

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 415 742**

51 Int. Cl.:

**C07D 333/40** (2006.01)

**A61P 31/12** (2006.01)

**A61K 31/381** (2006.01)

**C07D 409/12** (2006.01)

**C07D 413/12** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **15.05.2006 E 06741500 (0)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **27.03.2013 EP 1879879**

54 Título: **Compuestos y procedimientos para el tratamiento o prevención de infecciones por Flavivirus**

30 Prioridad:

**13.05.2005 US 680482 P**

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

**26.07.2013**

73 Titular/es:

**VERTEX PHARMACEUTICALS (CANADA)  
INCORPORATED (100.0%)  
275 Armand-Frappier Blvd.  
Laval, Québec H7V 4A7, CA**

72 Inventor/es:

**DENIS, RÉAL;  
POISSON, CARL;  
DAS, SANJOY, KUMAR;  
MOTORINA, IRINA;  
REJ, RABINDRA;  
YANNOPOULOS, CONSTANTIN, G. y  
CHAN CHUN KONG, LAVAL**

74 Agente/Representante:

**FÚSTER OLAGUIBEL, Gustavo Nicolás**

**ES 2 415 742 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

Compuestos y procedimientos para el tratamiento o prevención de infecciones por *Flavivirus*

### CAMPO DE LA INVENCION

5 La presente solicitud reivindica el beneficio de la Solicitud Provisional de EE.UU. nº serie 60/680.482, presentada el 13 de mayo de 2005.

La presente invención se refiere a nuevos compuestos y a dicho compuesto para su uso en un procedimiento para el tratamiento o prevención de infecciones por *Flavivirus*.

10 La hepatitis es una enfermedad que se extiende por todo el mundo. En general es de naturaleza vírica, aunque existen otras causas conocidas. La hepatitis vírica es con diferencia la forma más común de hepatitis. Casi 750.000 estadounidenses se ven afectados por hepatitis cada año, y de ellos, más de 150.000 están infectados con el virus de la hepatitis C ("VHC").

15 El VHC es un virus de ARN monocatenario positivo perteneciente a la familia *Flaviviridae* y guarda la relación más estrecha con los pestivirus que incluyen el virus de la peste porcina y el virus de la diarrea vírica bovina (VDVB). Según se cree, el VHC se replica a través de la producción de una plantilla de ARN monocatenario negativo complementario. Debido a la ausencia  
20 de un sistema eficaz de replicación de cultivos para el virus, las partículas de VHC se aislaron a partir de plasma humano combinado y mostraron tener, por microscopía electrónica, un diámetro de aproximadamente 50-60 nm. El genoma del VHC es un ARN monocatenario de sentido positivo de aproximadamente 9.600 pb que codifica para una poliproteína de 3.009-3.030  
25 aminoácidos, que se escinde de forma co- y postraducciona en proteínas víricas maduras (central, E1, E2, p7, NS2, NS3, NS4A, NS4B, NS5A, NS5B). Según se cree, las glucoproteínas estructurales, E1 y E2, están integradas en una envoltura lipídica vírica y forma heterodímeros estables. También se cree que la proteína central estructural interacciona con el genoma de ARN vírico  
30 para formar la nucleocápside. Las proteínas no estructurales designadas como NS2 a NS5 incluyen proteínas con funciones enzimáticas que intervienen en replicación vírica y procesamiento de proteínas que incluyen una polimerasa, una proteasa y una helicasa.

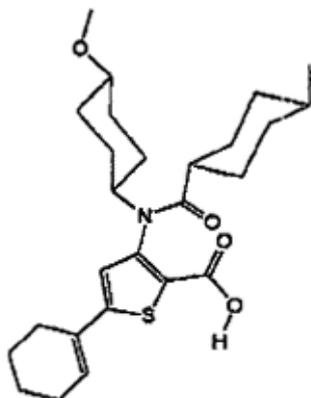
35 La fuente principal de contaminación con VHC es la sangre. La magnitud de la infección por VHC como problema sanitario se ilustra por la prevalencia

entre los grupos de alto riesgo. Por ejemplo, del 60% al 90% de los hemofílicos y más del 80% de los consumidores de drogas por vía intravenosa en los países occidentales tienen infección crónica con VHC. Para consumidores de drogas por vía intravenosa, la prevalencia varía entre aproximadamente el 28% y el 70% dependiendo de la población estudiada. La proporción de nuevas infecciones por VHC asociadas con la postransfusión se ha reducido notablemente en los últimos tiempos debido a los avances en las herramientas de diagnóstico usadas para el cribado de los donantes de sangre.

El único tratamiento disponible en la actualidad para infección por VHC es el interferón- $\alpha$  (IFN- $\alpha$ ). Sin embargo, según diferentes estudios clínicos, sólo en el 70% de los pacientes tratados se normalizan las concentraciones de alanina-aminotransferasa (ALT) en el suero y después de la interrupción del IFN, del 35% al 45% de estos pacientes que responden al tratamiento recidivan. En general, sólo del 20% al 25% de los pacientes tienen respuestas a largo plazo al IFN. Los estudios clínicos han demostrado que el tratamiento combinado con IFN y ribavirina (RIBA) produce una respuesta clínica superior a la del IFN en solitario.

Existe por tanto una gran necesidad de desarrollo de agentes antivíricos para su uso en el tratamiento o la prevención de infecciones por *Flavivirus*.

En un aspecto, la presente invención proporciona un compuesto:



o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, un solvato farmacéuticamente aceptable del mismo o un solvato de una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

En otro aspecto, se proporciona una composición farmacéutica que comprende el compuesto de la invención y al menos un soporte o excipiente farmacéuticamente aceptable.

En otro aspecto, se proporciona una combinación que comprende el

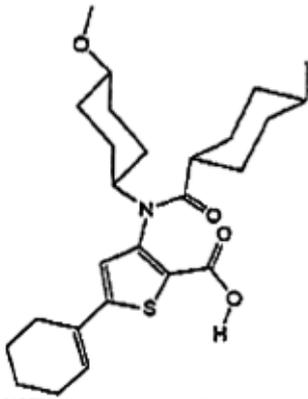
compuesto de la invención y uno o más agentes adicionales elegidos entre inhibidores de la serina-proteasa vírica, inhibidores de la polimerasa vírica, inhibidores de la helicasa vírica, agentes de inmunomodulación, agentes antioxidantes, agentes antibacterianos y agentes antisentido.

5 En un aspecto adicional, se proporciona el compuesto, composición o combinación de la invención para su uso en el tratamiento o la prevención de una infección vírica por *Flaviviridae* en un hospedador.

En otro aspecto más, se proporciona el compuesto, composición o combinación de la invención para su uso en la inhibición o la reducción de la actividad de polimerasa vírica en un hospedador.

10 En otro aspecto más, se proporciona el compuesto, composición o combinación de la invención para su uso en el tratamiento o la prevención de una infección vírica por *Flaviridae* en un hospedador.

El compuesto de la invención es



15 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, un solvato farmacéuticamente aceptable del mismo o un solvato de una sal farmacéuticamente aceptable del mismo. A continuación se enumeran otros compuestos de ejemplo no de acuerdo con la invención:

Compuesto#	Nombre
1	Acido 5-ciclohex-1-enil-3-[(trans-4-hidroxi-ciclohexil)-(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-amino]-tiofen-2-carboxílico;
2	Acido 5-ciclohexil-3-[(trans-4-hidroxi-ciclohexil)-(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-amino]-tiofen-2-carboxílico;
3	Acido 5-ciclopent-1-enil-3-[(trans-4-hidroxi-ciclohexil)-(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-amino]-tiofen-2-carboxílico;
4	Acido 3-[(trans-4-hidroxi-ciclohexil)-(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-amino]-5-(4-metil-ciclohex-1-enil)-tiofen-2-carboxílico;
5	Acido 5-ciclohept-1-enil-3-[(trans-4-hidroxi-ciclohexil)-(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-amino]-tiofen-2-carboxílico;
6	Acido 5-cicloheptil-3-[(trans-4-hidroxi-ciclohexil)-(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-amino]-tiofen-2-carboxílico;
7	Acido 5-ciclohex-1-enil-3-[isopropil-(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-amino]-tiofen-2-carboxílico;
8	Acido 5-ciclohex-1-enil-3-[(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-(4-oxo-ciclohexil)-amino]-tiofen-2-carboxílico;
9	Acido 5-ciclohex-1-enil-3-[(cis-4-hidroxi-ciclohexil)-(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-amino]-tiofen-2-carboxílico;
10	Acido 5-ciclohex-1-enil-3-[(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-fenil-amino]-tiofen-2-carboxílico;
11	Acido 5-ciclohex-1-enil-3-[ciclohexil-(4-metil-ciclohexanocarbonil)-amino]-tiofen-2-carboxílico; (por ejemplo, ácido 5-ciclohex-1-enil-3-[ciclohexil-(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-amino]-tiofen-2-carboxílico);
13	Acido 5-(4-terc-butil-ciclohex-1-enil)-3-[(4-hidroxi-ciclohexil)-(4-metil-ciclohexanocarbonil)-amino]-tiofen-2-carboxílico; (por ejemplo, ácido 5-(4-terc-butil-ciclohex-1-enil)-3-[(trans-4-hidroxi-ciclohexil)-(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-amino]-tiofen-2-carboxílico);

14	Acido 5-(1,4-dioxa-espiro[4,5]dec-7-en-8-il)-3-[(4-hidroxi-ciclohexil)-(4-metil-ciclohexanocarbonil)-amino]-tiofen-2-carboxílico; (por ejemplo, ácido 5-(1,4-dioxa-espiro[4,5]dec-7-en-8-il)-3-[(trans-4-hidroxi-ciclohexil)-(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-amino]-tiofen-2-carboxílico);
15	Acido 5-ciclopent-1-enil-3-([2,4-dicloro-benzoil)-isopropil-amino]-tiofen-2-carboxílico;
16	Acido 5-ciclopent-1-enil-3-[(4-hidroxi-ciclohexil)-(4-metil-ciclohexanocarbonil)-amino]-tiofen-2-carboxílico; (por ejemplo, ácido 5-ciclopent-1-enil-3-[(trans-4-hidroxi-ciclohexil)-(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-amino]-tiofen-2-carboxílico)
17	Acido 5-(4,4-dimetil-ciclohexil)-3-[( <i>cis</i> -4-metoxi-ciclohexil)-(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-amino]-tiofen-2-carboxílico;
18	Acido morfolin-4-carboxílico; éster 4-[(2-carboxi-5-ciclohex-1-enil-tiofen-il)-(4-metil-ciclohexanocarbonil)-amino]-ciclohexílico; (por ejemplo, ácido 5-ciclohex-1-enil-3-[[trans-4-morfolinocarbamoiloxi)-ciclohexil)-(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-amino]-tiofen-2-carboxílico);
19	Acido 5-ciclohex-1-enil-3-[[4-(1-metoxi-2-metil-propilcarbamoiloxi)-ciclohexil)-(4-metil-ciclohexanocarbonil)-amino]-tiofen-2-carboxílico; (por ejemplo, ácido 5-ciclohex-1-enil-3-[[trans-4-(1-metoxicarbonil-2-metil-propilcarbamoiloxi)-ciclohexil)-(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-amino]tiofen-2-carboxílico);
20	Acido 5-(4,4-dimetil-ciclohex-1-enil)-3-[(4-metoxi-ciclohexil)-(4-metil-ciclohexanocarbonil)-amino]-tiofen-2-carboxílico; (por ejemplo, ácido 5-(4,4-dimetil-ciclohex-1-enil)-3-[(trans-4-metoxi-ciclohexil)-(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-amino]-tiofen-2-carboxílico);
21	Acido 5-(4,4-dimetil-ciclohexil)-3-[(4-metoxi-ciclohexil)-(4-metil-ciclohexanocarbonil)-amino]-tiofen-2-carboxílico; (por ejemplo, ácido 5-(4,4-dimetil-ciclohexil)-3-[(trans-4-metoxi-ciclohexil)-(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-amino]-tiofen-2-carboxílico);

22	Acido 5-ciclohex-1-enil-3-[(4-etoxi-ciclohexil)-(4-metil-ciclohexanocarbonil)-amino]-tiofen-2-carboxílico; (por ejemplo, ácido 5-ciclohex-1-enil-3-[(trans-4-etoxi-ciclohexil)-(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-amino]-tiofen-2-carboxílico);
23	Acido 5-ciclohex-1-enil-3-[(cis-4-metoxi-ciclohexil)-(4-metil-ciclohexanocarbonil)-amino]-tiofen-2-carboxílico (por ejemplo, ácido 5-ciclohex-1-enil-3-[(cis-4-metoxi-ciclohexil)-(4-trans-metil-ciclohexanocarbonil)-amino]-tiofen-2-carboxílico);
24	Acido 5-ciclohex-1-enil-3-[(4-metoximetoxi-ciclohexil)-(4-metil-ciclohexanocarbonil)-amino]-tiofen-2-carboxílico; (por ejemplo, ácido 5-ciclohex-1-enil-3-[(trans-4-metoximetoxi-ciclohexil)-(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-amino]-tiofen-2-carboxílico);
25	Acido 3-[(4-trans-hidroxi-ciclohexil)-(4-trans-metil-ciclohexanocarbonil)-amino]-5-(4-oxo-ciclohex-1-enil)-tiofen-2-carboxílico;
26	Acido 5-{4-benciloxiimino-ciclohex-1-enil}-3-[(4-trans-hidroxi-ciclohexil)-(4-trans-metil-ciclohexanocarbonil)-amino]-tiofen-2-carboxílico;
27	Acido 5-{4-etoxiimino-ciclohex-1-enil}-3-[(4-trans-hidroxi-ciclohexil)-(4-trans-metil-ciclohexanocarbonil)-amino]-tiofen-2-carboxílico;
28	Acido 5-biciclo[2,2,1]hept-2-en-2-il-3-[(4-trans-hidroxi-ciclohexil)-(4-trans-metil-ciclohexanocarbonil)-amino]-tiofen-2-carboxílico;
29	Acido 5-ciclohex-1-enil-3-[(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-(tetrahidro-piran-4-il)-amino]-tiofen-2-carboxílico;
30	Acido 5-ciclohex-1-enil-3-[[1,3]dioxan-5-il-(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-amino]-tiofen-2-carboxílico;
31	Acido 5-ciclohex-1-enil-3-[(2,4-dicloro-benzoil)-isopropil-amino]-tiofen-2-carboxílico;
32	Acido 5-ciclohex-1-enil-3-[(1,3-dimetil-2,4-dioxo-1,3-diaza-espiro[4,5]dec-8-il)-(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-amino]-tiofen-2-carboxílico;

33	Acido 3-[(trans-4-hidroxi-ciclohexil)-(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-amino]-5-(4-fenoxi-ciclohex-1-enil)-tiofen-2-carboxílico;
34	Acido RS-5-(4-hidroxi-ciclohex-1-enil)-3-[(4-trans-hidroxi-ciclohexil)-(4-trans-metil-ciclohexanocarbonil)-amino]-tiofen-2-carboxílico;
35	Acido 5-(4,4-dimetil-ciclohex-1-enil)-3-[(trans-4-hidroxi-ciclohexil)-(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-amino]-tiofen-2-carboxílico;
36	Acido 5-ciclohex-1-enil-3-[(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-(2-metil-[1,3]dioxan-5-il)-amino]-tiofen-2-carboxílico;
37	Acido 5-ciclohex-1-enil-3-[metil-(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-amino]-tiofen-2-carboxílico;
38	Acido 5-ciclohex-1-enil-3-[(4,4-dimetil-ciclohexil)-(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-amino]-tiofen-2-carboxílico;
39	Acido 5-ciclohex-1-enil-3-[(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-(3-metil-ciclohexil)-amino]-tiofen-2-carboxílico;
40	Acido 3-[biciclo[3,2,1]oct-3-il-(trans-4-metilciclohexanocarbonil)-amino]-5-ciclohex-1-enil-tiofen-2-carboxílico;
41	Acido 5-ciclohex-1-enil-3-[(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-(cis-4-[1,2,4]triazol-1-il-ciclohexil)-amino]-tiofen-2-carboxílico;
42	Acido 5-ciclohex-1-enil-3-[(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-(tetrahidrotiopiran-4-il)-amino]-tiofen-2-carboxílico;
43	Acido 3-[isopropil-(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-amino]-5-(4-metil-ciclohex-1-enil)-tiofen-2-carboxílico;
44	Acido 3-[(4-trans-terc-butil-ciclohexil)-(4-trans-metil-ciclohexanocarbonil)-amino]-5-ciclohex-1-enil-tiofen-2-carboxílico;
45	Acido 3-[(4-cis-terc-butil-ciclohexil)-(4-trans-metil-ciclohexanocarbonil)-amino]-5-ciclohex-1-enil-tiofen-2-carboxílico;
46	Acido 5-ciclohept-1-enil-3-[ciclohexil-(4-trans-metil-ciclohexanocarbonil)-amino]-tiofen-2-carboxílico;

