertilización in vitro. Para recoger un óvulo bueno, el óvulo se recoge mediante control exógeno más que mediante ovulación natural, para lo cual el compuesto de la presente invención se usa para eliminar la influencia de la LH endógena. Específicamente, a la vez que se promueve la maduración del óvulo con un agente inductor de la ovulación, se inhibe la ovulación precoz mediante la administración simultánea del compuesto de la presente invención. Además, el compuesto de la presente invención se usa en el procedimiento de transferencia de embriones en la fertilización in vitro, la transferencia de embriones congelados y en la transferencia intrafalopiana. Eliminando la influencia de la LH endógena, desde una etapa previa a la implantación de embriones o gametos hasta el embarazo por medio de la implantación de embriones en el útero después de la transferencia, el útero puede controlarse hasta un estado adecuado para conseguir el embarazo.

20 Puesto que el compuesto de la presente invención es superior en capacidad de absorción oral y permite la administración oral, es superior como agente promotor y (o) de ayuda para la fertilización in vitro o como un inhibidor de la ovulación precoz usado bajo estimulación controlada del ovario, en comparación con los antagonistas peptídicos convencionales de GnRH administrados por inyección subcutánea.

25 Por lo tanto, el compuesto de la presente invención es útil como inhibidor de la ovulación precoz para usar en la fertilización in vitro o en el procedimiento de transferencia de embriones, como inhibidor de la ovulación inducida por la LH endógena en la fertilización in vitro y como inhibidor de la ovulación precoz bajo estimulación controlada del ovario. Usando el compuesto de la presente invención no sólo puede obtenerse ciertamente un óvulo maduro, sino que también puede esperarse la probabilidad o estabilidad de la fertilización del óvulo recogido, la implantación en el útero, la consecución del embarazo y el mantenimiento del embarazo.

30 El compuesto de la presente invención puede usarse en combinación en el procedimiento hasta la recogida del óvulo en la fertilización in vitro, cuando para promover la maduración del óvulo se usa un agente inductor de la ovulación tal como la hormona estimulante de los folículos y la hormona luteinizante. Además, el compuesto de la presente invención puede usarse en el procedimiento de transferencia de embriones en combinación con un promotor de la implantación o del embarazo.

35 El compuesto de la presente invención puede usarse en combinación con gonadotropina (FHS, LH) o un agente farmacéutico que tenga una acción semejante a la gonadotropina; un agonista superactivo de GnRH tal como acetato de leuprorelina, gonadrelina, buserelina, triptorelina, goserelina, nafarelina, histrelina, deslorelina, meterelina y lecirelina (preferiblemente acetato de leuprorelina); o un antagonista de GnRH tal como cetorelix, ganirelix, abarelix, Nal-Blu, antida, azalina B, degarelix, D63153 y teverelix.

40 Además, el compuesto de la presente invención también puede usarse en combinación con al menos una clase de un antiandrógeno o antiestrógeno esteroide o no esteroide, un agente quimioterapéutico, un antagonista peptídico de GnRH, un inhibidor de la  $\alpha$ -reductasa, un inhibidor de  $\alpha$ -receptores, inhibidor de la aromatasas, un inhibidor de la  $17\beta$ -hidroxiesteroide deshidrogenasa, un inhibidor de la producción de andrógenos adrenales, un inhibidor de las quinasas, un agente terapéutico hormonal, factores del crecimiento o un agente farmacéutico que inhiba la acción de uno de sus receptores (de aquí en adelante en la presente memoria éstos también se denominarán como fármacos concomitantes).

45 Ejemplos del “agente quimioterapéutico” incluyen ifosfamida, UTF, adriamicina, peplomicina, cisplatina, ciclofosfamida, 5-FU, UFT, metotrexato, mitomicina C y mitoxantrona.

Ejemplos del “inhibidor de la producción de andrógenos adrenales” incluyen un inhibidor de liasas (C17,20-liasa).

Ejemplos del “inhibidor de las quinasas” incluyen la tirosina quinasa.

50 Ejemplos del “agente terapéutico hormonal” incluyen antiestrógenos, progestógenos (por ej., MPA y similares), andrógenos, estrógenos y anti-andrógenos.

Los “factores del crecimiento” pueden ser cualquier sustancia en tanto y cuanto potencien el crecimiento celular, y en general, un factor que es un péptido que tiene un peso molecular de no más que 20.000 y exhibe una acción a baja concentración sobre el enlace con un receptor. Ejemplos específicos incluyen (1) EGF (factor de crecimiento epidérmico) o sustancias que tienen una actividad sustancialmente idéntica a su actividad (por ej., EGF, heregulina (ligando HER2), (2) insulina o sustancias que tienen una actividad sustancialmente idéntica a su actividad (por ej., insulina, IGF (factor de crecimiento semejante a la insulina)-1, IGF-2, (3) FGF (factor del crecimiento de los fibroblastos) o sustancias que tienen una actividad sustancialmente idéntica a su actividad (por ej., aFGF, bFGF, KGF (factor del crecimiento de los queratinocitos), HGF (factor del crecimiento de los hepatocitos), FGF-10 y semejantes), (4) factores del crecimiento (por ej., CSF (factor estimulante de las colonias), EPO (eritropoyetina), IL-2 (interleuquina-2), NGF (factor del crecimiento de los nervios), PDGF (factor del crecimiento derivado de plaquetas), TGF $\beta$  (factor  $\beta$  de crecimiento transformante). El “receptor de los factores del crecimiento” puede ser cualquier receptor capaz de enlazarse con los factores del crecimiento anteriormente mencionados. Ejemplos específicos de los mismos incluyen el receptor EGF, el receptor de la heregulina (HER2), el receptor 1 de la insulina, el receptor 2 de FGF. Ejemplos del agente farmacéutico que inhibe la acción de los factores del crecimiento anteriormente mencionados incluyen herceptina (anticuerpo del receptor HER2). Ejemplos del agente farmacéutico que inhibe la acción de los factores del crecimiento anteriormente mencionados o de uno de sus receptores incluyen herbimicina, PD153035 (Science 265 (5175) p. 1093, (1994)).

Por otra parte, los inhibidores de HER2 también son ejemplos del agente farmacéutico que inhibe la acción de los factores del crecimiento o de uno de sus receptores. El inhibidor de HER2 puede ser cualquier anticuerpo, compuesto de bajo peso molecular (compuestos sintéticos, sustancias que se encuentran en la naturaleza), antisentidos, ligandos de HER2, heregulina y los que tengan una estructura parcialmente modificada o alterada, en tanto y cuanto inhiba la actividad de HER2 (por ej., la actividad de fosforilación). Además, puede ser una sustancia que inhiba la actividad de HER2 inhibiendo al receptor de HER2 (por ej., un anticuerpo receptor de HER2). Ejemplos del compuesto de bajo peso molecular que tiene una actividad inhibitoria de HER2 incluyen compuestos descritos en WO98/03505, específicamente 1-[3-[4-[2-(E)-2-feniletetil]-4-oxazolilmetoxi]fenil]propil]-1,2,4-triazol.

Para pacientes con cáncer de mama, el compuesto de la presente invención puede usarse en combinación con un agente farmacéutico tal como un agonista superactivo de GnRH, un antiestrógeno, un agente quimioterapéutico [por ej., ciclofosfamida, 5-FU, UFT, metotrexato, adriamicina, mitomicina C, mitoxantrona y similares], un antagonista peptídico de GnRH, un inhibidor de la aromataasa, un inhibidor de la producción de andrógenos adrenales [por ej., un antiestrógeno (por ej., tamoxifeno), un progestógeno (por ej., MPA), un andrógeno y un estrógeno] y un agente farmacéutico que inhibe la acción de factores de crecimiento o de sus receptores.

Combinando el compuesto de la presente invención y un fármaco concomitante puede conseguirse un efecto superior, tales como:

- (1) La dosis puede reducirse en comparación con la administración de solo el compuesto de la presente invención o de un fármaco concomitante,
- (2) El fármaco a usar en combinación con el compuesto de la presente invención puede seleccionarse según la afección de los pacientes (caso leve, caso grave y similares),
- (3) El período para inhibir la ovulación precoz puede programarse más largo seleccionando un fármaco concomitante que tenga diferente acción y mecanismo que los del compuesto de la presente invención,
- (4) Puede diseñarse un efecto sostenido de inhibición de la ovulación precoz seleccionando un fármaco concomitante que tenga diferente acción y mecanismo que los del compuesto de la presente invención,
- (5) Puede conseguirse un efecto sinérgico mediante el uso combinado del compuesto de la presente invención y un fármaco concomitante,
- (6) Pueden reducirse los efectos secundarios mediante el uso combinado del compuesto de la presente invención y un fármaco concomitante,
- (7) El compuesto de la presente invención también puede administrarse a pacientes con cáncer de mama y similares mediante el uso combinado de un fármaco concomitante.

En lo que sigue, el uso combinado del compuesto de la presente invención con un fármaco concomitante se denominará como “el agente de combinación de la presente invención”.

Cuando el compuesto de la presente invención y el fármaco concomitante anteriormente mencionado se usan en combinación, la dosis puede determinarse apropiadamente con la dosis clínica mínima recomendada de los fármacos individuales como estándar, y en consideración con la edad y el peso corporal del sujeto de administración, los síntomas, el tiempo de administración, el método de administración, la forma de dosificación y la combinación de fármacos. La dosis de un paciente particular se determina según la edad, el peso corporal, el estatus general de salud, el sexo, la dieta, el tiempo de administración, el método de administración, la velocidad de

aclareamiento, la combinación de fármacos, la gravedad de la enfermedad para la cual el paciente está siendo tratado, y otros factores.

5 Típicamente, la dosis diaria respectiva del compuesto de la presente invención y al menos un compuesto seleccionado de varios fármacos concomitantes, o una de sus sales, cuando se usan en combinación, es de no menos que aproximadamente 1/50 de la dosis clínica mínima recomendada a no más que el nivel máximo recomendado de su administración única real.

10 Cuando se usa el agente de combinación de la presente invención, el tiempo de administración del compuesto de la presente invención y del fármaco concomitante no está restringido, y el compuesto de la presente invención, o una de sus composiciones farmacéuticas, y el fármaco concomitante, o una de sus composiciones farmacéuticas, pueden administrarse a un sujeto de administración simultáneamente, o pueden administrarse escalonadamente. La dosificación del fármaco concomitante puede determinarse según la cantidad de administración clínicamente usada, y puede seleccionarse apropiadamente dependiendo del sujeto de administración, la ruta de administración, la enfermedad y la combinación.

15 El modo de administración del fármaco concomitante no está particularmente limitado, y el compuesto de la presente invención y el fármaco concomitante sólo necesitan combinarse para la administración. Ejemplos de tal modo el tiempo de administración, el método de administración incluyen los siguientes: (1) administración de una preparación única obtenida formulando simultáneamente el compuesto de la presente invención y el fármaco concomitante, (2) administración simultánea de dos clases de preparaciones del compuesto de la presente invención y del fármaco concomitante, las cuales han sido formuladas separadamente, por la misma ruta de administración, (3) administración de dos clases de preparaciones del compuesto de la presente invención y del fármaco concomitante, las cuales han sido formuladas separadamente, por la misma ruta de administración de forma escalonada, (4) administración simultánea de dos clases de preparaciones del compuesto de la presente invención y del fármaco concomitante, las cuales han sido formuladas separadamente, por rutas de administración diferentes, (5) administración de dos clases de preparaciones del compuesto de la presente invención y del fármaco concomitante, las cuales han sido formuladas separadamente, por diferentes rutas de administración de forma escalonada (por ejemplo, administración en el orden del compuesto de la presente invención y el fármaco concomitante, o en el orden inverso).

30 Cuando el compuesto de la presente invención se usa como el promotor o auxiliar farmacéutico anteriormente mencionado (un inhibidor de la ovulación precoz para usar en la fertilización in vitro o en el procedimiento de transferencia de embriones), están disponibles tanto la administración oral como la parenteral según un método conocido per se. El compuesto se mezcla con un vehículo farmacéuticamente aceptable, y en general se administra oralmente en la forma de dosificación sólida de comprimido, cápsula, gránulo y polvo. Alternativamente, se administra parenteral, intravenosa, subcutánea e intramuscularmente en forma de inyección, supositorio y comprimido sublingual. Además, el compuesto puede administrarse sublingual, subcutánea e intramuscularmente como una preparación de liberación sostenida tal como un comprimido sublingual y una microcápsula.

40 Aunque la dosis diaria del compuesto de la presente invención varía dependiendo del nivel de los síntomas; la edad, el sexo, el peso corporal y la diferencia de sensibilidad del sujeto de administración; el tiempo de administración, intervalo, propiedades, dispensado y clase de preparación farmacéutica y el tipo de ingrediente activo, y no está particularmente limitada, cuando se usa para la inhibición de la ovulación precoz en la fertilización in vitro, el compuesto se administra en general en una dosis de aproximadamente 0,01 – 30 mg, preferiblemente aproximadamente 0,02 – 10 mg, más preferiblemente 0,1 - 10 mg, lo más preferiblemente 0,1 – 5 mg, por 1 kg de peso corporal de un mamífero, en general en 1 – 4 porciones por día. Cuando se usa para para la inhibición de la ovulación precoz en el procedimiento de transferencia de embriones, el compuesto en general se administra en una dosis de aproximadamente 0,01 – 30 mg, preferiblemente aproximadamente 0,02 – 10 mg, más preferiblemente 0,1 - 10 mg, lo más preferiblemente 0,1 – 5 mg, por 1 kg de peso corporal de un mamífero, en general en 1 – 4 porciones por día. Aunque la dosis para usar en el campo de la industria de la cría de animales o de animales marinos es según las dosis anteriormente mencionadas, el compuesto en general se administra en una dosis de aproximadamente 0,01 – 30 mg, preferiblemente aproximadamente 0,01 – 10 mg, por 1 kg de peso corporal de un mamífero, en general en 1 – 3 porciones por día. El contenido del compuesto (I) en la composición farmacéutica de la presente invención es aproximadamente 0,01 a 100% en peso de la composición total.