47	Acido RS-3-[ciclohexil-(4-trans-metil-ciclohexanocarbonil)-amino]-5-(4-metil-ciclohex-1-enil)-tiofen-2-carboxílico;
48	Acido 5-ciclohex-1-enil-3-[(trans-4-metilciclohexanocarbonil)-(trans-4-[1,2,4]triazol-1-il-ciclohexil)-amino]-tiofen-2-carboxílico; clorhidrato
49	Acido 3-[(cis-4-cianociclohexil)-(trans-4-metilciclohexanocarbonil)-amino]-5-ciclohex-1-enil-tiofen-2-carboxílico;
50	Acido 3-[(trans-4-cianociclohexil)-(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-amino]-5-ciclohex-1-enil-tiofen-2-carboxílico;
51	Acido 5-ciclohex-1-enil-3-[ciclopropil-(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-amino]-tiofen-2-carboxílico;
52	Acido 5-ciclohex-1-enil-3-[(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-(trans-4-metil-ciclohexil)-amino]-tiofen-2-carboxílico;
53	Acido 5-ciclohex-1-enil-3-[(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-(cis-4-metil-ciclohexil)-amino]-tiofen-2-carboxílico;
54	Acido 5-ciclohex-1-enil-3-[(4-etoxiimino-ciclohexil)-(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-amino]-tiofen-2-carboxílico;
55	Acido 5-(3-hidroxi-ciclohex-1-enil)-3-[(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-[trans-4-(tetrahidro-piran-2-iloxi)-ciclohexil]-amino]-tiofen-2-carboxílico;
56	4-[(2-carboxi-5-ciclohex-1-enil-tiofen-3-il)-(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-amino]-1-metil-piperidinio
57	Acido 5-ciclohex-1-enil-3-[(cis-4-fluoro-ciclohexil)-(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-amino]-tiofen-2-carboxílico;
58	Acido RS-3-[(4-trans-metil-ciclohexanocarbonil)-(4-oxo-ciclohexil)-amino]-5-(2-metil-ciclohex-2-enil)-tiofen-2-carboxílico;
59	Acido RS-3-[(4-trans-metil-ciclohexanocarbonil)-(4-oxo-ciclohexil)-amino]-5-(6-metil-ciclohex-1-enil)-tiofen-2-carboxílico;
60	Acido RS-3-[(4-trans-hidroxi-ciclohexil)-(4-trans-metil-ciclohexanocarbonil)-amino]-5-(6-metil-ciclohex-1-enil)-tiofen-2-carboxílico;

61	Acido RS-3-[(4-trans-hidroxi-ciclohexil)-(4-trans-metil-ciclohexanocarbonil)-amino]-5-(5-metil-ciclohex-1-enil)-tiofen-2-carboxílico;
62	Acido 5-ciclohex-1-enil-3-[(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-[trans-4-(1 h-tetrazol-5-il)-ciclohexil]-amino]-tiofen-2-carboxílico;
63	Acido 5-ciclohex-1-enil-3-[(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-(1-oxo-hexahidro-1-tiopiran-4-il)-amino]-tiofen-2-carboxílico;
64	Acido 5-(4,4-dimetil-ciclohexil)-3-[(trans-4-hidroxi-ciclohexil)-(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-amino]-tiofen-2-carboxílico;
65	Acido 5-ciclohex-1-enil-3-[(cis/trans-decahidro-naftalen-2-il)-(4-trans-metil-ciclohexanocarbonil)-amino]-tiofen-2-carboxílico;
66	Acido RS-5-ciclohex-1-enil-3-[(4-trans-metil-ciclohexanocarbonil)-(1,2,3,4-tetrahidro-naftalen-2-il)-amino]-tiofen-2-carboxílico;
67	Acido RS-5-ciclohex-1-enil-3-[(7-metoxi-1,2,3,4-tetrahidro-naftalen-2-il)-(4-trans-metil-ciclohexanocarbonil)-amino]-tiofen-2-carboxílico;
68	Acido 3-[(3-trans-carboxi-4-trans-metilcarbamoil-ciclohexil)-(4-trans-metil-ciclohexanocarbonil)-amino]-5-ciclohex-1-enil-tiofen-2-carboxílico;
69	Acido 5-ciclohex-1-enil-3-[(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-(1-oxo-hexahidro-1 $\lambda$ *4*-tiopiran-4-il)-amino]-tiofen-2-carboxílico;
70	Acido 5-ciclohex-1-enil-3-[(trans-4-fluoro-ciclohexil)-(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-amino]-tiofen-2-carboxílico;
71	4-[(5-ciclohex-1-enil-2-metoxicarbonil-tiofen-3-il)-(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-amino]-1-metil-piperidinio; cloruro
72	Acido RS-5-ciclohex-1-enil-3-[(4-trans-metil-ciclohexanocarbonil)-(2-metil-1,3-dioxo-octahidro-isoindol-5-il)-amino]-tiofen-2-carboxílico;
73	Acido 5-ciclohex-1-enil-3-[cis-(1,3-dimetil-2-oxo-1,3-diaza-espiro[4,5]dec-8-il)-(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-amino]-tiofen-2-carboxílico;

74	Acido 5-ciclohex-1-enil-3-[trans-(1,3-dimetil-2-oxo-1,3-diaza-espiro[4,5]dec-8-il)-(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-amino]-tiofen-2-carboxílico;
75	Acido 5-(4,4-dimetil-ciclohex-1-enil)-3-[(1,3-dimetil-2,4-dioxo-1,3-diaza-espiro[4,5]dec-8-il)-(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-amino]-tiofen-2-carboxílico;
76	Acido 5-ciclohex-1-enil-3-(2,4-dimetil-bencenosulfonilamino)-tiofen-2-carboxílico;
77	Acido 3-[(trans-4-hidroxi-ciclohexil)-(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-amino]-5-(trans-4-metil-ciclohexil)-tiofen-2-carboxílico;
78	Acido 3-[(trans-4-hidroxi-ciclohexil)-(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-amino]-5-(cis-4-metil-ciclohexil)-tiofen-2-carboxílico;
79	Acido 5-(4,4-dimetil-ciclohexil)-3-[(1,3-dimetil-2,4-dioxo-1,3-diaza-espiro[4,5]dec-8-il)-(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-amino]-tiofen-2-carboxílico;
80	Acido 5-ciclohex-1-enil-3-[(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-cis-(3-oxo-2-aza-espiro[4,5]dec-8-il)-amino]-tiofen-2-carboxílico;
81	Acido 5-ciclohex-1-enil-3-[(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-trans-(3-oxo-2-aza-espiro[4,5]dec-8-il)-amino]-tiofen-2-carboxílico;
82	Acido 5-(3-hidroxi-ciclohex-1-enil)-3-[(trans-4-hidroxi-ciclohexil)-(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-amino]-tiofen-2-carboxílico;
83	Acido 5-(4,4-dimetil-ciclohexil)-3-[(trans-4-fluoro-ciclohexil)-(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-amino]-tiofen-2-carboxílico;
84	Acido 5-ciclohex-1-enil-3-[(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-cis-(2-metil-3-oxo-2-aza-espiro[4,5]dec-8-il)-amino]-tiofen-2-carboxílico;
85	Acido 5-(4-cis/trans-hidroxi-ciclohexil)-3-[(4-trans-hidroxi-ciclohexil)-(4-trans-metil-ciclohexanocarbonil)-amino]-tiofen-2-carboxílico;

86	Acido 3-[(4-trans-hidroxi-ciclohexil)-(4-trans-metil-ciclohexanocarbonil)-amino]-5-(4-oxo-ciclohexil)-tiofen-2-carboxílico;
87	Acido RS-5-ciclohex-1-enil-3-[(4-trans-metil-ciclohexanocarbonil)-(3-oxo-octahidro-indolizin-7-il)-amino]-tiofen-2-carboxílico;
88	4-[(2-carboxi-5-ciclohex-1-enil-tiofen-3-il)-(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-amino]-1,1-dimetil-piperidinio
89	4-[[5-ciclohex-1-enil-2-(2,2-dimetil-propioniloximetoxicarbonil)-tiofen-3-il]-(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-amino]-1-metil-piperidinio; cloruro
90	Cloruro de 4-[(5-ciclohex-1-enil-2-isopropoxicarbonil-oximetoxicarbonil-tiofen-3-il)-(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-amino]-1-metil-piperidinio;
91	Acido 5-ciclohex-1-enil-3-[(4,4-difluoro-ciclohexil)-(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-amino]-tiofen-2-carboxílico;
92	Acido 5-ciclohex-1-enil-3-[[1-(2,2-difluoro-etil)-piperidin-4-il]-(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-amino]-tiofen-2-carboxílico;
93	Acido 5-(4,4-dimetil-ciclohexil)-3-[(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-(1-metil-piperidin-4-il)-amino]-tiofen-2-carboxílico;
94	Acido 5-(4,4-dimetil-ciclohex-1-enil)-3-[(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-(cis-4-[1,2,4]triazol-1-il-ciclohexil)-amino]-tiofen-2-carboxílico; clorhidrato
95	Acido 5-(4,4-dimetil-ciclohex-1-enil)-3-[(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-(trans-4-[1,2,4]triazol-1-il-ciclohexil)-amino]-tiofen-2-carboxílico; clorhidrato
96	Acido 5-ciclohex-1-enil-3-[(trans, 4-metil-ciclohexanocarbonil)-(1-pirimidin-5-il-piperidin-4-il)-amino]-tiofen-2-carboxílico;
97	Acido 5-(4,4-dimetil-ciclohexil)-3-[[1,3]dioxan-5-il-(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-amino]-tiofen-2-carboxílico;
98	Acido 5-ciclohex-1-enil-3-[(1-formil-piperidin-4-il)-(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-amino]-tiofen-2-carboxílico;

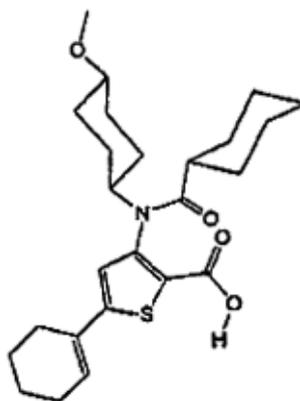
99	Acido 3-[(cis-4-ciano-4-metil-ciclohexil)-(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-amino]-5-ciclohex-1-enil-tiofen-2-carboxílico;
100	5-(4,4-dimetil-ciclohexil)-3-[(trans-4-metoxi-ciclohexil)-(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-amino]-tiofen-2-carboxilato(s)-5-amino-1-carboxi-pentil-amonio;
101	Acido 5-ciclohex-1-enil-3-[(1-metanosulfonil-piperidin-4-il)-(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-amino]-tiofen-2-carboxílico;
102	Acido 3-[(1-ciano-piperidin-4-il)-(trans, 4-metil-ciclohexanocarbonil)-amino]-5-ciclohex-1-enil-tiofen-2-carboxílico;
103	Acido 5-ciclohex-1-enil-3-[(trans, 4-metil-ciclohexanocarbonil)-(1-pirimidin-2-il-piperidin-4-il)-amino]-tiofen-2-carboxílico;
104	Acido 5-ciclohex-1-enil-3-[(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-(cis-4-[1,2,3]triazol-1-il-ciclohexil)-amino]-tiofen-2-carboxílico;
105	Acido 5-ciclohex-1-enil-3-[(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-(trans-4-[1,2,3]triazol-1-il-ciclohexil)-amino]-tiofen-2-carboxílico;
106	Acido 3-[(trans-4-ciano-4-metil-ciclohexil)-(trans-4-metilciclohexanocarbonil)-amino]-5-ciclohex-1-enil-tiofen-2-carboxílico;
107	Acido 5-ciclohex-1-enil-3-[(trans, 4-metil-ciclohexanocarbonil)-piperidin-4-il-amino]-tiofen-2-carboxílico;
108	Acido 3-[(trans-4-metoxi-ciclohexil)-(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-amino]-5-(4-trifluorometil-ciclohexil)-tiofen-2-carboxílico;
109	5-(4,4-dimetil-ciclohexil)-3-[(trans-4-metoxi-ciclohexil)-(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-amino]-tiofen-2-carboxilatometil-((2s,3r,4r,5r)-2,3,4,5,6-pentahidroxi-hexil)-amonio;
110	5-(4,4-dimetil-ciclohexil)-3-[(trans-4-metoxi-ciclohexil)-(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-amino]-tiofen-2-carboxilato(2-hidroxi-etil)-trimetil-amonio;
111	Acido 5-ciclohex-1-enil-3-[(2-metoxi-1-metoximetil-etil)-(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-amino]-tiofen-2-carboxílico;

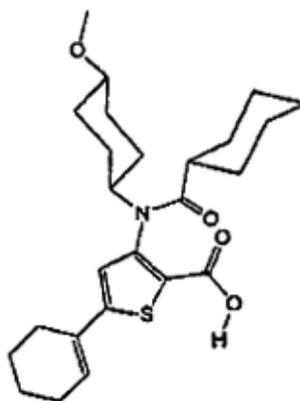
112	Acido 5-ciclohexil-3-[(4-trans-metoxi-ciclohexil)-(4-trans-metil-ciclohexanocarbonil)-amino]-tiofen-2-carboxílico;
113	Acido 3-[(4-trans-metoxi-ciclohexil)-(4-trans-metil-ciclohexanocarbonil)-amino]-5-(4-oxo-ciclohexil)-tiofen-2-carboxílico;
114	Acido 5-(4,4-dimetil-ciclohex-1-enil)-3-[(4-trans-metoximetoxi-ciclohexil)-(4-trans-metil-ciclohexanocarbonil)-amino]-tiofen-2-carboxílico;
115	Acido RS-5-ciclohex-1-enil-3-[ciclohex-3-enil-(4-trans-metil-ciclohexanocarbonil)-amino]-tiofen-2-carboxílico;
116	Acido 5-(4,4-dimetil-ciclohexil)-3-[(4-trans-metoximetoxi-ciclohexil)-(4-trans-metil-ciclohexanocarbonil)-amino]-tiofen-2-carboxílico;
117	Acido 5-(4,4-dimetil-ciclohexil)-3-[(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-(cis-4-[1,2,4]triazol-1-il-ciclohexil)-amino]-tiofen-2-carboxílico; clorhidrato
118	Acido 5-(4,4-dimetil-ciclohexil)-3-[(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-(trans-4-[1,2,4]triazol-1-il-ciclohexil)-amino]tiofen-2-carboxílico; clorhidrato
119	Acido 5-(2,6-difluoro-ciclohex-1-enil)-3-[(trans-4-metoxi-ciclohexil)-(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-amino]-tiofen-2-carboxílico;
120	Acido 5-(2,3-difluoro-ciclohex-1-enil)-3-[(trans-4-metoxi-ciclohexil)-(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-amino]-tiofen-2-carboxílico;
121	Amonio; 5-ciclohex-1-enil-3-[(4-metil-ciclohexanocarbonil)-(1-piridin-3-ilmetil-piperidin-4-il)-amino]-tiofen-2-carboxilato
122	Acido 5-(4,4-difluoro-ciclohexil)-3-[(4-trans-metoxi-ciclohexil)-(4-trans-metil-ciclohexanocarbonil)-amino]-tiofen-2-carboxílico;
123	Acido RS-5-(4-fluoro-ciclohex-3-enil)-3-[(4-trans-metoxi-ciclohexil)-(4-trans-metil-ciclohexanocarbonil)-amino]-tiofen-2-carboxílico;

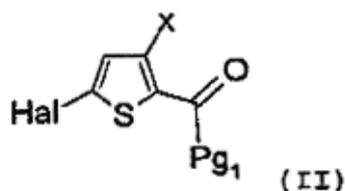
124	Acido 3-[(trans-4-metoxi-ciclohexil)-(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-amino]-5-(4-trifluorometil-ciclohex-1-enil)-tiofen-2-carboxílico;
125	Acido 5-ciclohex-1-enil-3-[(trans-4-etoximetoxi-ciclohexil)-(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-amino]-tiofen-2-carboxílico;
126	Acido 5-ciclohex-1-enil-3-[(4-cis/trans-metoximetil-ciclohexil)-(4-trans-metil-ciclohexanocarbonil)-amino]-tiofen-2-carboxílico;
127	Acido 5-ciclohex-1-enil-3-[(trans, 4-metil-ciclohexanocarbonil)-(1-fenil-piperidin-4-il)-amino]-tiofen-2-carboxílico;
128	Acido 5-ciclohex-1-enil-3-[(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-trans(2-metil-3-oxo-2-aza-espiro[4,5]dec-8-il)-amino]-tiofen-2-carboxílico;
129	Acido 5-ciclohex-1-enil-3-[trans(2-etil-3-oxo-2-aza-espiro[4,5]dec-8-il)-(trans-4-metilciclohexanocarbonil)-amino]-tiofen-2-carboxílico;
130	Acido 5-ciclohex-1-enil-3-[cis(2-etil-3-oxo-2-aza-espiro[4,5]dec-8-il)-(trans-4-metilciclohexanocarbonil)-amino]-tiofen-2-carboxílico;
131	Acido 5-ciclohex-1-enil-3-[(4-cis-metoximetil-ciclohexil)-(4-trans-metil-ciclohexanocarbonil)-amino]-tiofen-2-carboxílico;
132	Acido 5-ciclohex-1-enil-3-[(4-trans-metoximetil-ciclohexil)-(4-trans-metil-ciclohexanocarbonil)-amino]-tiofen-2-carboxílico;
133	Acido 5-ciclohex-1-enil-3-[(cis-4-isobutirilamino-ciclohexil)-(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-amino]-tiofen-2-carboxílico;
134	Acido 5-ciclohex-1-enil-3-[(trans-4-isobutirilamino-ciclohexil)-(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-amino]-tiofen-2-carboxílico;
135	Acido 5-(4,4-dimetil-ciclohexil)-3-[(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-(trans-4-[1,2,3]triazol-1-il-ciclohexil)-amino]-tiofen-2-carboxílico;
136	Acido 3-[benzo[1,3]dioxol-5-il-(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-amino]-5-ciclohex-1-enil-tiofen-2-carboxílico;
137	Acido 5-(4-cis/trans-fluoro-ciclohexil)-3-[(4-trans-metoxi-ciclohexil)-(4-trans-metil-ciclohexanocarbonil)-amino]-tiofen-2-carboxílico;