55 Como el vehículo farmacéuticamente aceptable anteriormente mencionado pueden usarse varias sustancias vehículo orgánicas o inorgánicas convencionalmente usadas como materiales de preparación, y mezcladas como excipiente, lubricante, ligante y desintegrante para preparaciones sólidas; o disolvente, agente solubilizante, agente de suspensión, agente de isotonicidad, agente amortiguador del pH y agente calmante para preparaciones líquidas, cuando sea necesario, pueden usarse aditivos de preparación tales como agentes conservantes, antioxidantes, colorantes y edulcorantes. Ejemplos preferibles del excipiente anteriormente mencionado incluyen lactosa, sacarosa, D-manitol, almidón, celulosa cristalina y ácido silícico anhidro. Ejemplos preferibles del lubricante anteriormente mencionado incluyen estearato de magnesio, estearato de calcio y talco, sílice coloidal. Ejemplos preferibles del ligante anteriormente mencionado incluyen celulosa cristalina, sacarosa, D-manitol, dextrina, hidroxipropilcelulosa, hidroxipropilmetilcelulosa y polivinilpirrolidona. Ejemplos preferibles del desintegrante anteriormente mencionado incluyen almidón, carboximetilcelulosa, carboximetilcelulosa de calcio, croscarmelosa de sodio y carboximetil

almidón de sodio. Ejemplos preferibles del disolvente anteriormente mencionado incluyen agua para inyectar, alcohol, propilenglicol, macrogol, aceite de sésamo y aceite de maíz. Ejemplos preferibles de los agentes solubilizantes anteriormente mencionados incluyen polietilenglicol, propilenglicol, D-manitol, benzoato de bencilo, etanol, trisaminometano, colesterol, trietanolamina, carbonato de sodio y citrato de sodio. Ejemplos preferibles del agente de suspensión anteriormente mencionado incluyen tensioactivos tales como esteariltriectanolamina, lauril sulfato de sodio, ácido aminopropiónico, lecitina, cloruro de benzalconio, cloruro de bencetonio y monoestearato de glicerol; y polímeros hidrófilos tales como poli(alcohol vinílico) polivinilpirrolidona, carboximetilcelulosa de sodio, metilcelulosa, hidroximetilcelulosa, hidroxietilcelulosa e hidroxipropilcelulosa. Ejemplos preferibles del agente de isotonicidad anteriormente mencionado incluyen cloruro de sodio, glicerol y D-manitol. Ejemplos preferibles del agente amortiguador del pH anteriormente mencionado incluyen tampón fosfato, tampón acetato, tampón carbonato y tampón citrato. Ejemplos preferibles del agente calmante incluyen alcohol bencílico. Ejemplos preferibles del agente conservante anteriormente mencionado incluyen paraoxibenzoatos, clorobutanol, alcohol bencílico, fenetil alcohol, ácido dehidroacético y ácido sórbico. Ejemplos preferibles del antioxidante anteriormente mencionado incluyen sulfito y ácido ascórbico.

El compuesto de la presente invención puede conformarse en una inyección intravenosa, subcutánea o intramuscular añadiendo un agente de suspensión, un agente solubilizante, un estabilizante, un agente de tonicidad y un agente conservante, y según un método conocido per se. En este caso, cuando sea necesario puede producirse un producto liofilizado según un método conocido per se. Cuando el compuesto de la presente invención se administra a, por ejemplo, un ser humano, el compuesto puede administrarse de manera segura oral o parenteralmente como está o en forma de una composición farmacéutica producida mezclándolo con un vehículo, excipiente o diluyente apropiados farmacéuticamente aceptables. Ejemplos de la composición farmacéutica anteriormente mencionada incluyen preparaciones orales (por ej., polvo, gránulo, cápsula, comprimido) y agentes parenterales [por ej., inyección, infusión por goteo, preparación externa (por ej., preparación para la administración nasal y preparación dérmica), supositorios (por ej., supositorio rectal y supositorio vaginal)]. Estas preparaciones puede producirse según un método conocido per se en general usado para las etapas de conformar preparaciones.

El compuesto de la presente invención puede formularse en una inyección tal como una inyección acuosa en combinación con un agente dispersante (por ej., Tween 80 (fabricado por Atlas Powder, EE.UU.), HCO60 (fabricado por Nikko Chemicals), polietilenglicol, carboximetilcelulosa y alginato de sodio, un agente conservante (por ej., metilparabén, propilparabén y alcohol bencílico), y un agente de isotonicidad (por ej., cloruro de sodio, manitol, sorbitol y glucosa), o una inyección oleosa disolviendo, suspendiendo o emulsionando en un aceite vegetal tal como aceite de oliva, aceite de sésamo, aceite de semilla de algodón y aceite de maíz, o propilenglicol. Para formular una preparación oral, el compuesto de la presente invención se mezcla con, por ejemplo, un excipiente (por ej., lactosa, sacarosa y almidón), un desintegrante (por ej., almidón, carbonato de calcio), un ligante (por ej., almidón, goma arábiga, carboximetilcelulosa, polivinilpirrolidona, hidroxipropilcelulosa), un lubricante (por ej., talco, estearato de magnesio, polietilenglicol 6000) y se somete a moldeo por compresión según un método conocido per se, y cuando sea necesario, a revestimiento para enmascarar el sabor, y a revestimiento entérico o sostenibilidad según un método conocido per se. Ejemplos del agente de revestimiento a usar para el mismo incluyen hidroxipropilmetilcelulosa, etilcelulosa, hidroximetilcelulosa, hidroxipropilcelulosa, polioxietilenglicol, Tween 80, Pluronic F68, acetato ftalato de celulosa, ftalato de hidroxipropilmetilcelulosa, acetato succinato de hidroximetilcelulosa, Eudragit (fabricado por Rohm, Alemania, copolímero de ácido metacrílico/ácido acrílico) y un colorante (por ej., óxido de hierro rojo, dióxido de titanio, etc.). Cuando se formula una preparación entérica puede formarse una fase intermedia según un método conocido per se con el fin de separar una fase entérica y una fase que contenga el fármaco.

Para formular una preparación externa, el compuesto de la presente invención puede formularse en una preparación externa sólida, semisólida o líquida según un método conocido per se.

Por ejemplo, para proporcionar la preparación sólida anteriormente mencionada, el compuesto de la presente invención puede usarse directamente, o formularse en una composición en polvo mezclándolo con un excipiente (por ej., un glicol, manitol, almidón, celulosa microcristalina y similares), un agente espesante (por ej., goma natural, un derivado de celulosa y un polímero de ácido acrílico). Para proporcionar la preparación líquida anteriormente mencionada, una suspensión oleosa o acuosa se formula principalmente de la misma manera que para la inyección. En el caso de una preparación semisólida, es preferible un gel acuoso u oleoso, o una forma de pomada. Pueden contener un agente para ajustar el pH (por ej., ácido carbónico, ácido fosfórico, ácido cítrico, ácido clorhídrico e hidróxido de sodio) y un agente conservante (por ej., paraoxibenzoato, clorobutanol, cloruro de benzalconio). Para proporcionar un supositorio, el compuesto de la presente invención puede, por ejemplo, formularse en forma de supositorio sólido, semisólido o líquido oleoso o acuoso, según un método conocido per se. Ejemplos de la base oleosa que puede usarse para las composiciones anteriormente mencionadas incluyen glicéridos de ácidos grasos superiores [por ej., manteca de cacao, witepsol (fabricado por Dynamitnovel Ltd., Alemania), ácidos grasos grado intermedio [por ej., migliol (fabricado por Dynamitnovel Ltd., Alemania) y aceite vegetal (por ej., aceite de sésamo, aceite de soja, aceite de semillas de algodón)]. Por otra parte, ejemplos de la base acuosa incluyen polietilenglicol y propilenglicol, y ejemplos de la base acuosa tipo gel incluyen gomas naturales, derivados de celulosa, polímeros vinílicos y polímeros de ácido acrílico.

## ES 2 494 842 T3

La presente invención se explica con más detalle en lo que sigue por referencia a ejemplos de formulación, ejemplos de referencia y ejemplos.

5 Los espectros de <sup>1</sup>H-RMN se midieron con tetrametilsilano como patrón interno, usando equipos VARIAN GEMINI 200 (espectrómetro tipo 200 MHz), JEOL Ltd. (JEOL) LAMBDA 300 (espectrómetro tipo 300 MHz) o BRUKER AM 500 (espectrómetro tipo 500 MHz); todos los valores  $\delta$  se expresan en ppm. A menos que se especifique otra cosa, “%” muestra porcentaje en peso. Sin embargo, el rendimiento es % mol/mol.

En la presente memoria descriptiva, otros símbolos significan lo siguiente:

s: singlete

d: doblete

10 t: triplete

dt: triplete doble

m: multiplete

br: ancho.

15 La temperatura ambiente significa, pero no está particularmente estrictamente limitada a, el intervalo de aproximadamente 15°C a 25°C. Además, la lactosa, el almidón de maíz y el estearato de magnesio usados en los ejemplos de formulación y ejemplos fueron productos compatibles con la Farmacopea Japonesa 14ava edición o con los Excipientes Farmacéuticos Japoneses.

Ejemplos

Ejemplo de formulación 1

20	(1)	Compuesto A	1 g
	(2)	Lactosa	197 g
	(3)	Almidón de maíz	50 g
	(4)	Estearato de magnesio	2 g

25 Los compuestos (1) y (2) anteriormente mencionados, y almidón de maíz (20 g) se mezclaron y se granularon juntos con una pasta producida a partir de almidón de maíz (15 g) y agua (25 mL). Se añadieron a la misma almidón de maíz (15 g) y el compuesto (4) anteriormente mencionado, y la mezcla se comprimió mediante una máquina de compresión de comprimidos para dar comprimidos (2000 comprimidos, 3 mm de diámetro) que contenían 0,5 mg de compuesto A por comprimido.

Ejemplo de formulación 2

30	(1)	Compuesto A	2 g
	(2)	Lactosa	197 g
	(3)	Almidón de maíz	50 g
	(4)	Estearato de magnesio	2 g

35 De la misma manera que en el ejemplo de formulación 1, se produjeron comprimidos (2000 comprimidos, 3 mm de diámetro) que contenían 1,0 mg de compuesto A por comprimido.

Ejemplo de formulación 3

	(1)	Compuesto A	5,0 mg
	(2)	Lactosa	60,0 mg
	(3)	Almidón de maíz	35,0 mg
40	(4)	Gelatina	3,0 mg
	(5)	Estearato de magnesio	2,0 mg

Los compuestos (1) y (2) anteriormente mencionados, y almidón de maíz (20 g) se mezclaron y se granularon juntos con una pasta producida a partir de almidón de maíz (15 g) y agua (25 mL). Se añadieron a la misma almidón de maíz (15 g) y el compuesto (4) anteriormente mencionado, y la mezcla se comprimió mediante una máquina de compresión de comprimidos para dar comprimidos (2000 comprimidos, 3 mm de diámetro) que contenían 0,5 mg de compuesto A por comprimido.

Se granuló una mezcla de los compuestos (1), (2) y (3) anteriormente mencionados pasando a través de un tamiz de malla 1 mm mientras se usaba una disolución de gelatina al 10% (0,03 mL, 3,0 mg como gelatina). Los gránulos se secaron a 40°C y se volvieron a tamizar. Los gránulos obtenidos se mezclaron con el compuesto (5) anteriormente mencionado y se comprimieron. El comprimido núcleo obtenido se revistió con una suspensión de revestimiento acuosa azucarada de sacarosa, dióxido de titanio, talco y goma arábiga. El comprimido revestido se glaseó con cera de abejas para dar un comprimido revestido.

Ejemplo de referencia 1

Éster de etilo del ácido 2-amino-4-metil-5-(4-nitrofenil)tiofeno-3-carboxílico

Se calentó a reflujo durante 24 h una mezcla de 4-nitrofenilacetona (35,0 g, 195 mmoles), cianoacetato de etilo (823,8 g, 195 mmoles), acetato de amonio (3,1 g, 40 mmoles) y ácido acético (9,1 mL, 159 mmoles) mientras se separaba el agua resultante mediante una trampa Dean-Stark. Después de enfriar, la mezcla de reacción se concentró a presión reducida, y el residuo se repartió entre diclorometano y una disolución acuosa de hidrógeno-carbonato de sodio. La capa orgánica se lavó con salmuera y se secó (MgSO<sub>4</sub>), después de lo cual el disolvente se evaporó a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice. La sustancia oleosa obtenida se disolvió en etanol, y se añadieron azufre (5,0 g, 160 mmoles) y dietilamina (16,0 mL, 160 mmoles), y la mezcla se agitó a 60-70°C durante 2 h. Después de enfriar, la mezcla de reacción se concentró a presión reducida y el residuo se repartió entre diclorometano y una disolución acuosa de hidrógeno-carbonato de sodio. La capa orgánica se lavó con salmuera y se secó (MgSO<sub>4</sub>), después de lo cual el disolvente se evaporó a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice y se cristalizó en éter-hexano para dar el compuesto del título (22,2 g, 52%) como cristales en forma de placas rojas.

p.f.: 168-170°C (recristalización en éter-hexano).

Análisis elemental para C<sub>14</sub>H<sub>14</sub>N<sub>2</sub>O<sub>4</sub>S

	C (%)	H (%)	N (%)
Calculado:	54,89;	4,61;	9,14
Encontrado:	54,83;	4,90;	9,09

<sup>1</sup>H-RMN (200 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ: 1,39 (3H, t, J = 7,1 Hz), 2,40 (3H, s), 4,34 (2H, q, J = 7,1 Hz), 6,27 (2H, br), 7,48 (2H, d, J = 8,7 Hz), 8,23 (2H, d, J = 8,7 Hz).

IR (KBr): 3446, 3324, 1667, 1580, 1545, 1506, 1491, 1475, 1410, 1332 cm<sup>-1</sup>.

Ejemplo de referencia 2

5-Metil-6-(4-nitrofenil)-3-feniltieno[2,3-d]pirimidina-2,4(1H,3H)-diona

A una disolución en piridina (30 mL) del compuesto (5,00 g, 16,32 mmoles) obtenido en el ejemplo de referencia 1 se añadió fenilisocianato (2,66 mL, 24,48 mmoles), y la mezcla se agitó a 45°C durante 6 h. La mezcla de reacción se concentró a presión reducida y el residuo obtenido se trató para dar una disolución en etanol (6 mL). A la disolución se añadió metóxido de sodio al 28% (7,86 g, 40,80 mmoles), y la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 2 h. Se añadió ácido clorhídrico 2N (25 mL, 50 mmoles) y el disolvente etanol se evaporó a presión reducida. El residuo obtenido se filtró y se lavó con agua-etanol. Después de secar a presión reducida, el residuo se recristalizó en etanol para dar el compuesto del título (6,09 g, 98%) como un polvo amarillo.

p.f.: > 300°C.

Análisis elemental para C<sub>19</sub>H<sub>13</sub>N<sub>3</sub>O<sub>4</sub>S.0,3H<sub>2</sub>O

	C (%)	H (%)	N (%)
Calculado:	59,30;	3,56;	10,92
Encontrado:	59,56;	3,52;	10,93

<sup>1</sup>H-RMN (300 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ: 2,50 (3H, s), 7,31-7,46 (5H, m), 7,78 (2H, d, J = 8,8 Hz), 8,32 (2H, d, J = 8,8 Hz), 12,50 (1H, s).

IR (KBr): 1715, 1657, 1593, 1510 cm<sup>-1</sup>.