138	Acido 5-(5,5-dimetil-ciclohex-1-enil)-3-[(4-trans-metoxi-ciclohexil)-(4-trans-metil-ciclohexanocarbonil)-amino]-tiofen-2-carboxílico;
139	Acido 5-ciclohex-1-enil-3-[[1-(2-fluoro-etil)-piperidin-4-il]-(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-amino]-tiofen-2-carboxílico;
140	Acido 5-ciclohex-1-enil-3-[(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-[4-(metil-propionil-amino)-ciclohexil]-amino]-tiofen-2-carboxílico;
141	Acido 5-ciclohex-1-enil-3-[(1-isobutiril-piperidin-4-il)-(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-amino]-tiofen-2-carboxílico;
142	Acido 5-ciclohex-1-enil-3-[(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-(trans-4-metilsulfanilmetoxi-ciclohexil)-amino]-tiofen-2-carboxílico;
143	Acido 3-[(4-trans-hidroxi-ciclohexil)-(4-trans-metil-ciclohexanocarbonil)-amino]-tiofen-2-carboxílico;
144	Acido 5-bromo-3-[(trans-4-hidroxi-ciclohexil)-(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-amino]-tiofen-2-carboxílico;
145	Acido 3-[(trans-4-metoxi-ciclohexil)-(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-amino]-tiofen-2-carboxílico;
146	Acido 5-ciclohex-2-enil-3-[(trans-4-hidroxi-ciclohexil)-(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-amino]-tiofen-2-carboxílico;
147	Acido 5-ciclohex-3-enil-3-[(trans-4-hidroxi-ciclohexil)-(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-amino]-tiofen-2-carboxílico;
148	Acido 3-[(trans-4-hidroxi-ciclohexil)-(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-amino]-5-(4-metil-ciclohexil)-tiofen-2-carboxílico;
149	Acido 3-[(trans-4-hidroxi-ciclohexil)-(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-amino]-5-(4-metil-ciclohex-2-enil)-tiofen-2-carboxílico;
150	Acido 3-[(trans-4-hidroxi-ciclohexil)-(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-amino]-5-(4-metil-ciclohex-3-enil)-tiofen-2-carboxílico;
151	Acido 3-[(trans-4-hidroxi-ciclohexil)-(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-amino]-5-(4-fenil-ciclohex-1-enil)-tiofen-2-carboxílico;

152	Acido 3-[(trans-4-hidroxi-ciclohexil)-(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-amino]-5-(4-fenoxi-ciclohex-1-enil)-tiofen-2-carboxílico;
153	Acido 3-[(trans-4-hidroxi-ciclohexil)-(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-amino]-5-(4-fenoxi-ciclohexil)-tiofen-2-carboxílico;
154	Acido 3-[(trans-4-hidroxi-ciclohexil)-(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-amino]-5-(3,4,4a,5,6,7,8,8a-octahidronaftalen-2-il)-tiofen-2-carboxílico;
155	Acido 5-biciclo[2,2,1]hept-2-il-3-[(trans-4-hidroxi-ciclohexil)-(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-amino]-tiofen-2-carboxílico;
156	Acido 5-ciclohex-1-enil-3-[(trans-4-metilciclohexanocarbonil)-(1-metil-piperidin-4-il)-amino]-tiofen-2-carboxílico;
157	Acido 5-ciclohex-1-enil-3-[isopropil-(4-metil-benzoil)-amino]-tiofen-2-carboxílico; y
sales y solvatos farmacéuticamente aceptables de los mismos.	



El compuesto de fórmula  puede prepararse haciendo reaccionar un compuesto de fórmula (II):



con un compuesto de la fórmula:

5

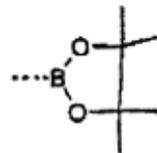
$R_1-B(OH)_2$  o  $R_1-B_1$ ,

en condiciones de acoplamiento de Suzuki convencionales;

en el que;

X es (trans-4-metoxi-ciclohexil)-(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-amino

R<sub>1</sub> es ciclohexeno, Pg<sub>1</sub> es OH o un grupo protector de carboxilo, Hal es



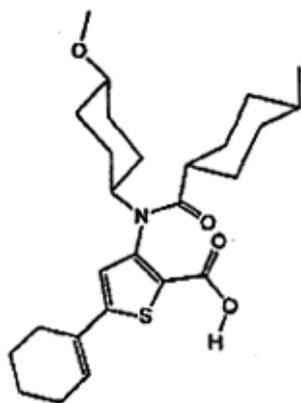
5 Cl, Br o I (por ejemplo, Br) y B<sub>1</sub> es un boronato como de realización adicional, Pg<sub>1</sub> es metoxi.

En una forma

El acoplamiento de Suzuki, que es un acoplamiento cruzado catalizado por paladio entre ácido organoborónico y haluros es bien conocido en la técnica. Las condiciones para dicho acoplamiento se describen en los ejemplos de la presente solicitud y en Suzuki y col. Chem. Rev. 1995, 95, 2457-2483.

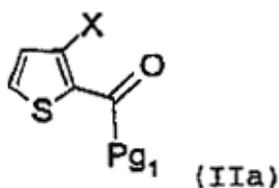
10 El término "grupo protector de carboxilo" es bien conocido en el campo de la química orgánica. Dichos grupos protectores pueden encontrarse en "Protective Groups in Organic Synthesis" segunda edición, Wiley-Interscience Publication, de T.W. Greene y P.G.M. Wuts. Entre los ejemplos de grupos protectores de carboxilo se incluyen pero no se limitan a ésteres como éster metílico, amidas como *N,N*-dimetilo e hidrazidas como *N*-fenilo.

15 Alternativamente, un compuesto de fórmula

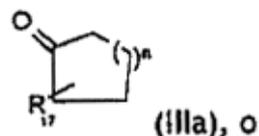


fórmula:

puede prepararse haciendo reaccionar un compuesto de



en presencia de una base fuerte como diisopropilamida de litio (LDA) con el fin de generar el carbanión seguido por reacción de la mezcla resultante con un producto intermedio de cetona de fórmula (IIIa):



- 5           o un producto intermedio de cetona de fórmula (IIIb):  
           (R<sub>1</sub>)=O  
           en condiciones de acoplamiento convencionales;  
           en el que;  
           X es tal como se define anteriormente es metoxi, n es 1 y R<sub>17</sub> es H.
- 10          En una forma de realización, la presente invención proporciona una composición farmacéutica que comprende el compuesto según la invención descrita en la presente memoria descriptiva y al menos un soporte o excipiente farmacéuticamente aceptable.
- En otra forma de realización, se proporciona una combinación que  
 15   comprende el compuesto según la invención descrita en la presente memoria descriptiva y uno o más agentes adicionales elegidos entre inhibidores de la serina-proteasa vírica, inhibidores de la polimerasa vírica, inhibidores de la helicasa vírica, agentes de inmunomodulación, agentes antioxidantes, agentes antibacterianos, vacunas terapéuticas, agentes hepatoprotectores, agente  
 20   antisentido, inhibidores de proteasa NS2/3 del VHC e inhibidores de sitio de entrada interna del ribosoma (IRES).
- En una forma de realización combinada, el compuesto y el agente adicional se administran secuencialmente.
- En otra forma de realización combinada, el compuesto y el agente  
 25   adicional se administran simultáneamente.
- Las combinaciones referidas anteriormente pueden presentarse convenientemente para su uso en la forma de una formulación farmacéutica y así las formulaciones farmacéuticas que comprenden una combinación tal como se define anteriormente junto con un soporte farmacéuticamente  
 30   aceptable comprenden un aspecto adicional de la invención.
- Los agentes adicionales para las composiciones y combinaciones incluyen, por ejemplo, ribavirina, amantadina, merimepodib, levovirina,

viramidina y maxamina.

El "agente inmunomodulador" según se usa en la presente memoria descriptiva se refiere a aquellos agentes que son eficaces para mejorar o potenciar la respuesta del sistema inmunitario en un mamífero. Los agentes  
5 inmunomoduladores incluyen, por ejemplo, interferones de clase I (como interferones  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\delta$  y  $\Omega$ , interferones  $\tau$ , interferones de consenso y asialo-interferones), interferones de clase II (como interferones  $\gamma$ ) e interferones pegilados.

El término "interferón de clase I" según se usa en la presente memoria  
10 descriptiva se refiere a un interferón seleccionado entre un grupo de interferones que se unen todos al receptor de tipo 1. Esto incluye interferones de clase I producidos de forma natural y sintética. Entre los ejemplos de interferones de clase I se incluyen interferones  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\delta$  y  $\Omega$ , interferones  $\tau$ , interferones de consenso y asialo-interferones. El término "interferón de clase  
15 II" según se usa en la presente memoria descriptiva se refiere a un interferón seleccionado entre un grupo de interferones que se unen a un receptor de tipo II. Entre los ejemplos de interferones de clase II se incluyen interferones  $\gamma$ .

El término "inhibidor de serina-proteasa vírica" según se usa en la presente memoria descriptiva se refiere a un agente que es eficaz para inhibir  
20 la función de la serina-proteasa vírica que incluye serina-proteasa de VHC en un mamífero. Entre los inhibidores de serina-proteasa de VHC se incluyen, por ejemplo, los compuestos descritos en los documentos WO-99/07.733 (Boehringer Ingelheim), WO-99/07.734 (Boehringer Ingelheim), WO-00/09.558 (Boehringer Ingelheim), WO-00/09.543 (Boehringer Ingelheim), WO-00/59.929  
25 (Boehringer Ingelheim), WO-02/060.926 (BMS), WO-2006/039.488 (Vertex), WO-2005/077.969 (Vertex), WO-2005/035.525 (Vertex), WO-2005/028.502 (Vertex), WO-2005/007.681 (Vertex), WO-2004/092.162 (Vertex), WO-2004/091.161 (Vertex), WO-2003/035.060 (Vertex), de WO-03/087.092 (Vertex), WO-02/18.369 (Vertex) o WO-98/17.679 (Vertex).

Entre los ejemplos específicos de inhibidores de proteasa NS3 de VHC,  
30 se incluyen BILN-2061 (Boehringer Ingelheim), SCH-6 y SCH-503034 (Schering-Plough), telaprevir (Vertex) e ITMN-B (InterMune) y GS9132 (Gilead).

El término "inhibidores de la polimerasa vírica" según se usa en la presente memoria descriptiva se refiere a un agente que es eficaz para inhibir  
35 la función de una polimerasa vírica que incluye una polimerasa de VHC en un

mamífero. Los inhibidores de polimerasa de VHC incluyen no nucleósidos, por ejemplo, los compuestos descritos en los documentos:

WO-03/010.140 (Boehringer Ingelheim), WO-03/026.587 (Bristol Myers Squibb); WO-02/100.846-A1, WO-02/100.851-A2, WO-01/85.172-A1 (GSK),  
5 WO-02/098.424-A1 (GSK), WO-00/06.529 (Merck), WO-02/06.246-A1 (Merck),  
WO-01/47.883 (Japan Tobacco), WO-03/000.254 (Japan Tobacco) y EP-  
1.256.628-A2 (Agouron).

Además otros inhibidores de polimerasa de VHC incluyen también  
análogos de nucleósidos, por ejemplo, los compuestos descritos en los  
10 documentos: WO-01/90.121-A2 (Idenix), WO-02/069.903-A2 (Biocryst  
Pharmaceuticals Inc.) y WO-02/057.287-A2 (Merck/Isis) y WO-02/057.425-A2  
(Merck/Isis).

Entre los ejemplos específicos de inhibidores de una polimerasa de VHC  
se incluyen JTK-002/003 y JTK-109 (Japan Tobacco), VHC-796 (Viropharma),  
15 R1626/R1479 (Roche), R1656, (Roche-Pharmasset) y Valopicitabine (Idenix).

Los sitios de entrada interna del ribosoma (IRES) inhibidores incluyen  
ISIS-14803 (ISIS Pharmaceuticals) y los compuestos descritos en el  
documento WO-2006/019.831 (PTC therapeutics).

En una forma de realización, el agente adicional es interferón  $\alpha$ ,  
20 ribavirina, Silybum marianum, interleucina-12, amantadina, ribozima, timosina,  
N-acetilcisteína o ciclosporina.

En una forma de realización, el agente adicional es interferón  $\alpha$  1A,  
interferón  $\alpha$  1B, interferón  $\alpha$  2A o interferón  $\alpha$  2B.

En una forma de realización, el inhibidor de serina-proteasa vírica es un  
25 inhibidor de serina-proteasa de *Flaviviridae*.

En una forma de realización, el inhibidor de polimerasa vírica es un  
inhibidor de polimerasa de *Flaviviridae*.

En una forma de realización, el inhibidor de helicasa vírica es un  
inhibidor de helicasa de *Flaviviridae*.

30 En formas de realización adicionales:

el inhibidor de serina-proteasa vírica es inhibidor de serina-proteasa de  
VHC;

el inhibidor de polimerasa vírica es inhibidor de polimerasa de VHC;

el inhibidor de helicasa vírica es inhibidor de helicasa de VHC.

35 El compuesto de la presente invención es adecuado para su uso en un

procedimiento para el tratamiento o la prevención de una infección vírica por *Flaviviridae* en un hospedador que comprende la administración a un hospedador de una cantidad terapéuticamente eficaz de al menos un compuesto según la fórmula 1.

5 En una forma de realización, la infección vírica se elige entre infecciones por *Flavivirus*.

En una forma de realización, la infección por *Flavivirus* es virus de la hepatitis C (VHC), virus de la diarrea vírica bovina (VDVB), virus de la peste porcina, virus del dengue, virus de la encefalitis japonesa o virus de la fiebre  
10 amarilla.

En una forma de realización, la infección vírica por *Flaviviridae* es infección vírica de hepatitis C (VHC).

El compuesto de la presente invención es adecuado para su uso en un procedimiento para el tratamiento o la prevención de una infección vírica por  
15 *Flaviviridae* en un hospedador que comprende la administración al hospedador de una cantidad terapéuticamente eficaz de al menos un compuesto según la invención descrita en la presente memoria descriptiva, y que comprende además la administración de al menos un agente adicional elegido entre  
20 inhibidores de la serina-proteasa vírica, inhibidores de la polimerasa vírica, inhibidores de la helicasa vírica, agentes de inmunomodulación, agentes antioxidantes, agentes antibacterianos, vacunas terapéuticas, agentes hepatoprotectores, agentes antisentido, inhibidores de proteasa NS2/3 del VHC e inhibidores de sitio de entrada interna del ribosoma (IRES).

El compuesto de la presente invención es adecuado para su uso en un  
25 procedimiento para inhibir o reducir la actividad de la polimerasa vírica en un hospedador que comprende la administración de una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto según la invención descrita en la presente memoria descriptiva.

El compuesto de la presente invención es adecuado para su uso en un  
30 procedimiento para inhibir o reducir la actividad de polimerasa vírica en un hospedador que comprende la administración de una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto según la invención descrita en la presente memoria descriptiva y que comprende además la administración de uno o más inhibidores de la polimerasa vírica.

35

Dicha polimerasa vírica puede ser una polimerasa vírica de *Flaviviridae*.

Dicha polimerasa vírica puede ser una polimerasa de ARN dependiente de ARN.

Dicha polimerasa vírica puede ser polimerasa de VHC.

5 Las combinaciones referidas anteriormente pueden presentarse convenientemente para su uso en la forma de una formulación farmacéutica y así las formulaciones farmacéuticas que comprenden una combinación tal como se define anteriormente junto con un soporte farmacéuticamente aceptable están comprendidas por el aspecto de la composición farmacéutica  
10 de la invención.

Los componentes individuales para su uso en el procedimiento especificado en la presente memoria descriptiva o combinaciones de la presente invención pueden administrarse de forma secuencial o simultánea en formulaciones farmacéuticas.

15 En una forma de realización, la presente invención proporciona el compuesto según la invención descrita en la presente memoria descriptiva para su uso en el tratamiento o la prevención de infección vírica por *Flaviviridae* en un hospedador.

20 En una forma de realización, la presente invención proporciona el compuesto según la invención descrita en la presente memoria descriptiva para su uso en la inhibición o reducción de la actividad de polimerasa vírica en un hospedador.

25 Los expertos en la materia observarán que los compuestos de acuerdo con la presente invención y los otros compuestos de ejemplo descritos en la presente memoria descriptiva pueden existir como estereoisómeros (por ejemplo, isómeros ópticos (+ y -), geométricos (cis y trans) y conformacionales (axial y ecuatorial)). Todos estos estereoisómeros se incluyen en el ámbito de la presente invención.

30 Los expertos en la materia observarán que los compuestos de acuerdo con la presente invención y los otros compuestos de ejemplo descritos en la presente memoria descriptiva pueden contener un centro quiral. Los compuestos de la fórmula pueden existir así en la forma de dos isómeros ópticos diferentes (es decir, enantiómeros (+) o (-)). Todos estos enantiómeros y mezclas de los mismos que incluyen mezclas racémicas están incluidos  
35 dentro del ámbito de la invención. El isómero o enantiómero óptico único puede

obtenerse por un procedimiento bien conocido en la técnica, como HPLC quirál, resolución enzimática y procedimientos auxiliares quirales.

En una forma de realización, los compuestos de la presente invención se proporcionan en la forma de un único enantiómero al menos el 95%, al menos el 97% y al menos el 99% libre del enantiómero correspondiente.

En una forma de realización adicional el compuesto de la presente invención está en la forma del enantiómero (+) al menos el 95% libre del enantiómero (-) correspondiente.

En una forma de realización adicional el compuesto de la presente invención está en la forma del enantiómero (+) al menos el 97% libre del enantiómero (-) correspondiente.

En una forma de realización adicional el compuesto de la presente invención está en la forma del enantiómero (+) al menos el 99% libre del enantiómero (-) correspondiente.

En una forma de realización adicional, los compuestos de la presente invención están en la forma del enantiómero (-) al menos el 95% libre del enantiómero (+) correspondiente.

En una forma de realización adicional el compuesto de la presente invención está en la forma del enantiómero (-) al menos el 97% libre del enantiómero (+) correspondiente.

En una forma de realización adicional el compuesto de la presente invención está en la forma del enantiómero (-) al menos el 99% libre del enantiómero (+) correspondiente.

Se proporcionan también sales farmacéuticamente aceptables de los compuestos de la presente invención. Por el término sales farmacéuticamente aceptables de compuestos se entienden las sales derivadas de ácidos y bases inorgánicos y orgánicos farmacéuticamente aceptables. Entre los ejemplos de ácidos adecuados se incluyen los ácidos clorhídrico, bromhídrico, sulfúrico, nítrico, perclórico, fumárico, maleico, fosfórico, glicólico, láctico, salicílico, succínico, toluen-p-sulfónico, tartárico, acético, trifluoroacético, cítrico, metanosulfónico, fórmico, benzoico, malónico, naftalen-2-sulfónico y bencenosulfónico. Otros ácidos como el oxálico, aunque en sí mismos no farmacéuticamente aceptables, pueden ser útiles como productos intermedios para la obtención de los compuestos de la invención y sus sales de adición ácida farmacéuticamente aceptables.

También se incluyen las sales derivadas de aminoácidos (por ejemplo, L-arginina, L-lisina).

Entre las sales derivadas de bases apropiada se incluyen metales alcalinos (por ejemplo, calcio, sodio, litio, potasio), metales alcalinotérreos (por ejemplo, magnesio), amonio, sales  $\text{NR}_4^+$  (en el que R es alquilo  $\text{C}_{1-4}$ ), colina y trometamina.

En lo sucesivo una referencia a un compuesto según la invención incluye ese compuesto y sus sales farmacéuticamente aceptables.

En una forma de realización de la invención, la sal farmacéuticamente aceptable es una sal de sodio.

En una forma de realización de la invención, la sal farmacéuticamente aceptable es una sal de litio.

En una forma de realización de la invención, la sal farmacéuticamente aceptable es una sal de potasio.

Los expertos en la materia observarán que los compuestos de acuerdo con la presente invención pueden existir en diferentes formas polimórficas. Tal como se conoce en la técnica, el polimorfismo es la capacidad de un compuesto de cristalizar como más de una especie cristalina o "polimórfica" distinta. Un polimorfo es una fase cristalina sólida de un compuesto con al menos dos configuraciones o formas polimórficas diferentes de molécula de ese compuesto en el estado sólido. Las formas polimórficas de cualquier compuesto dado se definen por la misma fórmula o composición química y son tan distintas en estructura química como las estructuras cristalinas de dos compuestos químicos diferentes.

Los expertos en la materia observarán además que los compuestos de acuerdo con la presente invención pueden existir en diferentes formas de solvato, por ejemplo, hidratos. Los solvatos de los compuestos de la invención se pueden formar también cuando se incorporan moléculas de disolvente en la estructura de retícula cristalina de la molécula del compuesto durante el proceso de cristalización.

Salvo que se defina lo contrario, todos los términos técnicos y científicos usados en la presente memoria descriptiva tienen el mismo significado que conoce comúnmente un experto en la materia al que pertenece esta invención. Todas las publicaciones, solicitudes de patentes, patentes y otras referencias mencionadas en la presente memoria descriptiva se incorporan como

referencia en su totalidad. En caso de conflicto, prevalecerá la presente memoria descriptiva, incluyendo las definiciones. Además, los materiales, procedimientos y ejemplos son sólo ilustrativos y no pretenden ser limitantes.

Se observará que la cantidad del compuesto de la invención requerida para su uso en el tratamiento variará según la vía de administración, la naturaleza de la dolencia para la que se requiere el tratamiento y la edad y el estado del paciente y en última instancia se suministrará a discreción del médico o veterinario responsable. En general, sin embargo, una dosis adecuada estará en el intervalo de aproximadamente 0,1 a aproximadamente 750 mg/kg de peso corporal al día, por ejemplo, en el intervalo de 0,5 a 60 mg/kg/día, o, por ejemplo, en el intervalo de 1 a 20 mg/kg/día.

La dosis deseada puede presentarse convenientemente en una sola dosis o como una dosis dividida administrada en intervalos apropiados, por ejemplo, como dos, tres, cuatro o más dosis al día.

El compuesto se administra convenientemente en forma de dosificación unitaria; por ejemplo, que contiene de 10 a 1.500 mg, convenientemente de 20 a 1.000 mg, con la máxima conveniencia de 50 a 700 mg de ingrediente activo por forma de dosificación unitaria.

Idealmente el ingrediente activo debería administrarse para alcanzar concentraciones máximas en plasma del compuesto activo de aproximadamente 1 a aproximadamente 75  $\mu$ M, de aproximadamente 2 a 50  $\mu$ M, de aproximadamente 3 a aproximadamente 30  $\mu$ M. Esto puede conseguirse, por ejemplo, mediante la inyección intravenosa de una solución del 0,1 al 5% del ingrediente activo, opcionalmente en suero salino, o administrarse oralmente como un bolo que contiene de aproximadamente 1 a aproximadamente 500 mg del ingrediente activo. Los niveles en sangre deseables pueden mantenerse mediante una infusión continua para proporcionar de aproximadamente 0,01 a aproximadamente 5,0 mg/kg/hora o mediante infusiones intermitentes que contienen de aproximadamente 0,4 a aproximadamente 15 mg/kg del ingrediente activo.

Cuando los compuestos de la presente invención o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos se usan en combinación con un segundo agente terapéutico activo contra el mismo virus la dosis de cada compuesto puede ser la misma o bien diferir de cuando el compuesto se usa en solitario. Las dosis apropiadas serán fáciles de apreciar por los expertos en

la materia.

Aunque es posible que, para su uso en terapia, un compuesto de la invención pueda administrarse como producto químico en bruto resulta preferible presentar el ingrediente activo como una composición farmacéutica.

- 5 La invención proporciona así adicionalmente una composición farmacéutica que comprende compuestos de la presente invención o un derivado farmacéuticamente aceptable de los mismos junto con uno o más soportes farmacéuticamente aceptables de los mismos y, opcionalmente, otros ingredientes terapéuticos y/o profilácticos. El o los soportes deben ser
- 10 "aceptables" en el sentido de ser compatibles con los otros ingredientes de la formulación y no perjudiciales para el receptor de los mismos.

- Las composiciones farmacéuticas incluyen aquellas adecuadas para administración oral, rectal, nasal, tópica (lo que incluye bucal y sublingual), transdérmica, vaginal o parenteral (lo que incluye intramuscular, subcutánea e
- 15 intravenosa) o en una forma adecuada para administración por inhalación o insuflación. Las formulaciones pueden presentarse convenientemente, cuando resulte apropiado, en unidades de dosificación discretas y pueden prepararse mediante cualquiera de los procedimientos bien conocidos en la técnica de farmacia. Todos los procedimientos incluyen la etapa de poner en asociación el
- 20 compuesto activo con soportes líquidos o soportes sólidos finamente divididos o ambos y a continuación, si fuera necesario, modelar el producto en la formulación deseada.

- Las composiciones farmacéuticas adecuadas para administración oral pueden presentarse convenientemente como unidades discretas como
- 25 cápsulas, sellos o comprimidos conteniendo cada uno una cantidad predeterminada del ingrediente activo; en polvo o gránulos; como una solución, una suspensión o una emulsión. El ingrediente activo puede presentarse también como un bolo, electuario o pasta. Los comprimidos y cápsulas para administración oral pueden contener excipientes convencionales como agentes
- 30 aglutinantes, cargas, lubricantes, agentes de desintegración o agentes humectantes. Los comprimidos pueden estar recubiertos según procedimientos bien conocidos en la técnica. Las preparaciones líquidas orales pueden estar en la forma de, por ejemplo, suspensiones acuosas u oleosas, soluciones, emulsiones, jarabes o elixires, o pueden presentarse como un producto seco
- 35 para su constitución con agua u otro vehículo adecuado antes de su uso.

Dichas preparaciones líquidas pueden contener aditivos convencionales como agentes de suspensión, agentes emulsionantes, vehículos no acuosos (que pueden incluir aceites comestibles) o conservantes.

5 Los compuestos según la invención pueden formularse también para administración parenteral (por ejemplo, por inyección, por ejemplo, inyección de bolo o infusión continua) y pueden presentarse en dosis unitaria en ampollas, jeringas precargadas, infusión de pequeño volumen o en envases multidosis con un conservante añadido. Las composiciones pueden adoptar dichas formas como suspensiones, soluciones o emulsiones en vehículos oleosos o acuosos,  
10 y pueden contener agentes de formulación tales como agentes de suspensión, estabilización y/o dispersión. Alternativamente, el ingrediente activo puede estar en forma de polvo, obtenido por aislamiento aséptico de sólido estéril o por liofilización a partir de una solución, para su constitución con un vehículo adecuado, por ejemplo, agua estéril sin pirógenos, antes de su uso.

15 Para administración tópica en la epidermis, los compuestos según la invención pueden formularse como pomadas, cremas o lociones, o como un parche transdérmico. Dichos parches transdérmicos pueden contener potenciadores de la penetración como linalol, carvacrol, timol, citral, mentol y t-anetol. Las pomadas y las cremas pueden estar formuladas, por ejemplo, con  
20 una base acuosa u oleosa con la adición de agentes espesantes y/o de gelificación adecuados. Las lociones pueden estar formuladas con una base acuosa u oleosa y en general contendrán también uno o más agentes emulsionantes, agentes de estabilización, agentes dispersantes, agentes de suspensión, agentes espesantes o agentes colorantes.

25 Las composiciones adecuadas para administración tópica en la boca incluyen tabletas que comprenden ingrediente activo en una base aromatizante, en general sacarosa y acacia o tragacanto; pastillas que comprenden el ingrediente activo en una base inerte como gelatina y glicerina o sacarosa y acacia; y colutorios que comprenden el ingrediente activo en un  
30 soporte líquido adecuado.

Las composiciones farmacéuticas adecuadas para administración rectal en las que el soporte es un sólido se presentan, por ejemplo, como supositorios de dosis unitaria. Los soportes adecuados incluyen manteca de cacao y otros materiales usados comúnmente en la técnica, y los supositorios pueden  
35 formarse convenientemente por mezcla del compuesto activo con el o los

soportes ablandados o fundidos seguidos por enfriamiento y modelado en moldes.

Las composiciones adecuadas para administración vaginal pueden presentarse como óvulos vaginales, tampones, cremas, geles, pastas, espumas o atomizadores que contienen además del ingrediente activo dichos soportes tal como son conocidos en la técnica que resulten apropiados.

Para administración intranasal los compuestos de la invención pueden usarse como un atomizador líquido o un polvo dispersable o en forma de gotas. Las gotas pueden formularse con una base acuosa o no acuosa que comprende también uno o más agentes dispersantes, agentes de solubilización o agentes en suspensión. Los aerosoles líquidos son suministrados convenientemente a partir de envases a presión.

Para administración por inhalación los compuestos según la invención se suministran convenientemente a partir de un insuflador, nebulizador o un envase a presión u otros medios convenientes de suministro de un atomizador de aerosol. Los envases a presión pueden comprender un propelente adecuado como diclorodifluorometano, triclorofluorometano, diclorotetrafluoroetano, dióxido de carbono u otro gas adecuado. En el caso de un atomizador a presión la unidad de dosificación puede determinarse proporcionando una válvula para suministrar una cantidad dosificada.

Alternativamente, para administración por inhalación o insuflación, los compuestos según la invención pueden tomar la forma de una composición en polvo seco, por ejemplo, una mezcla en polvo del compuesto y una base en polvo adecuada como lactosa o almidón. La composición en polvo puede presentarse en forma de dosificación unitaria, por ejemplo, en cápsulas o cartuchos o, por ejemplo, envases de gelatina o envases alveolados a partir de los cuales el polvo puede administrarse con la ayuda de un inhalador o insuflador.

Cuando se desee, pueden emplearse las formulaciones descritas anteriormente adaptadas para proporcionar la liberación sostenida del ingrediente activo.

Los procedimientos de síntesis para obtener compuestos de tiofeno se describen también en las solicitudes de patente WO-02/100.851, US-2004-0.116.509, WO-2004/052.885, US-2005-0.009.804, WO-2004/052.879 y US-2004/0.192.707, cuyas descripciones se incorporan en el presente documento

como referencia.

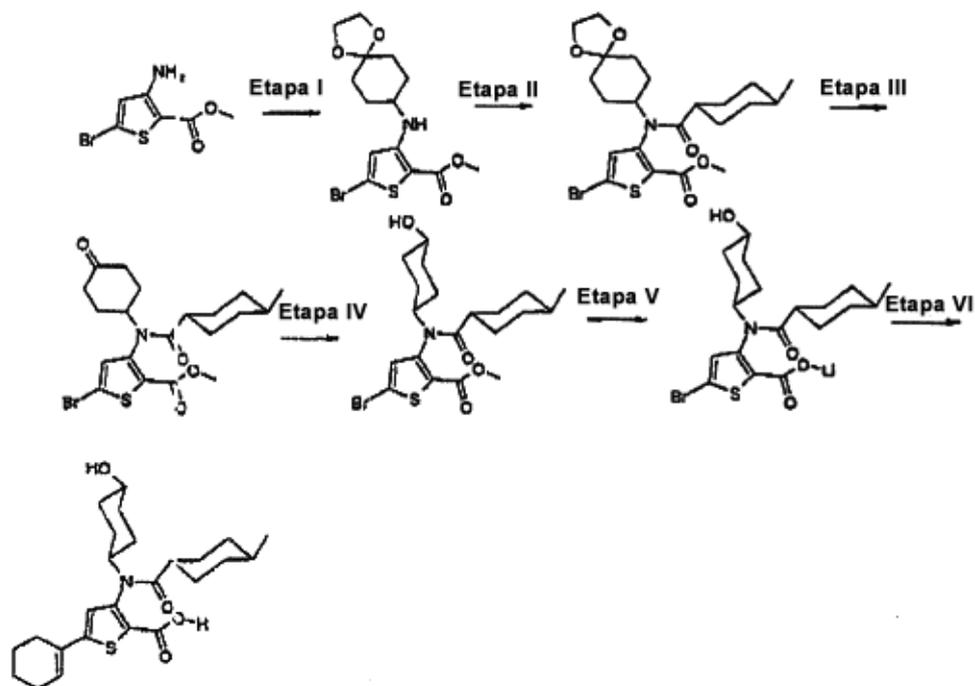
En los ejemplos anteriores y en los siguientes, todas las temperaturas se expresan sin corrección en grados Celsius; y, salvo que se indique lo contrario, todas las partes y porcentajes son en peso.

5	Pueden usarse las siguientes abreviaturas, del modo siguiente:	
	DCC	1,3-diciclohexilcarbodiimida
	DCE	1,2-dicloroetano
	DCM	diclorometano
	DIPEA	<i>N,N</i> -diisopropiletilamina
10	DMF	<i>N,N</i> -dimetilformamida
	Hal	halógeno
	LAH	hidruro de litio y aluminio
	MeOH	Metanol
	TFA	ácido trifluoroacético
15	THF	tetrahidrofurano
	LDA	diisopropilamida de litio

Todas las purificaciones por HPLC se realizaron usando columna C18 de fase inversa empaquetada con partículas de 5  $\mu\text{m}$ . El diámetro de columna fue de 19 mm y la longitud fue de 100 mm. El eluyente era un gradiente apropiado de acetonitrilo y agua con una concentración de HCl 3 mM.

Ejemplo 1 (compuesto no de acuerdo con la invención):

Preparación de ácido 5-ciclohex-1-enil-3-[(trans-4-hidroxi-ciclohexil)-(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-amino]-tiofen-2-carboxílico (compuesto #1)



#### Etapa I

Una suspensión de éster metílico del ácido 3-amino-5-bromo-tiofen-2-carboxílico (17,0 g, 72,0 mmol) en THF en seco (21 ml) se trató con 1,4-ciclohexanodiona monoetilen-cetal (11,3 mg, 72,0 mmol), seguido por dicloruro de dibutilestaño (1,098 gr, 3,6 mmol). Después de 5 min, se añadió fenilsilano (9,74 ml, 79,2 mmol) y se agitó la mezcla de reacción durante toda la noche a temperatura ambiente. Después de concentración, se disolvió el residuo en EtOAc lavado con NaHCO<sub>3</sub> y a continuación con salmuera. Se separó la capa orgánica, se secó sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, se filtró y se concentró. Se diluyó el material en bruto en hexano (500 ml). Después de filtración, se evaporaron las aguas madres hasta sequedad para proporcionar éster metílico del ácido 5-bromo-3-(1,4-dioxa-espiro[4,5]dec-8-ilamino)-tiofen-2-carboxílico (24,79 g, rendimiento del 92%). <sup>1</sup>H RMN (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz): 6,90 (br s, 1H), 6,65 (s, 1H), 3,95 (s, 4H), 3,78 (s, 3H), 3,35 (m, 1H), 2,00 (m, 2H), 1,80 (m, 2H), 1,65 (m, 4H).

#### Etapa II

##### A- Preparación de cloruro del ácido trans-4-metilciclohexil-carboxílico

Se añadió cloruro de oxalilo (2 M en DCM, 117 ml) gota a gota a una suspensión de ácido trans-4-metilciclohexil-carboxílico (16,6 g, 117 mmol) en DCM (33 ml) y DMF (0,1 ml) y se agitó la mezcla de reacción durante 3 h a temperatura ambiente. Se eliminó el DCM a presión reducida y se coevaporó el

residuo con DCM. Se disolvió el residuo en tolueno para preparar una solución 1 M.