Ejemplo de referencia 3

1-(2,6-Difluorobencil)-5-metil-6-(4-nitrofenil)-3-feniltieno[2,3-d]pirimidina-2,4(1H,3H)-diona

5 A una disolución en dimetilformamida (1,0 L) del compuesto (52,54 g, 0,131 moles) obtenido en el ejemplo de referencia 2 se añadieron carbonato de potasio (19,00 g, 0,138 moles), yoduro de potasio (22,90 g, 0,138 moles) y cloruro de 2,6-difluorobencilo (22,40 g, 0,138 moles) y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 2 h. La mezcla de reacción se concentró y el residuo obtenido se repartió entre cloroformo y salmuera. La capa acuosa se extrajo con cloroformo. Los extractos se combinaron y se lavaron con salmuera y se secaron (MgSO<sub>4</sub>), después de lo cual el disolvente se evaporó a presión reducida. El residuo obtenido se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice para dar el compuesto del título (61,50 g, 93%) como cristales amarillo pálido.

10 p.f.: 280-282°C.

Análisis elemental para C<sub>26</sub>H<sub>17</sub>N<sub>3</sub>O<sub>4</sub>SF<sub>2</sub>

	C (%)	H (%)	N (%)
Calculado:	61,78;	3,39;	8,31
Encontrado:	61,67;	3,46;	8,21

15 1H-RMN (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ: 2,57 (3H, s), 5,38 (2H, s), 6,94 (2H, d, J = 8,1 Hz), 7,42-7,58 (8H, m), 8,29 (2H, d, J = 8,8 Hz).

IR (KBr): 1719, 1669, 1524, 1473 cm<sup>-1</sup>.

Ejemplo de referencia 4

5-Bromometil-1-(2,6-difluorobencil)-6-(4-nitrofenil)-3-feniltieno[2,3-d]pirimidina-2,4(1H,3H)-diona

20 Se agitó a 85°C durante 3 h una mezcla del compuesto (30,34 g, 0,060 moles) obtenido en el ejemplo de referencia 3, N-bromosuccinimida (12,81 g, 0,072 moles), α,α'-azobisisobutironitrilo (1,15 g, 0,007 moles) y clorobenceno (450 mL). Después de enfriar, la mezcla de reacción se lavó con salmuera y se secó (MgSO<sub>4</sub>), después de lo cual el disolvente se evaporó a presión reducida. El residuo obtenido se recristalizó en acetato de etilo para dar el compuesto del título (80,21 g, 100%) como cristales amarillos en forma de agujas.

p.f.: 228-229°C.

25 1H-RMN (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ: 4,77 (2H, s), 5,38 (2H, s), 6,96 (2H, t, J = 8,1 Hz), 7,29-7,58 (6H, m), 7,79 (2H, d, J = 8,5 Hz), 8,35 (2H, d, J = 8,5 Hz).

IR (KBr): 1721, 1680, 1524, 1473, 1348 cm<sup>-1</sup>.

Masa-FAB m/z 584 (MH)<sup>+</sup>.

Ejemplo de referencia 5

30 5-(N-Bencil-N-metilaminometil)-1-(2,6-difluorobencil)-6-(4-nitrofenil)-3-feniltieno[2,3-d]pirimidina-2,4(1H,3H)-diona

35 A una disolución en dimetilformamida (600 mL) del compuesto (80,00 g, 0,119 moles) obtenido en el ejemplo de referencia 4 se añadieron etildiisopropilamina (27,00 mL, 0,155 moles) y bencilmetilamina (18,45 mL, 0,143 moles) con refrigeración con hielo. La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 2 h. La mezcla de reacción se concentró y el residuo obtenido se repartió entre acetato de etilo y una disolución acuosa saturada de hidrógeno-carbonato de sodio. La capa acuosa se extrajo con acetato de etilo y las capas orgánicas se combinaron y se secaron (MgSO<sub>4</sub>), después de lo cual el disolvente se evaporó a presión reducida. El residuo obtenido se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice para dar un aceite amarillo (74,90 g, 100%), el cual se recristalizó en acetato de etilo para dar el compuesto del título como cristales amarillos en forma de agujas.

p.f.: 173-174°C.

40 Análisis elemental para C<sub>34</sub>H<sub>26</sub>N<sub>4</sub>O<sub>4</sub>SF<sub>2</sub>·0,5H<sub>2</sub>O

	C (%)	H (%)	N (%)
Calculado:	64,45;	4,29;	8,84
Encontrado:	64,50;	4,24;	8,82

<sup>1</sup>H-RMN (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) [amina libre] δ: 1,31 (3H, s), 3,60 (2H, s), 3,96 (2H, s), 5,39 (2H, s), 6,95 (2H, t, J = 8,2 Hz), 7,18-7,55 (11H, m), 8,02 (2H, d, J = 9,0 Hz), 8,26 (2H, d, J = 9,0 Hz).

IR (KBr) [hidrocloruro]: 1719, 1678, 1597, 1520 cm<sup>-1</sup>.

Ejemplo de referencia 6

5 6-(4-Aminofenil)-5-(N-bencil-N-metilaminometil)-1-(2,6-difluorobencil)-3-feniltieno[2,3-d]pirimidina-2,4(1H,3H)-diona

A una disolución en ácido fórmico (30 mL) del compuesto (3,00 g, 4,80 mmoles) obtenido en el ejemplo de referencia 5 se añadieron cloruro de hidrógeno 1M-éter (14,4 mL, 14,4 mmoles) y polvo de paladio al 10% sobre carbono (300 mg) con refrigeración con hielo. La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 2 h a presión normal y se hidrogenó. La mezcla de reacción se filtró a través de celite. El filtrado se concentró a presión reducida y el residuo obtenido se repartió entre diclorometano y una disolución acuosa saturada de hidrógeno-carbonato de sodio. La capa acuosa se extrajo con diclorometano y las capas orgánicas se combinaron y se secaron (MgSO<sub>4</sub>), después de lo cual el disolvente se evaporó a presión reducida. El residuo obtenido se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice para dar el compuesto del título (2,41 g, 84%) como cristales blancos.

p.f.: 205-207°C.

15 Análisis elemental para C<sub>34</sub>H<sub>28</sub>N<sub>4</sub>O<sub>2</sub>SF<sub>2</sub>·0,1AcOEt·1,2H<sub>2</sub>O

	C (%)	H (%)	N (%)
Calculado:	66,09;	5,03;	8,96
Encontrado:	66,93;	4,94;	8,67

<sup>1</sup>H-RMN (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ: 2,05 (3H, s), 3,56 (2H, s), 3,83 (2H, br), 3,88 (2H, s), 5,36 (2H, s), 6,70 (2H, d, J = 8,8 Hz), 6,88-6,94 (2H, m), 7,21-7,31 (8H, m), 7,41-7,53 (5H, m).

IR (KBr): 1715, 1657, 1628, 1537 cm<sup>-1</sup>.