#### B- Preparación del compuesto objeto

Se añadió la solución 1 M de cloruro del ácido trans-4-metilciclohexil-  
5 carboxílico a una solución de éster metílico del ácido 5-bromo-3-(1,4-dioxa-  
espiro[4,5]dec-8-ilamino)-tiofen-2-carboxílico (24,79 g, 65 mmol) en tolueno (25  
ml) seguido por piridina (5,78 ml, 71,5 mmol). A continuación se agitó la mezcla  
resultante durante 16 h a reflujo. Se diluyó la mezcla de reacción con tolueno  
(60 ml) y se enfrió a 5°C. Después de la adición de piridina (12 ml) y MeOH (5,6  
10 ml), se agitó la mezcla 2 h a 5°C. Se filtró la suspensión blanca y se añadió el  
tolueno a las aguas madres. Se lavó la fase orgánica con ácido cítrico al 10%,  
NaHCO<sub>3</sub> sat. ac., se secó (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) y se concentró. Se trituró el residuo en  
hexano en ebullición (1.500 ml). La mezcla de reacción se dejó enfriar a  
temperatura ambiente. Se sumergió el matraz de reacción en baño de hielo, y  
15 se agitó durante 30 min; se filtró el sólido blanco, se lavó con hexano en frío  
(225 ml). Se purificó el sólido por cromatografía en columna sobre gel de sílice  
usando EtOAc:hexanos al 20% como eluyente para suministrar el compuesto  
final de éster metílico del ácido 5-bromo-3-[(1,4-dioxa-espiro[4,5]dec-8-il)-  
(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-amino]-tiofen-2-carboxílico (10,5 g, 32%). <sup>1</sup>H  
20 RMN (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz): 6,84 (s, 1H), 4,62 (m, 1H), 3,90-3,82 (m, 4H), 3,80 (s,  
3H), 1,92-1,81 (m, 2H), 1,77-1,11 (m, 14H), 1,79 (d, 3H), 0,77-0,59 (m, 2H).

#### Etapa III

Se disolvió el éster metílico del ácido 5-bromo-3-[(1,4-dioxa-  
espiro[4,5]dec-8-il)-(trans-4-metilciclohexano-carbonil)-amino]-tiofen-2-  
25 carboxílico (8,6 g, 17 mmol) en tetrahidrofurano (100 ml) y se trató con solución  
de HCl 3 N (50 ml). Se agitó la reacción a 40°C durante 3 horas. Se evaporó la  
mezcla de reacción a presión reducida. Se disolvió el residuo en EtOAc y se  
lavó con solución de NaHCO<sub>3</sub> sat. ac. Se separó la capa orgánica, se secó  
sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, se filtró y se concentró para proporcionar éster metílico del  
30 ácido 5-bromo-3-[(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-(4-oxo-ciclohexil)-amino]-  
tiofen-2-carboxílico en forma de un sólido (7,4 g, 95%).

#### Etapa IV

A una solución en frío (0°C) de éster metílico del ácido 5-bromo-3-  
[(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-(4-oxo-ciclohexil)-amino]-tiofen-2-  
35 carboxílico (5,9 g, 12,9 mmol) en 50 ml de MeOH en N<sub>2</sub> positivo se le añadió

NaBH<sub>4</sub> (250 mg, 6,4 mmol, 0,5 eq.) por partes (aprox. 30 minutos). Después de completar la adición, se verifica la terminación de la reacción por TLC Hexano:EtOAc 1:1. Se añadieron 10 ml de HCl al 2% y se agitó durante 15 min. La mezcla de reacción se concentró al vacío hasta sequedad. La mezcla de reacción se recuperó con agua (25 ml) y se extrajo con EtOAc. Se combinaron las fases orgánicas y se secó sobre MgSO<sub>4</sub> y se concentró hasta sequedad. Se purificó el residuo por cromatografía en columna sobre gel de sílice usando EtOAc:hexanos como eluyente para obtener éster metílico del ácido 5-bromo-3-[(trans-4-hidroxi-ciclohexil)-(trans-4-metil-ciclohexano-carbonil)-amino]-tiofen-2-carboxílico (4,5 g, rendimiento del 77%) en forma de un sólido.

#### Etapa V

Se disolvió el éster metílico del ácido 5-bromo-3-[(trans-4-hidroxi-ciclohexil)-(trans-4-metil-ciclohexano-carbonil)-amino]-tiofen-2-carboxílico (3,0 g, 6,68 mmol) en una mezcla 3:2:1 de THF:metanol:H<sub>2</sub>O (50 ml) y se trató con una solución 1 N de LiOH·H<sub>2</sub>O (8,0 ml, 8,0 mmol). Después de 2 horas de agitación a 60°C, se evaporó la mezcla de reacción hasta sequedad y se usó tal cual para la etapa siguiente.

#### Etapa VI

Una solución de 5-bromo-3-[(trans-4-hidroxi-ciclohexil)-(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-amino]-tiofen-2-carboxilato (2,8 g, 6,3 mmol) y ácido ciclohex-1-il-borónico (1,18 g, 9,4 mmol) en una mezcla de DME (40,0 ml) y Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> acuosa 2 M (20,0 ml) se trató con Pd(PPh<sub>3</sub>)<sub>4</sub> (145 mg, 0,126 mmol). Se calentó la reacción a reflujo durante 0,25 h. Se diluyó la mezcla de reacción con acetato de etilo y agua. Se separó la capa de agua, se lavó con EtOAc y se filtró sobre celita. Se acidificó esta solución a pH 4 con solución HCl ac. 1 N. Se filtró el sólido blanco. Se purificó este residuo con cromatografía en columna sobre gel de sílice usando CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>:MeOH como eluyente para proporcionar ácido 5-ciclohex-1-enil-3-[(trans-4-hidroxi-ciclohexil)-(4-trans-metil-ciclohexanocarbonil)-amino]-tiofen-2-carboxílico (2,3 g, 82%) <sup>1</sup>H RMN (CD<sub>3</sub>OD, 400 MHz): δ [ppm] 6,8 (s, 1H), 6,4-6,3 (bs, 1H), 4,45-4,30 (m, 1H), 3,35 (m, 1H), 2,5-2,30 (m, 2H), 2,30-2,15 (m, 2H), 2,15-2,0 (m, 1H), 1,98-1,42 (m, 14H), 1,42-1,20 (m, 5H), 1,1-0,9 (m, 1H), 0,8 (d, J=6,5 Hz, 3H), 0,65-0,48 (m, 2H).

Usando esencialmente el mismo procedimiento descrito anteriormente pueden prepararse los siguientes compuestos:

Ácido 5-ciclohex-1-enil-3-[isopropil-(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-

amino]-tiofen-2-carboxílico (compuesto#7)

Ácido 5-ciclohex-1-enil-3-[(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-(4-oxo-ciclohexil)-amino]-tiofen-2-carboxílico (compuesto#8)

5 Ácido 5-ciclohex-1-enil-3-[(2,4-dicloro-benzoil)-isopropil-amino]-tiofen-2-carboxílico (compuesto #15)

Ácido 5-ciclohex-1-enil-3-[(4-hidroxi-ciclohexil)-(4-metil-ciclohexanocarbonil)-amino]-tiofen-2-carboxílico (compuesto #16)

Ácido 5-ciclohex-1-enil-3-[(2,4-diclorobenzoil)-isopropil-amino]-tiofen-2-carboxílico (compuesto#31)

10 Ácido 5-bromo-3-[(trans-4-hidroxi-ciclohexil)-(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-amino]-tiofen-2-carboxílico (compuesto #144)

Ácido 5-ciclohex-1-enil-3-[metil-(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-amino]-tiofen-2-carboxílico (compuesto #37)

15 Ácido 5-ciclohex-1-enil-3-[(4,4-dimetil-ciclohexil)-(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-amino]-tiofen-2-carboxílico (compuesto #38)

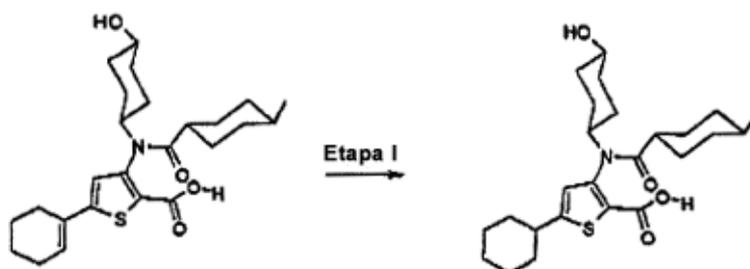
Ácido 5-ciclohex-1-enil-3-[(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-(3-metilciclohexil)-amino]-tiofen-2-carboxílico (compuesto #39)

Ácido 5-(4,4-dimetil-ciclohex-1-enil)-3-[(trans-4-hidroxi-ciclohexil)-(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-amino]-tiofen-2-carboxílico (compuesto #35)

20 Ácido 3-[Isopropil-(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-amino]-5-(4-metil-ciclohex-1-enil)-tiofen-2-carboxílico (compuesto #43)

Ejemplo 2 (compuesto no de acuerdo con la invención):

25 Preparación de ácido 5-ciclohexil-3-[(trans-4-hidroxi-ciclohexil)-(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-amino]-tiofen-2-carboxílico (compuesto#2)



Etapa I

A una solución de ácido 5-ciclohex-1-enil-3-[(trans-4-hidroxi-ciclohexil)-

(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-amino]-tiofen-2-carboxílico (22 mg, 0,05 mmol) en MeOH en seco (1 ml) se le añadió paladio sobre carbón al 10% (3 mg). La mezcla de reacción resultante se colocó en atmósfera de H<sub>2</sub>, se agitó a temperatura ambiente durante 16 h, y a continuación se filtró sobre celita y se evaporó hasta sequedad. El producto en bruto se purificó por cromatografía flash usando CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>:MeOH hexanos como eluyente para proporcionar ácido 5-ciclohexil-3-[(trans-4-hidroxi-ciclohexil)-(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-amino]-tiofen-2-carboxílico (7 mg, 32%).

Usando esencialmente el mismo procedimiento descrito anteriormente pueden prepararse los siguientes compuestos:

Ácido 5-(4,4-dimetil-ciclohexil)-3-[(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-(1-metil-piperidin-4-il)-amino]-tiofen-2-carboxílico (compuesto #93)

Ácido 5-(4,4-dimetil-ciclohexil)-3-[(trans-4-metoximetoxi-ciclohexil)-(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-amino]-tiofen-2-carboxílico (compuesto #116)

Ácido 5-(*cis/trans*-4-hidroxi-ciclohexil)-3-[(trans-4-hidroxi-ciclohexil)-(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-amino]-tiofen-2-carboxílico (compuesto #85)

Ácido 3-[(trans-4-hidroxi-ciclohexil)-(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-amino]-5-(4-oxo-ciclohexil)-tiofen-2-carboxílico (compuesto #86)

Ácido 5-cicloheptil-3-[(trans-4-hidroxi-ciclohexil)-(trans-4-metilciclohexanocarbonil)-amino]-tiofen-2-carboxílico (compuesto #6)

Ácido 5-(4,4-dimetil-ciclohexil)-3-[(trans-4-metoxi-ciclohexil)-(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-amino]-tiofen-2-carboxílico (compuesto #21)

Ácido 5-ciclohexil-3-[(trans-4-metoxi-ciclohexil)-(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-amino]-tiofen-2-carboxílico (compuesto #112)

Ácido 5-(*cis/trans*-4-fluoro-ciclohexil)-3-[(trans-4-metoxi-ciclohexil)-(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-amino]-tiofen-2-carboxílico (compuesto #137)

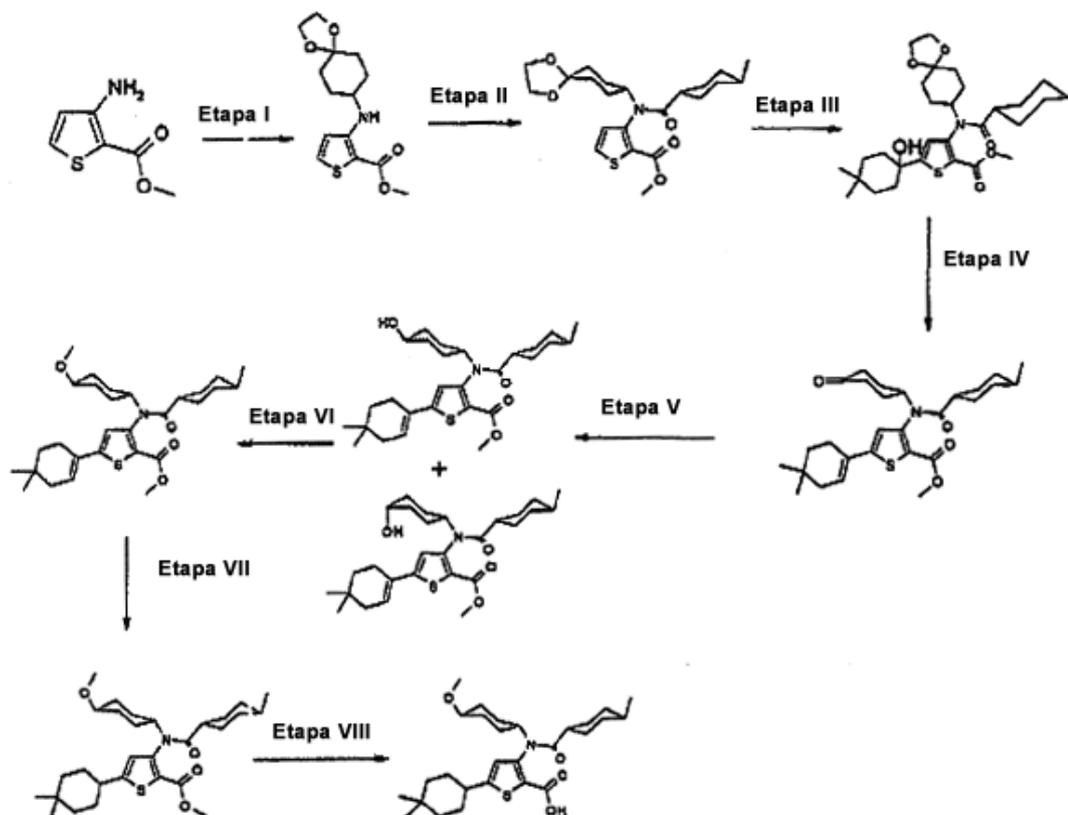
Ácido 5-(4,4-dimetil-ciclohexil)-3-[(trans-4-hidroxi-ciclohexil)-(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-amino]-tiofen-2-carboxílico (compuesto #64)

Ácido 3-[(trans-4-hidroxi-ciclohexil)-(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-amino]-5-(trans-4-metil-ciclohexil)-tiofen-2-carboxílico (compuesto #77)

Ácido 3-[(trans-4-hidroxi-ciclohexil)-(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-amino]-5-(*cis*-4-metil-ciclohexil)-tiofen-2-carboxílico (compuesto #78)

Ejemplo 3 (compuesto no de acuerdo con la invención):

Preparación de ácido 5-(4,4-dimetilciclohexil)-3-[(trans-4-metoxi-ciclohexil)-

(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-amino]-tiofen-2-carboxílico (compuesto #21)

## Etapa I:

- 5 Una suspensión de éster metílico del ácido 3-amino-tiofen-2-carboxílico (5,0 g, 31,85 mmol) en THF en seco (9 ml) se trató con 1,4-ciclohexanodiona monoetilen-cetal (5,0 g, 32,05 mmol), seguido por dicloruro de dibutilestaño (482 mg, 1,59 mmol). Después de 5 min, se añadió fenilsilano (4,3 ml, 34,96 mmol) y se agitó la mezcla de reacción durante toda la noche a temperatura ambiente. Después de concentración, se disolvió el residuo en EtOAc, y se lavó con NaHCO<sub>3</sub> seguido por salmuera. Se separó la capa orgánica, se secó (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>), se filtró y se concentró. Se purificó el residuo por cromatografía en columna usando acetato de etilo al 30% en hexano como eluyente para proporcionar éster metílico del ácido 3-(1,4-dioxa-espiro[4,5]dec-8-ilamino)-tiofen-2-carboxílico (4,5 g, rendimiento del 47%).
- 10
- 15

## Etapa II:

A- Preparación de cloruro del ácido trans-4-metilciclohexil-carboxílico:

Se añadió cloruro de oxalilo (2 M en diclorometano, 17 ml) gota a gota a

una suspensión de ácido *trans*-4-metilciclohexil-carboxílico (2,3 g, 16,2 mmol) en diclorometano (5 ml) y DMF (0,1 ml). Se agitó la mezcla de reacción durante 3 h a temperatura ambiente. Se eliminaron las sustancias volátiles a presión reducida para obtener el cloruro ácido en bruto que se usó directamente para la

5 siguiente reacción.

B- Se añadió cloruro del ácido *trans*-4-metilciclohexil-carboxílico a una solución de éster metílico del ácido 3-(1,4-dioxa-espiro[4,5]dec-8-ilamino)-tiofen-2-carboxílico (2,4 g, 8,08 mmol) en tolueno (18 ml) seguido por piridina (0,7 ml). A continuación se agitó la mezcla resultante durante 16 h a reflujo. Se

10 diluyó la mezcla de reacción con tolueno (7 ml) y se enfrió a 5°C. Después de la adición de piridina (1,5 ml) y MeOH (0,8 ml), se agitó la mezcla 2 h a 5°C. Se filtró el sólido blanco y se lavó con tolueno. Se lavó el filtrado con ácido cítrico al 10%, NaHCO<sub>3</sub> ac., se secó (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) y se concentró. Se purificó el sólido por

15 cromatografía en columna sobre gel de sílice usando EtOAc:hexano al 20% como eluyente para obtener éster metílico del ácido 3-[(1,4-dioxa-espiro[4,5]dec-8-il)-(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-amino]-tiofen-2-carboxílico (2,3 g, 68%).

Etapa III:

Se añadió diisopropilamina (5,75 g, 56,8 mmol) y THF en seco (58 ml) a

20 un matraz de base redonda y 3 bocas de 500 ml en seco bajo nitrógeno. Se enfrió la mezcla a -40°C y se añadió lentamente nBuLi (39 ml, 47,4 mmol) mientras la temperatura interna se mantenía a -40°C. Después de 15 min, se añadió una suspensión de éster metílico del ácido 3-[(1,4-dioxa-espiro[4,5]dec-8-il)-(trans-4-metil-ciclohexanocarbo-nil)-amino]-tiofen-2-carboxílico (10,0 g,

25 23,7 mmol) en THF (70 ml) gota a gota mientras se mantenía la temperatura interna a -40°C. Después de 30 min a -40°C, se añadió 4,4-dimetil-ciclohexanona (5,88 g, 47,7 mmol) se añadió en una parte y se agitó a -40°C durante 30 min. Se inactivó la mezcla de reacción con NH<sub>4</sub>Cl saturado, se repartió y se extrajo la fase acuosa con EtOAc. Se lavó la fase orgánica

30 combinada con salmuera, se secó sobre MgSO<sub>4</sub>, se filtró y se evaporó para obtener éster metílico del ácido 3-[(1,4-dioxa-espiro[4,5]dec-8-il)-(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-amino]-5-(1-hidroxi-4,4-dimetil-ciclohexil)-tiofen-2-carboxílico (14,4 g) en bruto que se usó para la etapa siguiente sin ninguna purificación.

35

## Etapa IV:

A una solución de éster metílico del ácido 3-[(1,4-dioxa-espiro[4,5]dec-8-il)-(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-amino]-5-(1-hidroxi-4,4-dimetil-ciclohexil)-tiofen-2-carboxílico (14,4 g, etapa anterior) en tolueno en seco (50 ml) a temperatura ambiente se añadió ácido trifluoroacético (50 ml). Se agitó la mezcla de reacción durante 90 min. Se añadió agua (7,28 g, 71,1 mmol) a la mezcla y se agitó durante 90 min. Se evaporó la mezcla de reacción hasta sequedad, se extrajo con EtOAc y se lavó con NaHCO<sub>3</sub> saturado y salmuera. Se secó la fase orgánica sobre MgSO<sub>4</sub>, se filtró y se evaporó para obtener éster metílico del ácido 5-(4,4-dimetil-ciclohex-1-enil)-3-[(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-(4-oxo-ciclohexil)-amino]-tiofen-2-carboxílico en bruto (13,3 g) que se usó para la etapa siguiente sin ninguna purificación.

## Etapa V:

A una solución de éster metílico del ácido 5-(4,4-dimetil-ciclohex-1-enil)-3-[(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-(4-oxo-ciclohexil)-amino]-tiofen-2-carboxílico (13,3 g, reacción anterior) en 195 ml de MeOH a 0°C se añadió NaBH<sub>4</sub> (450 mg, 11,9 mmol) por partes. Se agitó la mezcla de reacción durante 1 hora a 0°C. Después de terminación de la reacción, se añadió lentamente HCl (1 N). Se evaporó la mezcla hasta sequedad y se repartió el residuo en EtOAc y agua. Se extrajo la fase acuosa (3x) y se lavó la fase orgánica combinada con salmuera, se secó sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> y se evaporó hasta sequedad. Se purificó el residuo por cromatografía en columna sobre gel de sílice usando EtOAc:hexano (30:70) como eluyente para obtener éster metílico del ácido 5-(4,4-dimetil-ciclohex-1-enil)-3-[(trans-4-hidroxi-ciclohexil)-(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-amino]-tiofen-2-carboxílico (5.155 mg) en forma de un sólido y éster metílico del ácido 5-(4,4-dimetil-ciclohex-1-enil)-3-[(cis-4-hidroxi-ciclohexil)-(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-amino]-tiofen-2-carboxílico (789 mg) en forma de un sólido. El rendimiento global para las etapas III, IV y V fue del 51%.

## Etapa VI:

A una solución de éster metílico del ácido 5-(4,4-dimetil-ciclohex-1-enil)-3-[(trans-4-hidroxiciclohexil)-(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-amino]-tiofen-2-carboxílico (2,0 g, 4,1 mmol) y yoduro de metilo (7,6 ml, 123 mmol) en DMF en seco (20 ml) a 0°C se le añadió NaH (suspensión al 60% en aceite, 328 mg, 8,2 mmol) por partes. Se agitó la mezcla de reacción durante 90 min a 0°C bajo

nitrógeno. Se inactivó la mezcla de reacción por adición de HCl (2 N) acuoso. Después de extracción con EtOAc, se lavó la fracción orgánica con agua, se secó sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> y se concentró a presión reducida. Se purificó el residuo por cromatografía en columna sobre gel de sílice usando hexano-EtOAc  
 5 (80:20) como eluyente para producir el éster metílico del ácido 5-(4,4-dimetilciclohex-1-enil)-3-[(*trans*-4-metoxi-ciclohexil)-(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)amino]-tiofen-2-carboxílico 950 mg (46%) en forma de un sólido.

Etapa VII:

10 A una solución de éster metílico del ácido 5-(4,4-dimetilciclohex-1-enil)-3-[(*trans*-4-metoxi-ciclohexil)-(4-trans-metil-ciclohexanocarbonil)-amino]-tiofen-2-carboxílico (950 mg, 1,89 mmol) en metanol (25 ml) se le añadió paladio sobre carbón al 10% (100 mg). La mezcla de reacción resultante se colocó en atmósfera de H<sub>2</sub>, se agitó a temperatura ambiente durante 20 h, y a  
 15 continuación se filtró a través de un lecho de celita. Se concentró el filtrado y a continuación se evaporó hasta sequedad para proporcionar éster metílico del ácido 5-(4,4-dimetilciclohexil)-3-[(*trans*-4-metoxi-ciclohexil)-(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-amino]-tiofen-2-carboxílico (890 mg, 93%) que se usó para la etapa siguiente sin ninguna purificación.

20 Etapa VIII:

Se disolvió éster metílico del ácido 5-(4,4-dimetilciclohexil)-3-[(*trans*-4-metoxi-ciclohexil)-(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-amino]-tiofen-2-carboxílico (890 mg, 1,76 mmol) en una mezcla 3:2:1 de THF:metano:H<sub>2</sub>O (50 ml) y se trató con una solución 1 N de LiOH·H<sub>2</sub>O (5,29 ml, 5,29 mmol).  
 25 Después de agitar durante 2 h a 60°C, se evaporó la mezcla de reacción hasta sequedad y se suspendió en agua. Se acidificó la mezcla de reacción a pH 3. Después de extracción con EtOAc, se lavó la fracción orgánica con agua, se secó sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> y se concentró a presión reducida. Se purificó el residuo por cromatografía en columna sobre gel de sílice usando CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>:MeOH (90:10)  
 30 como eluyente para producir el ácido 5-(4,4-dimetil-ciclohexil)-3-[(*trans*-4-metoxi-ciclohexil)-(trans-4-metilciclohexano-carbonil)-amino]-tiofen-2-carboxílico (535 mg, 58%) en forma de un sólido.

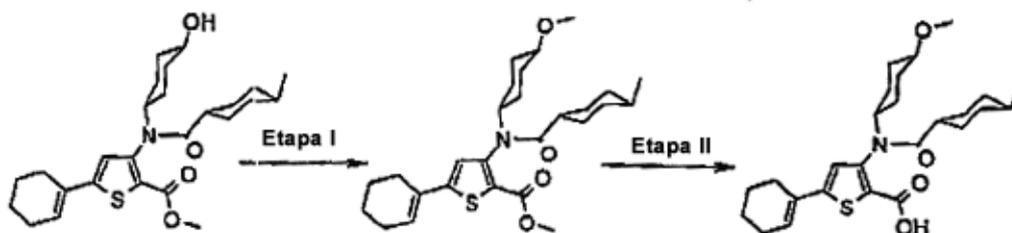
Usando esencialmente el mismo procedimiento descrito anteriormente y sustituyendo diferentes cetonas pueden prepararse los siguientes compuestos:

35 Ácido 5-(4,4-dimetil-ciclohexil)-3-[(*cis*-4-metoxi-ciclohexil)-(trans-4-metil-

- ciclohexanocarbonil)-amino]-tiofen-2-carboxílico (compuesto #17)  
 Ácido RS-3-[(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-(4-oxo-ciclohexil)-  
 amino]-5-(2-metil-ciclohex-2-enil)-tiofen-2-carboxílico (compuesto #58)  
 Ácido RS-3-[(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-(4-oxo-ciclohexil)-  
 5 amino]-5-(6-metil-ciclohex-1-enil)-tiofen-2-carboxílico (compuesto #59)  
 Ácido RS-3-[(trans-4-hidroxi-ciclohexil)-(trans-4-metil-  
 ciclohexanocarbonil)-amino]-5-(6-metil-ciclohex-1-enil)-tiofen-2-carboxílico  
 (compuesto #60)  
 Ácido RS-3-[(trans-4-hidroxi-ciclohexil)-(trans-4-metil-  
 10 ciclohexanocarbonil)-amino]-5-(5-metil-ciclohex-1-enil)-tiofen-2-carboxílico  
 (compuesto #61)  
 Ácido 5-(5,5-dimetil-ciclohex-1-enil)-3-[(trans-4-metoxi-ciclohexil)-(trans-  
 4-metil-ciclohexanocarbonil)-amino]-tiofen-2-carboxílico (compuesto #138)  
 Ácido 5-biciclo[2,2,1]hept-2-en-2-il-3-[(trans-4-hidroxi-ciclohexil)-(trans-4-  
 15 metil-ciclohexanocarbonil)-amino]-tiofen-2-carboxílico (compuesto #28)  
 Ácido 5-(4,4-dimetil-ciclohex-1-enil)-3-[(trans-4-metoxi-ciclohexil)-(trans-  
 4-metil-ciclohexanocarbonil)-amino]-tiofen-2-carboxílico (compuesto #20)  
 Ácido 5-ciclohex-1-enil-3-[(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-(4-oxo-  
 ciclohexil)-amino]-tiofen-2-carboxílico (compuesto #8)  
 20 Ácido 3-[(trans-4-metoxi-ciclohexil)-(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-  
 amino]-5-(4-trifluorometil-ciclohexil)-tiofen-2-carboxílico (compuesto #108)  
 Ácido 3-[(trans-4-metoxi-ciclohexil)-(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-  
 amino]-5-(4-trifluorometil-ciclohex-1-enil)-tiofen-2-carboxílico (compuesto #124)

25 Ejemplo 4:

Preparación de ácido 5-ciclohex-1-enil-3-[(trans-4-metoxi-ciclohexil)-(trans-4-  
 metil-ciclohexanocarbonil)-amino]-tiofen-2-carboxílico (compuesto# 12)



## Etapa I:

A una solución de éster metílico del ácido 5-ciclohex-1-enil-3-[(*trans*-4-hidroxi-ciclohexil)-(*trans*-4-metil-ciclohexanocarbonil)-amino]-tiofen-2-carboxílico (1,007 g, 2,19 mmol) en DMF en seco se añadió yodometano (4,10 ml, 65,7 mmol), se enfrió la mezcla a 0°C, y se añadió NaH (suspensión al 60% en aceite, 175 mg, 4,38 mmol) en partes durante 5 min. Se agitó la mezcla a 0°C durante 1 h 40 min, y se inactivó por adición de agua y se acidificó con HCl 2 N. Se diluyó la mezcla con CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> y se lavó con salmuera. Se separó la fracción orgánica, se secó sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, se concentró a presión reducida. Se purificó el residuo por cromatografía en columna sobre gel de sílice eluyendo con acetato de etilo al 0→50% en hexano para proporcionar éster metílico del ácido 5-ciclohex-1-enil-3-[(*trans*-4-metoxi-ciclohexil)-(*trans*-4-metil-ciclohexanocarbonil)-amino]-tiofen-2-carboxílico (857 mg, 83%). <sup>1</sup>H RMN (DMSO-d<sub>6</sub>, 400 MHz): δ [ppm] 13,1-13,0 (bs, 1H), 6,96 (s, 1H), 6,41 (s, 1H), 4,31-4,24 (m, 1H), 3,12 (s, 3H), 2,90-2,84 (m, 1H), 2,42-2,20 (m, 2H), 2,15 (m, 2H), 1,98-1,78 (m, 4H), 1,68-1,64 (m, 2H), 1,58-1,35 (m, 8H), 1,21-1,02 (m, 5H), 0,87-0,77 (m, 1H), 0,72 (d, J=6,5 Hz, 3H), 0,63-0,46 (m, 2H).

## Etapa II:

El éster metílico de la Etapa I se hidrolizó tal como se describe anteriormente (ejemplo 3, etapa VIII) para proporcionar ácido 5-ciclohex-1-enil-3-[(*trans*-4-metoxi-ciclohexil)-(*trans*-4-metil-ciclohexanocarbonil)-amino]-tiofen-2-carboxílico en forma de un sólido.

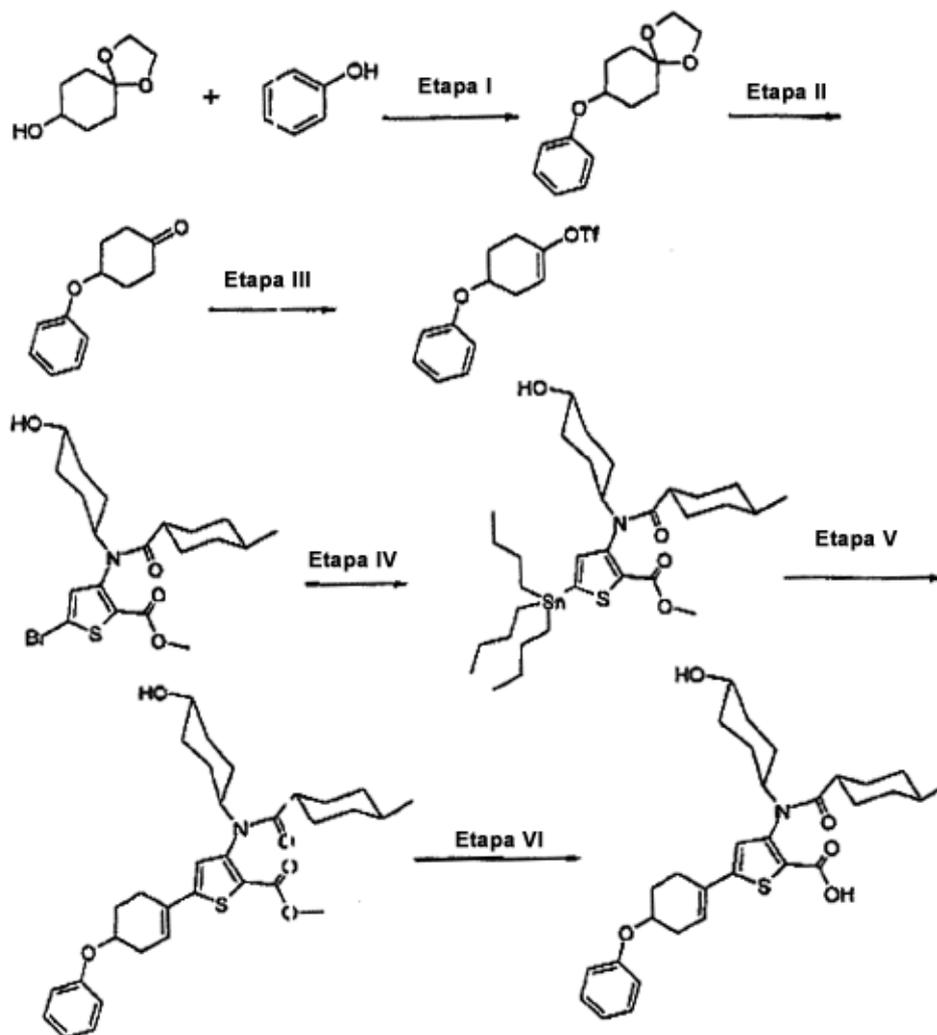
Usando esencialmente el mismo procedimiento descrito anteriormente pueden prepararse los siguientes compuestos:

Ácido 5-ciclohex-1-enil-3-[(4-metoxi-ciclohexil)-(4-metil-ciclohexanocarbonil)-amino]-tiofen-2-carboxílico (compuesto #23)

Ácido 3-[(*trans*-4-metoxi-ciclohexil)-(*trans*-4-metil-ciclohexanocarbonil)-amino]-tiofen-2-carboxílico (compuesto #145)

Ejemplo 5 (compuesto no de acuerdo con la invención)

Ácido 3-[(*trans*-4-hidroxi-ciclohexil)-(*trans*-4-metil-ciclohexanocarbonil)-amino]-5-(4-fenoxi-ciclohex-1-enil)-tiofen-2-carboxílico (compuesto #33)



#### Etapa I:

A una solución de 1,4-dioxa-espiro[4,5]decan-8-ol (1,85 mg, 11,70 mmol), fenol (1,0 g, 10,64 mmol), PPh<sub>3</sub> (3,07 g, 11,70 mmol) en 15 ml de THF a 0°C se añadió azodicarboxilato de diisopropilo (6 ml, 11,70 mmol, 40% en tolueno). Se agitó la mezcla de reacción a temperatura ambiente durante 48 h. Se eliminó el exceso de THF en evaporador rotatorio y se purificó el residuo por cromatografía en columna sobre gel de sílice usando acetato de etilo y hexano (1:19) para obtener 8-fenoxi-1,4-dioxa-espiro[4,5]decano (1,3 g, 52%) en forma de un sólido.