20 Ejemplo de referencia 7

5-(N-Bencil-N-metilaminometil)-1-(2,6-difluorobencil)-6-[4-(3-metoxiureido)fenil]-3-feniltieno[2,3-d]pirimidina-2,4(1H,3H)-diona (compuesto A)

A una disolución en diclorometano (120 mL) del compuesto (5,00 g, 8,41 mmoles) obtenido en el ejemplo de referencia 6 se añadió trietilamina (2,34 mL, 16,82 mmoles) con refrigeración con hielo y la mezcla se agitó. Se añadió a la mezcla de reacción N,N'-carbonilimidazol (2,73 g, 16,82 mmoles) con refrigeración con hielo. La temperatura de la mezcla de reacción se elevó desde la de refrigeración con hielo a temperatura ambiente y se agitó durante 42 h. La mezcla se colocó bajo refrigeración con hielo de nuevo y se añadieron hidrocloruro de O-metilhidroxilamina (7,02 g, 84,08 mmoles) y trietilamina (11,7 mL, 84,08 mmoles). La temperatura de la mezcla de reacción se elevó desde la de refrigeración con hielo a temperatura ambiente y se agitó durante 3 h. La mezcla de reacción se repartió entre cloroformo y una disolución acuosa saturada de hidrógeno-carbonato de sodio. La capa acuosa se extrajo con cloroformo. Los extractos se combinaron y se lavaron con salmuera y se secaron (MgSO<sub>4</sub>), después de lo cual el disolvente se evaporó a presión reducida. El residuo obtenido se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice para dar un sólido amarillo pálido, el cual se recristalizó en cloroformo-éter para dar el compuesto del título (4,52 g, 80%) como cristales blancos.

35 p.f.: 204-205°C.

Análisis elemental para C<sub>36</sub>H<sub>31</sub>N<sub>5</sub>O<sub>4</sub>SF<sub>2</sub>

	C (%)	H (%)	N (%)
Calculado:	64,75;	4,68;	10,49
Encontrado:	64,61;	4,67;	10,31

<sup>1</sup>H-RMN (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ: 2,05 (3H, s), 3,57 (2H, s), 3,82 (3H, s), 3,90 (2H, s), 5,37 (2H, s), 6,92 (2H, d, J = 8,2 Hz), 7,16-7,31 (9H, m), 7,42-7,57 (5H, m), 7,63 (1H, s), 7,73 (2H, d, J = 8,8 Hz).

40 IR (KBr): 3338, 3064, 1717, 1669, 1628, 1591, 1531, 1470 cm<sup>-1</sup>.

## Ejemplo de referencia 8

Hidrocloreto de 5-(N-bencil-N-metilaminometil)-1-(2,6-difluorobencil)-6-[4-(3-metoxiureido)fenil]-3-feniltieno[2,3-d]pirimidina-2,4(1H,3H)-diona

- 5 A una disolución en diclorometano (800 mL) de los cristales blancos (38,34 g, 57,42 mmoles) obtenidos en el ejemplo de referencia 7 se añadió cloruro de hidrógeno 1M en éter (100 mL) con refrigeración con hielo y la mezcla se agitó a la misma temperatura durante 10 min. La mezcla de reacción se concentró a presión reducida y el residuo obtenido se recrystalizó en metanol-éter para dar el compuesto del título (40,0 g, 99%) como cristales blancos en polvo.

p.f.: 182-185°C.

- 10 Análisis elemental para C<sub>36</sub>H<sub>31</sub>N<sub>5</sub>O<sub>4</sub>SF<sub>2</sub>.HCl.0,5H<sub>2</sub>O

	C (%)	H (%)	N (%)
Calculado:	60,63;	4,66;	9,82
Encontrado:	60,45;	4,68;	9,62

IR (KBr): 3440, 3042, 1713, 1665, 1628, 1593, 1539, 1473 cm<sup>-1</sup>.

Masa-FAB m/z 668 (MH)<sup>+</sup>.

## Ejemplo 1

- 15 Usando el compuesto (100 mg) producido en el ejemplo de referencia 7, lactosa (165 mg), almidón de maíz (25 mg), poli(alcohol vinílico) (4 mg) y estearato de magnesio (1 mg), se produjo un comprimido según un método convencional.

## Ejemplo 2

- 20 Usando el compuesto (100 mg) producido en el ejemplo de referencia 8, lactosa (165 mg), almidón de maíz (25 mg), poli(alcohol vinílico) (4 mg) y estearato de magnesio (1 mg), se produjo un comprimido según un método convencional.

## Ejemplo 3

Usando el compuesto (1 g) producido en el ejemplo de referencia 7, lactosa (197 g), almidón de maíz (50 g) y estearato de magnesio (2 g), se produjo un comprimido según un método convencional.

- 25 Ejemplo 4

Usando el compuesto (1 g) producido en el ejemplo de referencia 8, lactosa (197 g), almidón de maíz (50 g) y estearato de magnesio (2 g), se produjo un comprimido según un método convencional.

## Ejemplo de referencia 9

- 30 Producción del éster de etilo del ácido 2-[N-(2,6-difluorobencil)-N-etoxicarbonil]amino-4-[N-(2-metoxietil)-N-metilaminometil]-5-(4-aminofenil)tiofeno-3-carboxílico

- 35 A una disolución en etanol (315 mL) del éster de etilo del ácido 2-[N-(2,6-difluorobencil)-N-etoxicarbonil]amino-4-[N-(2-metoxietil)-N-metilaminometil]-5-(4-nitrofenil)tiofeno-3-carboxílico (12,43 g) (documentos JP-A-2001-278884, WO00/56739) se añadieron una disolución de cloruro de hidrógeno 2N/éter dietílico (21 mL) y paladio al 10%/carbono (3,73 g) que contenía 50% de agua, y la mezcla se agitó vigorosamente durante 1 h en atmósfera de hidrógeno. El filtrado exento del catalizador se neutralizó con una disolución acuosa saturada de hidrógeno-carbonato de sodio, después de lo cual el disolvente se evaporó. El residuo obtenido se repartió entre acetato de etilo/agua. La capa orgánica se lavó con salmuera saturada, y se secó sobre sulfato de magnesio anhidro. El disolvente se evaporó a presión reducida y el residuo obtenido se purificó por cromatografía de gel de sílice-NH (fabricado por Fuji Silvysia Chemical Ltd.) para dar el compuesto del título (11,44 g) como un aceite.

- 40 <sup>1</sup>H-RMN (CDCl<sub>3</sub>) δ: 1,12-1,30 (3H, br), 2,05 (3H, s), 2,39 (2H, t, J = 6,3 Hz), 3,27 (3H, s), 3,32 (3H, t, J = 6,3 Hz), 3,59 (2H, s), 3,78 (2H, s), 4,20 (2H, q, J = 7,1 Hz), 4,10-4,23 (2H, br), 5,00 (2H, s), 6,66 (2H, d, J = 8,6 Hz), 6,84 (2H, t, J = 8,2 Hz), 7,18 (2H, d, J = 8,6 Hz), 7,15-7,30 (1H, m).

IR (KBr): 1717, 1626, 1609, 1472, 1406, 1300, 1246 cm<sup>-1</sup>.

## Ejemplo de referencia 10

Producción del éster de etilo del ácido 2-[(2,6-difluorobencil)(etoxicarbonil)amino]-5-(4-[(metoxamino)carbonil]amino)fenil)-4-[(2-metoxietil)(metil)amino]metil]-3-tiofenocarboxílico

5 A una disolución (113 mL) en diclorometano del compuesto (4,89 g) del ejemplo de referencia 9 se añadió N-etildiisopropilamina (3,06 mL) con refrigeración con hielo, y la mezcla se agitó. Se añadió N,N'-carbonilimidazol (2,82 g) a la mezcla de reacción con refrigeración con hielo. La temperatura de la mezcla de reacción se elevó desde la de refrigeración con hielo a temperatura ambiente y la mezcla se agitó durante 67 h. La mezcla se colocó bajo refrigeración con hielo de nuevo y se añadieron hidrocloreto de O-metilhidroxilamina (7,26 g) y N-etildiisopropilamina (15,6 mL). La temperatura de la mezcla de reacción se elevó desde la de refrigeración con hielo a temperatura ambiente y la mezcla se agitó durante 19 h. La mezcla se repartió entre cloroformo y una disolución acuosa saturada de hidrógeno-carbonato de sodio. La capa acuosa se extrajo con cloroformo y los extractos se combinaron y se lavaron con salmuera y se secaron (MgSO<sub>4</sub>), después de lo cual el disolvente se evaporó a presión reducida. El residuo obtenido se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice para dar el compuesto del título (4,89 g) en forma de caramelo amarillo pálido.