#### Etapa II:

A una solución de compuesto 8-fenoxi-1,4-dioxa-espiro[4,5]decano (2,0 g, 8,55 mmol) en THF (12 ml), se añadió HCl 3 N (acuoso, 12 ml) y se agitó la

mezcla de reacción a 50°C durante 3 h. Se eliminó el exceso de THF en evaporador rotatorio y se repartió la mezcla de reacción en bruto entre agua y acetato de etilo. Se separó la capa orgánica, se secó (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) y se concentró. Se purificó el residuo por cromatografía en columna sobre gel de sílice usando acetato de etilo y hexano (1:4) para obtener 4-fenoxi-ciclohexanona (900 mg, 56%) en forma de un sólido blanco.

Etapa III:

A una solución de 4-fenoxi-ciclohexanona (100 mg, 0,53 mmol) en THF (2 ml) enfriada a -78°C se le añadió hexametildisilazano de litio (0,6 ml, 0,58 mmol, 1 M en THF) y se agitó la solución resultante durante 2 h. Se añadió N-fenil-bis(trifluoro-metanosulfonamida) (282 mg, 0,79 mmol) y se dejó que la mezcla de reacción se calentara a temperatura ambiente. Se prosiguió con la agitación durante toda la noche y se eliminó el disolvente y se purificó el residuo por cromatografía en columna usando acetato de etilo y hexano (1:4) para obtener éster 4-fenoxi-ciclohex-1-enílico de ácido trifluoro-metanosulfónico (120 mg, 71%) en forma de jarabe.

Etapa IV:

A una solución agitada de éster metílico del ácido 5-bromo-3-[(trans-4-hidroxi-ciclohexil)-(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-amino]-tiofen-2-carboxílico (500 mg, 1,09 mmol) en tolueno (5 ml) se le añadió (PPh<sub>3</sub>)<sub>4</sub>Pd (164 mg, 0,13 mmol) y 1,1,1,2,2,2-hexabutil-diestannano (1,09 ml, 2,18 mmol) bajo nitrógeno. Se agitó la mezcla de reacción y se calentó a 110°C durante 8 h. Se vigiló el progreso de la reacción por TLC. La filtración y eliminación del disolvente a presión reducida en un evaporador rotatorio seguido por purificación cromatográfica en columna flash usando EtOAc y hexano (1:1), produjo éster metílico del ácido 3-[(trans-4-hidroxiciclohexil)-(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-amino]-5-tributilstannanil-tiofen-2-carboxílico (150 mg, 21%) en forma de jarabe.

Etapa V:

A una solución agitada de éster metílico del ácido 3-[(trans-4-hidroxi-ciclohexil)-(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-amino]-5-tributilstannanil-tiofen-2-carboxílico (150 mg, 0,23 mmol) en tolueno (5 ml) se le añadió (PPh<sub>3</sub>)<sub>4</sub>Pd (26 mg), CuBr (2 mg, catalítico) y éster 4-fenoxi-ciclohex-1-enílico de ácido trifluoro-metanosulfónico (87 mg, 0,27 mmol) bajo nitrógeno. Se agitó la mezcla de reacción y se calentó a reflujo durante 5 h. Se vigiló el progreso de la reacción

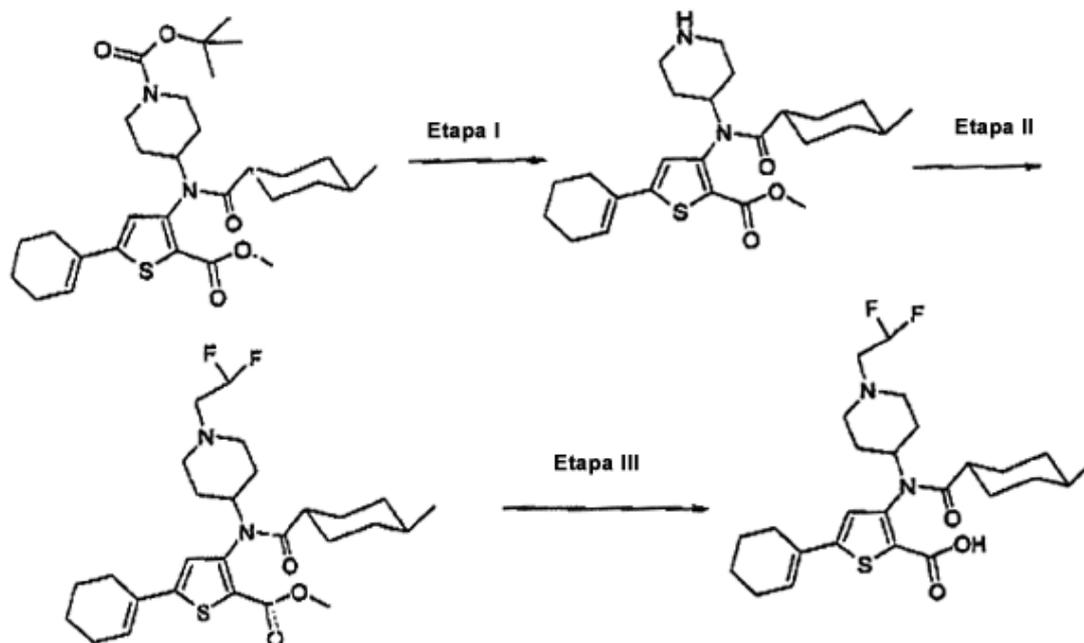
por TLC. La filtración y eliminación del disolvente a presión reducida en un evaporador rotatorio seguido por cromatografía en columna sobre gel de sílice usando acetato de etilo y hexano (4:1) produjo éster metílico del ácido 3-  
5 [(trans-4-hidroxi-ciclohexil)-(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-amino]-5-(4-fenoxi-ciclohex-1-enil)-tiofen-2-carboxílico (30 mg, 24%) en forma de jarabe.

Etapa VI:

A una solución agitada de éster metílico del ácido 3-[(trans-4-hidroxi-ciclohexil)-(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-amino]-5-(4-fenoxi-ciclohex-1-enil)-tiofen-2-carboxílico (30 mg, 0,05 mmol) en THF:H<sub>2</sub>O:MeOH (3:1:2) (2 ml),  
10 se le añadió LiOH en agua (1 N) (0,2 ml, 0,2 mmol). Se agitó la mezcla de reacción a 70°C durante 4 h. Se concentró la mezcla de reacción a presión reducida en un evaporador rotatorio. Se repartió la mezcla entre acetato de etilo y agua. Se acidificó la capa acuosa usando HCl 0,1 N. Se separó la capa de EtOAc y se secó sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. La filtración y eliminación del disolvente a  
15 presión reducida en un evaporador rotatorio seguido por purificación por HPLC produjo ácido 3-[(trans-4-hidroxiciclohexil)-(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-amino]-5-(4-fenoxi-ciclohex-1-enil)-tiofen-2-carboxílico (3 mg, 10%) en forma de espuma.

20 Ejemplo 6 (compuesto no de acuerdo con la invención)

Ácido 5-ciclohex-1-enil-3[[1-(2,2-difluoro-etil)-piperidin-4-il]-(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-amino]-tiofen-2-carboxílico (compuesto #92)



#### Etapa I:

Una solución de éster terc-butílico del ácido 4-[(5-ciclohex-1-enil-2-metoxicarbonil-tiofen-3-il)-(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-amino]-piperidin-1-carboxílico (2,3 g, 4,22 mmol) en diclorometano (15 ml) y ácido trifluoroacético (15 ml) se agitó a temperatura ambiente en atmósfera de N<sub>2</sub> durante 4 h. Se eliminaron los disolventes a presión reducida y se repartió el residuo entre acetato de etilo y NaHCO<sub>3</sub> saturado. Se separó la capa orgánica, se secó (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) y se concentró. Se purificó el residuo por cromatografía en columna sobre gel de sílice usando metanol, cloroformo y trietilamina (10:89:1) como eluyente para obtener éster metílico del ácido 5-ciclohex-1-enil-3-[(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-piperidin-4-il-amino]-tiofen-2-carboxílico (1,5 g, 80%) en forma de un sólido.

#### Etapa II:

A una solución de éster metílico del ácido 5-ciclohex-1-enil-3-[(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-piperidin-4-il-amino]-tiofen-2-carboxílico (100 mg, 0,23 mmol) y 2-yodo-1,1-difluoroetano (53 mg, 0,45 mmol) en DMF (2 ml) se le añadió NaH (18 mg, 0,45 mmol, 60%) a 0°C en atmósfera de N<sub>2</sub>. Se agitó la mezcla de reacción a 60°C durante 7 h. Se inactivó el exceso de NaH añadiendo agua y se repartió la mezcla entre agua y acetato de etilo. Se

separó la capa orgánica, se secó ( $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ) y se concentró. Se purificó el residuo por HPLC para obtener éster metílico del ácido 5-ciclohex-1-enil-3-[[1-(2,2-difluoro-etil)-piperidin-4-il]-(trans-4-metilciclohexanocarbonil)amino]-tiofen-2-carboxílico (43 mg, 38%) en forma de un sólido blanco.

5 Etapa III:

A una solución agitada de éster metílico del ácido 5-ciclohex-1-enil-3-[[1-(2,2-difluoro-etil)-piperidin-4-il]-(trans-4-metilciclohexanocarbonil)amino]-tiofen-2-carboxílico (40 mg, 0,08 mmol) en THF:H<sub>2</sub>O:MeOH (3:1:2) (1 ml), se le añadió LiOH en agua (1 N) (0,16 ml, 0,16 mmol). Se agitó la mezcla de  
10 reacción a 70°C durante 5 h. Se concentró la mezcla a presión reducida en un evaporador rotatorio y se trató el residuo con una solución de HCl 0,1 N y se extrajo en EtOAc. Se secó la capa de EtOAc sobre  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ . La filtración y eliminación del disolvente a presión reducida en un evaporador rotatorio  
15 seguido por purificación por HPLC produjo ácido 5-ciclohex-1-enil-3-[[1-(2,2-difluoro-etil)-piperidin-4-il]-(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-amino]-tiofen-2-carboxílico (9,0 mg, 39%) en forma de espuma.

Análogamente, se sintetizó.

Ácido 5-(ciclohex-1-enil-3-[[1-(2-fluoro-etil)-piperidin-4-il]-(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-amino]-tiofen-2-carboxílico (compuesto #139)

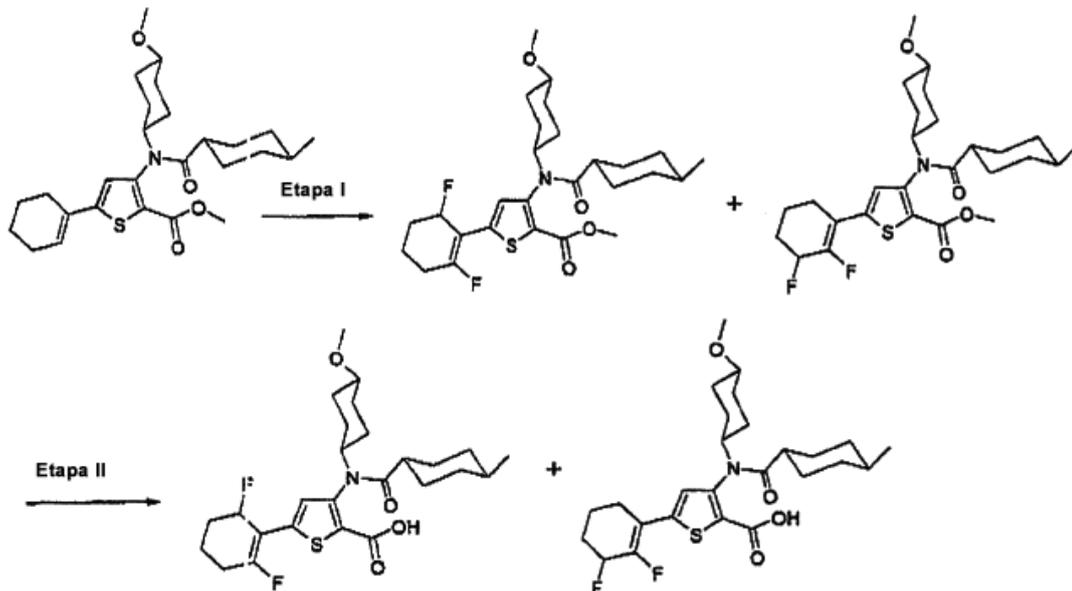
20

Ejemplo 7 (compuesto no de acuerdo con la invención)

Ácido 5-(2,6-difluoro-ciclohex-1-enil)-3-[(trans-4-metoxi-ciclohexil)-(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-amino]-tiofen-2-carboxílico (compuesto #119) y

ácido 5-(2,3-difluoro-ciclohex-1-enil)-3-[(trans-4-metoxi-ciclohexil)-(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-amino]-tiofen-2-carboxílico (compuesto #120)

25



#### Etapa I:

A una solución de éster metílico del ácido 5-ciclohex-1-enil-3-[(trans-4-metoxi-ciclohexil)-(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-amino]-tiofen-2-carboxílico (100 mg, 0,21 mmol) en acetonitrilo (2 ml) se añadió el reactivo de fluoración Selectfluor™ y se agitó la mezcla de reacción a temperatura ambiente durante 12 h. Se eliminó el disolvente y se purificó el residuo por cromatografía en columna sobre gel de sílice usando acetato de etilo y hexano (1:1) para obtener éster metílico del ácido 5-(2,6-difluoro-ciclohex-1-enil)-3-[(trans-4-metoxi-ciclohexil)-(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-amino]-tiofen-2-carboxílico y éster metílico del ácido 5-(2,3-difluoro-ciclohex-1-enil)-3-[(trans-4-metoxi-ciclohexil)-(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-amino]-tiofen-2-carboxílico como una mezcla (83 mg, 78%) en forma de jarabe.

#### Etapa II:

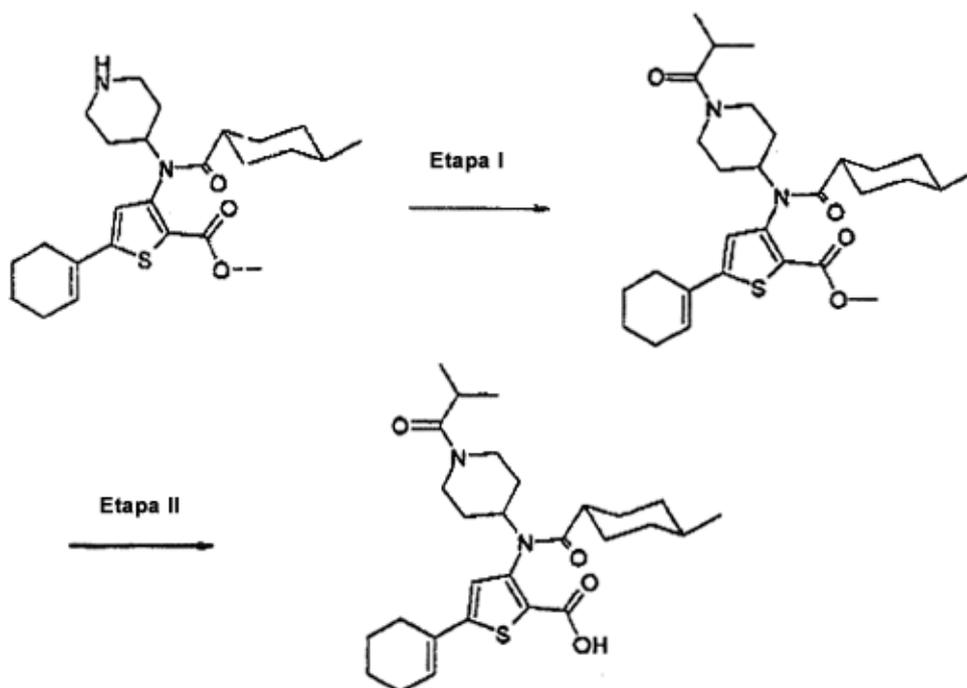
A una solución de éster metílico del ácido 5-(2,6-difluoro-ciclohex-1-enil)-3-[(trans-4-metoxi-ciclohexil)-(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-amino]-tiofen-2-carboxílico y éster metílico del ácido 5-(2,3-difluoro-ciclohex-1-enil)-3-[(trans-4-metoxi-ciclohexil)-(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-amino]-tiofen-2-carboxílico (83 mg, 0,16 mmol) en THF:H<sub>2</sub>O:MeOH (3:1:2) (2 ml), se le añadió LiOH en agua (1 N) (0,5 ml, 0,5 mmol). Se agitó la mezcla de reacción a 70°C durante 5 h. Se concentró la mezcla a presión reducida en un evaporador rotatorio y se trató el residuo con una solución de HCl 0,1 N y se extrajo en

EtOAc. Se secó la capa EtOAc sobre  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ . La filtración y eliminación del disolvente a presión reducida en un evaporador rotatorio seguido por purificación por HPLC produjo ácido 5-(2,6-difluoro-ciclohex-1-enil)-3-[(trans-4-metoxi-ciclohexil)-(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-amino]-tiofen-2-

5 carboxílico (3 mg) y ácido 5-(2,3-difluoro-ciclohex-1-enil)-3-[(trans-4-metoxi-ciclohexil)-(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-amino]-tiofen-2-carboxílico (3 mg) en un rendimiento aislado global del 8%.