15 <sup>1</sup>H-RMN (CDCl<sub>3</sub>) δ: 1,19 (3H, brs), 1,30 (3H, t, J = 6,9 Hz), 2,04 (3H, s), 2,40 (2H, t, J = 6,0 Hz), 3,27 (3H, s), 3,33 (2H, t, J = 6,0 Hz), 3,60 (2H, s), 3,81 (3H, s), 4,13-4,24 (4H, m), 5,00 (2H, s), 6,84 (2H, t, J = 7,8 Hz), 7,19-7,29 (2H, m), 7,36 (2H, d, J = 8,7 Hz), 7,50 (2H, d, J = 8,7 Hz), 7,60 (1H, s).

IR (KBr): 1717, 1590, 1528, 1472, 1408, 1304 cm<sup>-1</sup>.

## Ejemplo de referencia 11

20 Producción del ácido 2-[(2,6-difluorobencil)(etoxicarbonil)amino]-5-(4-[(metoxamino)carbonil]amino)fenil)-4-[(2-metoxietil)(metil)amino]metil]-3-tiofenocarboxílico

25 A una disolución en etanol (114 mL) del compuesto (4,81 g) del ejemplo de referencia 10 se añadió una disolución de hidróxido de sodio 2 N (18,9 mL) y la mezcla se agitó a 60°C durante 5 h. La mezcla se enfrió a temperatura ambiente, se añadió ácido clorhídrico 1N (37,8 mL) y el disolvente se evaporó. El residuo obtenido se disolvió en etanol y tolueno, y el disolvente se evaporó otra vez. Se añadió etanol anhidro (30 mL) al residuo y el producto inorgánico se filtró. El filtrado se concentró a sequedad y el residuo obtenido se trituró con éter anhidro, se recogió por filtración y se secó para dar el compuesto del título (4,43 g).

30 <sup>1</sup>H-RMN (CDCl<sub>3</sub>) δ: 1,17 (3H, brs), 2,45 (3H, s), 2,81 (2H, brs), 3,28 (3H, s), 3,55 (2H, t, J = 4,8 Hz), 3,82 (3H, s), 3,92 (2H, s), 4,10-4,35 (2H, m), 5,06 (2H, s), 6,82 (2H, t, J = 7,8 Hz), 7,16 (2H, d, J = 8,4 Hz), 7,22-7,35 (1H, m), 7,60 (2H, d, J = 8,4 Hz), 8,00-8,50 (2H, br).

IR (KBr): 1713, 1605, 1528, 1472, 1408 cm<sup>-1</sup>.

## Ejemplo de referencia 12

Producción de N-(4-(1-(2,6-difluorobencil)-5-(((2-metoxietil)(metil)amino)metil)-2,4-dioxo-3-(2-piridinil)-1,2,3,4-tetrahidrotieno[2,3-d]pirimidin-6-il)fenil)-N'-metoxiurea

35 A una disolución en DMF (10 mL) del compuesto (607 mg) del ejemplo de referencia 11 y 2-aminopiridina (142 mg) se añadieron cianofosfato de dietilo (245 mg) y N-etildiisopropilamina (284 µL). La mezcla se calentó gradualmente a temperatura ambiente y se agitó durante 13 h, después de lo cual la mezcla de reacción se repartió entre acetato de etilo/agua. La capa orgánica se lavó sucesivamente con agua y salmuera saturada y se secó sobre sulfato de sodio anhidro. El residuo obtenido evaporando el disolvente a presión reducida se purificó bastamente por cromatografía de gel aminopropilsilice (fabricado por Fuji Silysia Chemical Ltd.). La forma amida bruta obtenida (350 mg) se disolvió en etanol (25,5 mL), se añadió una disolución (196 mg) de metóxido de sodio al 28% en metanol, y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 15 h. La mezcla se neutralizó con ácido clorhídrico 1N (1 mL), el disolvente se evaporó y el residuo se repartió entre acetato de etilo/agua. La capa orgánica se lavó sucesivamente con agua y salmuera saturada y se secó sobre sulfato de sodio anhidro. El residuo obtenido evaporando el disolvente a presión reducida se purificó por cromatografía de gel aminopropilsilice (fabricado por Fuji Silysia Chemical Ltd.) (45 g; revelador; acetato de etilo/hexano: 7/3 → acetato de etilo) y se recristalizó en THF-etanol para dar el compuesto del título (210 mg) como cristales incoloros.

Análisis elemental para C<sub>31</sub>H<sub>30</sub>N<sub>6</sub>O<sub>5</sub>SF<sub>2</sub>

Calculado: C, 58,48; H, 4,75; N, 13,20.

50 Encontrado: C, 58,46; H, 4,68; N, 12,93

<sup>1</sup>H-RMN (CDCl<sub>3</sub>) δ: 2,15 (3H, s), 2,62 (2H, t, J = 5,9 Hz), 3,26 (3H, s), 3,41 (2H, t, J = 5,9 Hz), 3,80 (3H, s), 3,81 (2H, brs), 5,34 (2H, brs), 6,91 (2H, t, J = 8,1 Hz), 7,24-7,40 (4H, m), 7,53 (2H, d, J = 8,4 Hz), 7,62 (2H, d, J = 8,4 Hz), 7,65 (1H, s), 7,88 (1H, dt, J = 1,5, 7,8 Hz), 8,67-8,69 (1H, m).

IR (KBr): 1717, 1674, 1591, 1530, 1460, 1329 cm<sup>-1</sup>.

Ejemplo de referencia 13

Producción de N-(4-(5-((bencil(metil)amino)metil)-1-(2,6-difluorobencil)-2,4-dioxo-3-(2-piridinil)-1,2,3,4-tetrahidrotieno[2,3-d]pirimidin-6-il)fenil)-N'-metoxiurea

- 5 A una disolución (20 mL) en DMF de ácido 5-(N-bencil-N-metilaminometil)-2-[N-(2,6-difluorobencil)-N-etoxicarbonil]amino-5-[4-(3-metoxiureido)fenil]tiofeno-3-carboxílico (2,40 g, 3,76 mmoles) y 2-aminopiridina (1,06 g, 11,28 mmoles) se añadieron etildiisopropilamina (1,05 mL, 6,02 mmoles) y cianofosfato de dietilo (0,86 mL, 5,64 mmoles) y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 3 días. Se añadió una disolución acuosa de hidrógeno-carbonato de sodio, la mezcla se extrajo con acetato de etilo y la capa orgánica se lavó con salmuera.
- 10 Después de secar sobre sulfato de magnesio, la mezcla se concentró a presión reducida y el residuo se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice (eluyente: acetato de etilo) para dar una amida. La amida obtenida se disolvió en metanol (40 mL) y se añadió metóxido de sodio (2,03 mg, 37,6 mmoles). Después de agitar a temperatura ambiente durante 5 h, la mezcla se concentró, se neutralizó con ácido clorhídrico 1N (1 mL) y se extrajo con acetato de etilo. La capa orgánica se lavó con salmuera, se secó sobre sulfato de magnesio y se concentró a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice-NH (fabricado por Fuji Silysia Chemical Ltd.) (eluyente: acetato de etilo) para dar el compuesto del título (1,59 mg, 63%) como una forma amorfa amarilla pálida.

1H-RMN (CDCl<sub>3</sub>) δ: 2,05 (3H, s), 3,56 (2H, s), 3,82 (3H, s), 3,89 (2H, s), 5,34 (2H, brs), 6,91 (2H, t, J = 8,0 Hz), 7,1-7,45 (9H, m), 7,56 (2H, d, J = 8,8 Hz), 7,65 (1H, s), 7,75 (2H, d, J = 8,8 Hz), 7,91 (1H, dt, J = 2,0, 7,7 Hz), 8,7-8,75 (1H, m).

20 Análisis elemental para C<sub>35</sub>H<sub>30</sub>F<sub>2</sub>N<sub>6</sub>O<sub>4</sub>S<sub>2</sub>

Calculado: C, 62,86; H, 4,52; N, 12,57.

Encontrado: C, 62,72; H, 4,31; N, 12,40

p.f.: 179-182°C.

25 Ejemplo de referencia 14

Producción de N-(4-(1-(2,6-difluorobencil)-5-((metilamino)metil)-2,4-dioxo-3-(2-piridinil)-1,2,3,4-tetrahidrotieno[2,3-d]pirimidin-6-il)fenil)-N'-metoxiurea

- 30 A una disolución en etanol (40 mL) del compuesto (1,59 g, 2,38 mmoles) del ejemplo de referencia 13 se añadieron ácido clorhídrico 1N (7 mL) y paladio al 10%/carbono (0,63 g) que contenía 50% de agua, y la mezcla se agitó vigorosamente durante 20 h en una atmósfera de hidrógeno. El filtrado exento del catalizador se neutralizó con una disolución acuosa de hidróxido de sodio 1N, después de lo cual el disolvente se evaporó. El residuo obtenido se repartió entre acetato de etilo/agua y la capa orgánica se lavó con salmuera saturada, y se secó sobre sulfato de magnesio anhidro. El disolvente se evaporó a presión reducida y el polvo obtenido se lavó con éter dietílico para dar el compuesto del título (980 mg, 71%) como un polvo amarillo pálido.

35 1H-RMN (CDCl<sub>3</sub>) δ: 2,34 (3H, s), 3,78 (2H, s), 3,82 (2H, s), 5,38 (2H, brs), 6,92 (2H, t, J = 8,2 Hz), 7,2-7,8 (9H, m), 7,92 (1H, dt, J = 1,8, 7,6 Hz), 8,72 (1H, d, J = 4,8 Hz).

Ejemplo de referencia 15

Producción de N-(4-(1-(2,6-difluorobencil)-5-((2-etoxietil)(metil)amino)metil)-2,4-dioxo-3-(2-piridinil)-1,2,3,4-tetrahidrotieno[2,3-d]pirimidin-6-il)fenil)-N'-metoxiurea

- 40 A una disolución (4,3 mL) en DMF del compuesto (251 mg) del ejemplo de referencia 14 se añadieron cloruro de 2-etoxietilo (141 mg), N-etildiisopropilamina (245 µL) y yoduro de potasio (107 mg), y la mezcla se agitó a 60°C durante 24 h. La mezcla de reacción se repartió entre acetato de etilo/agua y la capa orgánica se lavó con salmuera saturada, y se secó sobre sulfato de sodio anhidro. El residuo obtenido evaporando el disolvente se purificó por cromatografía de gel aminopropilsílice (fabricado por Fuji Silysia Chemical Ltd.) (45 g; revelador: acetato de etilo/hexano: 3/2 → 4/1) y se recristalizó en acetato de etilo para dar el compuesto del título (62 mg) como cristales incoloros.

45 Análisis elemental para C<sub>32</sub>H<sub>32</sub>N<sub>6</sub>O<sub>5</sub>SF<sub>2</sub>.0,1AcOEt

Calculado: C, 59,01; H, 5,01; N, 12,74.

Encontrado: C, 59,11; H, 5,13; N, 12,55.

$^1\text{H-RMN}$  ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 1,13 (3H, t, J = 6,9 Hz), 2,15 (3H, s), 2,63 (2H, t, J = 6,2 Hz), 3,39 (2H, q, J = 6,9 Hz), 3,44 (2H, t, J = 6,2 Hz), 3,80 (2H, brs), 3,81 (3H, s), 5,34 (2H, brs), 6,91 (2H, t, J = 8,1 Hz), 7,19 (1H, s), 7,27-7,32 (1H, m), 7,35-7,41 (2H, m), 7,53 (2H, d, J = 8,4 Hz), 7,63 (1H, s), 7,64 (2H, d, J = 8,4 Hz), 7,88 (1H, dt, J = 1,2 Hz, 7,5 Hz), 8,68 (1H, dt, J = 0,9 Hz, 4,8 Hz).

5 IR (KBr): 1717, 1674, 1591, 1530, 1460, 1329  $\text{cm}^{-1}$ .

#### Ejemplo 5

Usando el compuesto (100 mg) producido en el ejemplo de referencia 12, lactosa (165 mg), almidón de maíz (25 mg), poli(alcohol vinílico) (4 mg) y estearato de magnesio (1 mg), se produjo un comprimido según un método convencional.

10 Ejemplo 6

Usando el compuesto (100 mg) producido en el ejemplo de referencia 15, lactosa (165 mg), almidón de maíz (25 mg), poli(alcohol vinílico) (4 mg) y estearato de magnesio (1 mg), se produjo un comprimido según un método convencional.

#### Ejemplo 7

15 Usando el compuesto (1 g) producido en el ejemplo de referencia 12, lactosa (197 g), almidón de maíz (50 g) y estearato de magnesio (2 g), se produjo un comprimido según un método convencional.

#### Ejemplo 8

Usando el compuesto (1 g) producido en el ejemplo de referencia 15, lactosa (197 g), almidón de maíz (50 g) y estearato de magnesio (2 g), se produjo un comprimido según un método convencional.

20 Aplicabilidad industrial

El inhibidor de la ovulación precoz para usar en la fertilización in vitro o en el procedimiento de transferencia de embriones de la presente invención, el cual comprende un compuesto no peptídico que tiene un acción antagonista de la hormona que libera gonadotropina, es poco tóxico, permite la administración oral y tiene un efecto inhibidor superior sobre la ovulación precoz en la fertilización in vitro o en el procedimiento de transferencia de embriones.

25 Esto es, el inhibidor de la ovulación precoz para usar en la fertilización in vitro o en el procedimiento de transferencia de embriones de la presente invención, el cual comprende un compuesto no peptídico que tiene un acción antagonista de la hormona que libera gonadotropina, es poco tóxico y es superior en capacidad de absorción oral, en sostenibilidad de la acción, estabilidad y farmacocinética. Así, puede usarse con seguridad para promover o ayudar en la fertilización in vitro o en el procedimiento de transferencia de embriones. Además, la producción del

30 inhibidor de la ovulación precoz de la presente invención es fácil y simple.

**REIVINDICACIONES**

1. Un compuesto, N-(4-(1-(2,6-difluorobencil)-5-((dimetilamino)metil)-3-(6-metoxi-3-piridazinil)-2,4-dioxo-1,2,3,4-tetrahidrotieno[2,3-d]pirimidin-6-il)fenil)-N'-metoxiurea o una de sus sales, para usar en la inhibición de la ovulación precoz durante la fertilización in vitro o el procedimiento de transferencia de embriones en un mamífero, excluyendo procedimientos industriales o comerciales de transferencia de embriones de ser humano.
- 5