Ejemplo 8 (compuesto no de acuerdo con la invención)

10 Ácido 5-ciclohex-1-enil-3-[(1-isobutiril-piperidin-4-il)-(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-amino]-tiofen-2-carboxílico (compuesto #141)



Etapa I:

A una solución de éster metílico del ácido 5-ciclohex-1-enil-3-[(trans-4-metilciclohexanocarbonil)-piperidin-4-il-amino]-tiofen-2-carboxílico (100 mg, 0,23 mmol) en diclorometano (3 ml) se le añadió trietilamina (3 ml) y cloruro de isobutirilo (28  $\mu\text{l}$ , 0,27 mmol). Se agitó la mezcla de reacción a temperatura ambiente durante 12 h y a continuación se inactivó con una solución saturada de  $\text{NaHCO}_3$ . Se separó la capa orgánica, se secó ( $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ) y se concentró. Se purificó el residuo por cromatografía en columna sobre gel de sílice usando

acetato de etilo y hexano (1:1) como eluyente para obtener éster metílico del ácido 5-ciclohex-1-enil-3-[(1-isobutiril-piperidin-4-il)-(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-amino]-tiofen-2-carboxílico (55 mg, 47%) en forma de un sólido blanco.

5 Etapa II:

A una solución agitada de éster metílico del ácido 5-ciclohex-1-enil-3-[(1-isobutiril-piperidin-4-il)-(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-amino]-tiofen-2-carboxílico (50 mg, 0,10 mmol) en THF:H<sub>2</sub>O:MeOH (3:1:2) (3 ml), se le añadió LiOH en agua (1 N) (0,3 ml, 0,3 mmol). Se agitó la mezcla de reacción a 70°C durante 5 h. Se concentró la mezcla a presión reducida en un evaporador rotatorio y se trató el residuo con una solución de HCl 0,1 N y se extrajo en EtOAc. Se secó la capa EtOAc sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. La filtración y eliminación del disolvente a presión reducida en un evaporador rotatorio seguido por purificación por HPLC produjo ácido 5-ciclohex-1-enil-3-[(1-isobutiril-piperidin-4-il)-(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-amino]-tiofen-2-carboxílico (30,0 mg, 61%) en forma de espuma.

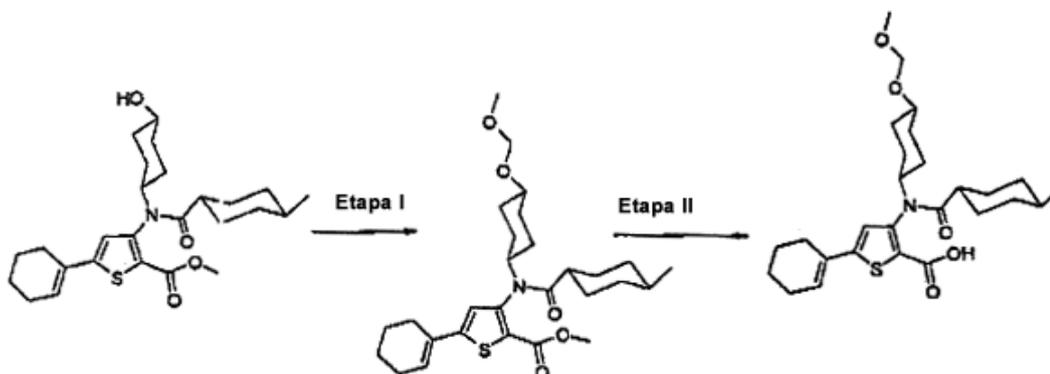
Usando esencialmente el mismo procedimiento descrito anteriormente pueden prepararse los siguientes compuestos:

20 Ácido 5-ciclohex-1-enil-3-[(1-metanosulfonyl-piperidin-4-il)-(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-amino]-tiofen-2-carboxílico (compuesto #101)

Ácido 5-ciclohex-1-enil-3-[(4-metil-ciclohexanocarbonil)-[4-(metil-propionil-amino)-ciclohexil]-amino]-tiofen-2-carboxílico (compuesto #140)

Ejemplo 9 (compuesto no de acuerdo con la invención)

25 Ácido 5-ciclohex-1-enil-3-[trans-4-metoximetoxi-ciclohexil)-(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-amino]-tiofen-2-carboxílico (compuesto 24)



## Etapa I:

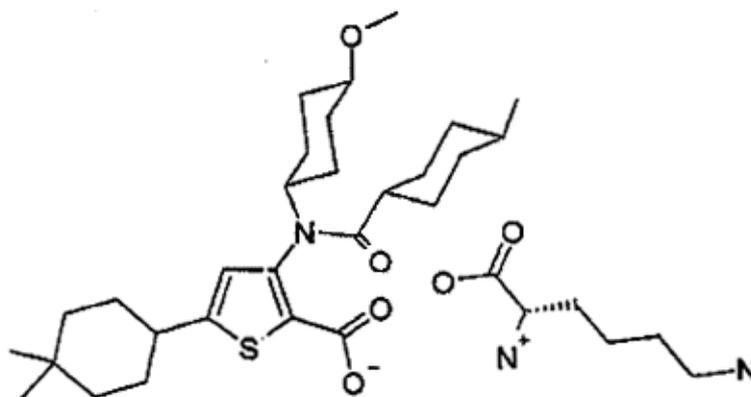
A una solución de éster metílico del ácido 5-ciclohex-1-enil-3-[(trans-4-hidroxi-ciclohexil)-(trans-4-metil-ciclohexaacarbonil)-amino]-tiofen-2-carboxílico (1 g, 2,18 mmol) en diclorometano (10 ml) se le añadió diisopropiletilamina (0,6 ml, 3,3 mmol), éter clorometilmetílico (250  $\mu$ l, 3,3 mmol) y DMAP (40 mg, 0,33 mmol). La mezcla de reacción se sometió a reflujo durante 12 h. Se eliminaron los disolventes y se purificó el residuo por cromatografía en columna sobre gel de sílice usando acetato de etilo y hexano (1:3) como eluyente para obtener éster metílico del ácido 5-ciclohex-1-enil-3-[(trans-4-metoximetoxi-ciclohexil)-(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-amino]-tiofen-2-carboxílico (780 mg, 71%) en forma de jarabe.

## Etapa II:

A una solución de éster metílico del ácido 5-ciclohex-1-enil-3-[(trans-4-metoximetoxi-ciclohexil)-(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-amino]-tiofen-2-carboxílico (775 mg, 1,54 mmol) en THF:H<sub>2</sub>O:MeOH (3:1:2) (10 ml), se le añadió LiOH en agua (1 N) (4,6 ml, 4,6 mmol). Se agitó la mezcla de reacción a 70°C durante 5 h. Se concentró la mezcla a presión reducida en un evaporador rotatorio y se trató el residuo con una solución de HCl 0,1 N y se extrajo en EtOAc. Se secó la capa EtOAc sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. La filtración y eliminación del disolvente a presión reducida en un evaporador rotatorio seguido por purificación por HPLC produjo ácido 5-ciclohex-1-enil-3-[(trans-4-metoximetoxi-ciclohexil)-(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-amino]-tiofen-2-carboxílico (380 mg, 50%) en forma de espuma.

25 Ejemplo 10 (compuesto no de acuerdo con la invención)

5-(4,4-dimetil-ciclohexil)-3-[(trans-4-metoxi-ciclohexy)-(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-amino]-tiofen-2-carboxilato(S)-5-amino-1-carboxipentil-amonio (compuesto #100)



A una solución de ácido 5-(4,4-dimetil-ciclohexil)-3-[(trans-4-metoxi-ciclohexil)-(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-amino]-tiofen-2-carboxílico (80 mg, 0,16 mmol) en dioxano y agua (1:1, 10 ml), se añadió L-lisina a 0°C. La solución se agitó a t.a. durante 30 min. Se eliminó el dioxano en el evaporador rotatorio (evaporación parcial) y a continuación se liofilizó la solución para obtener 5-(4,4-dimetil-ciclohexil)-3-[(trans-4-metoxi-ciclohexil)-(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-amino]-tiofen-2-carboxilato(S)-5-amino-1-carboxipentil-amonio en forma de espuma en 104 mg.

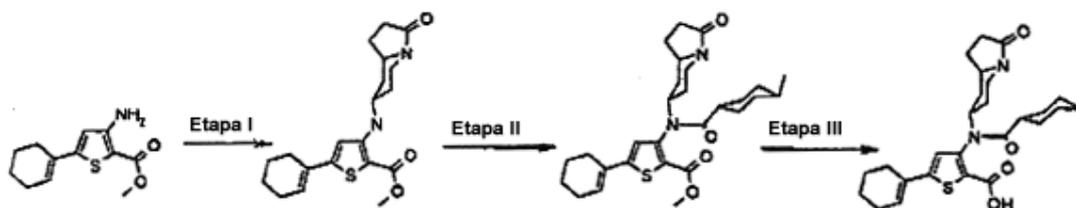
Usando esencialmente el mismo procedimiento descrito anteriormente pueden prepararse los siguientes compuestos:

5-(4,4-dimetil-ciclohexil)-3-[(trans-4-metoxi-ciclohexil)-(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-amino]-tiofen-2-carboxilato(2-hidroxi-etil)-trimetilamonio (compuesto #110)

5-(4,4-dimetil-ciclohexil)-3-[(trans-4-metoxi-ciclohexil)-(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-amino]-tiofen-2-carboxilato metil-((2S,3R,4R,5R)-2,3,4,5,6-pentahidroxi-hexil)-amonio (compuesto #109)

#### Ejemplo 11 (compuesto no de acuerdo con la invención)

Preparación de ácido RS-5-ciclohex-1-enil-3-[(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-(3-oxo-octahidro-indolizin-7-il)-amino]-tiofen-2-carboxílico (Compuesto #87)



#### Etapa I:

A una solución de éster metílico del ácido 5-ciclohex-1-enil-3-aminotiofen-2-carboxílico (689 mg, 2,90 mmol) y 3-oxo-octahidro-indolizin-7-ona (750 mg, 4,90 mmol; preparada según se describe en *Tetrahedron*, 1975, 1437) en 3 ml de THF en seco se añadió dicloruro de dibutilestaño (88 mg, 0,29 mmol), y se agitó la mezcla durante 10 min a temperatura ambiente bajo nitrógeno. A continuación se añadió fenilsilano (394  $\mu$ l, 3,19 mmol), y se agitó la mezcla durante toda la noche a temperatura ambiente. Se evaporó el disolvente a presión reducida, y se purificó el residuo por cromatografía en columna sobre gel de sílice usando gradiente de EtOAc al 30-100% en hexano para producir 973 mg (90%) de éster metílico del ácido 5-ciclohex-1-enil-3-[(3-oxo-octahidro-indolizin-7-il)-amino]-tiofen-2-carboxílico.

#### Etapa II:

Se añadió el cloruro del ácido trans-4-metilciclohexil-carboxílico a una solución de éster metílico del ácido 5-ciclohex-1-enil-3-[13-oxo-octahidro-indolizin-7-il)-amino]-tiofen-2-carboxílico (698 mg, 1,86 mmol) y piridina (166  $\mu$ l, 2,05 mmol) en tolueno en seco (8 ml). La mezcla se sometió a reflujo durante 16 h, a continuación se llevó a temperatura ambiente, y se añadió una cantidad adicional de piridina (0,2 ml) y MeOH (1 ml). Se diluyó la mezcla con diclorometano, y se lavó con salmuera; se secó la fase orgánica sobre  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ , concentrado y se purificó por cromatografía en columna sobre gel de sílice usando gradiente EtOAc al 0-100% en hexano para producir 592 mg (64%) de éster metílico del ácido 5-ciclohex-1-enil-3-[(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-(3-oxo-octahidro-indolizin-7-il)-amino]-tiofen-2-carboxílico.

#### Etapa III:

Se hidrolizó el éster metílico de la Etapa II (565 mg, 1,13 mmol) con hidróxido de litio tal como se describe anteriormente (ejemplo 3, etapa VIII) para proporcionar 390 mg (71%) de ácido RS-5-ciclohex-1-enil-3-[(trans-4-

metil-ciclohexanocarbonil)-(3-oxo-octahidro-indolizin-7-il)-amino]-tiofen-2-carboxílico en forma de un sólido.

Usando esencialmente el mismo procedimiento descrito anteriormente pueden prepararse los siguientes compuestos usando otras cetonas en la etapa I:

- 5           Ácido 3-[(trans-4-terc-butil-ciclohexil)-(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-amino]-5-ciclohex-1-enil-tiofen-2-carboxílico (compuesto #44);
- Ácido 3-[(cis-4-terc-butil-ciclohexil)-(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-amino]-5-ciclohex-1-enil-tiofen-2-carboxílico (compuesto #45);
- 10          Ácido       RS-5-ciclohex-1-enil-3-[(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-(1,2,3,4-tetrahidro-naftalen-2-il)-amino]-tiofen-2-carboxílico (compuesto #66);
- Ácido       5-ciclohex-1-enil-3-[(cis/trans-decahidro-naftalen-2-il)-(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-amino]-tiofen-2-carboxílico (compuesto #65);
- Ácido       RS-5-ciclohex-1-enil-3-[(7-metoxi-1,2,3,4-tetrahidro-naftalen-2-il)-(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-amino]-tiofen-2-carboxílico (compuesto #67);
- 15           Ácido       5-ciclohex-1-enil-3-[(cis/trans-4-metoximetil-ciclohexil)-(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-amino]-tiofen-2-carboxílico (compuesto #126), (la cetona para la etapa I puede prepararse según se describe en *Liebigs Annalen der Chemie* (1994), (9), 911-15);
- 20           Ácido       5-ciclohex-1-enil-3-[(cis-4-metoximetil-ciclohexil)-(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-amino]-tiofen-2-carboxílico (compuesto #131), (la cetona para la etapa I puede prepararse según se describe en *Liebigs Annalen der Chemie* (1994), (9), 911-15);
- 25           Ácido       5-ciclohex-1-enil-3-[(trans-4-metoximetil-ciclohexil)-(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-amino]-tiofen-2-carboxílico (compuesto #132), (la cetona para la etapa I puede prepararse según se describe en *Liebigs Annalen der Chemie* (1994), (9), 911-15);
- Ácido 3-[(trans-3-carboxi-trans-4-metilcarbamoil-ciclohexil)-(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-amino]-5-ciclohex-1-enil-tiofen-2-carboxílico (compuesto #68) (la cetona para la etapa I puede prepararse según: *Canadian Journal of Chemistry* (1982), 60(4), 419-24).
- Ácido 5-ciclohex-1-enil-3-[(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-(tetrahidropiran-4-il)-amino]-tiofen-2-carboxílico (compuesto #29)
- 35          Ácido       5-ciclohex-1-enil-3-[(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-

(tetrahidropirran-4-il)-amino]-tiofen-2-carboxílico (compuesto #42)

Ácido 5-ciclohex-1-enil-3-[(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-(trans-4-metilciclohexil)-amino]-tiofen-2-carboxílico (compuesto #52)

5 Ácido 5-ciclohex-1-enil-3-[(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-(cis-4-metilciclohexil)-amino]-tiofen-2-carboxílico (compuesto #53)

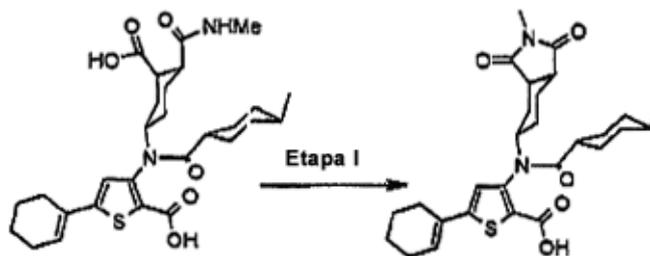
Ácido 5-ciclohex-1-enil-3-[(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-(1-metil-piperidin-4-il)-amino]-tiofen-2-carboxílico (compuesto #56)

5-(4,4-dimetil-ciclohexil)-3-[(4-metil-ciclohexanocarbonil)-(1-metil-piperidin-4-il)-amino]-tiofen-2-carboxilato de sodio (compuesto #93)

10

Ejemplo 12 (compuesto no de acuerdo con la invención)

Preparación de ácido RS-5-ciclohex-1-enil-3-[(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-(2-metil-1,3-dioxo-octahidro-isoindol-5-il)-amino]-tiofen-2-carboxílico (compuesto #72)



15

Etapa I:

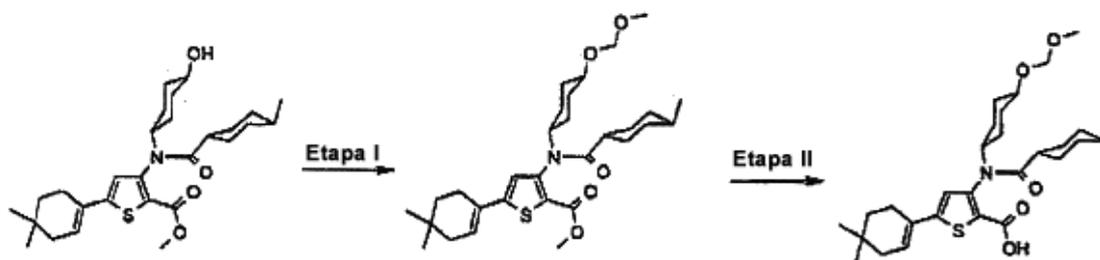
A una solución de ácido 3-[(trans-3-carboxi-trans-4-metilcarbamoil-ciclohexil)-(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-amino]-tiofen-2-carboxílico (44 mg, 0,083 mmol; preparada según se describe en el ejemplo 11) en CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> en seco (2 ml) se le añadió iPr<sub>2</sub>EtN (29 µl, 0,166 mmol) y HATU (33 mg, 0,087 mmol), y se agitó la mezcla durante 72 h a temperatura ambiente. Se evaporó el disolvente hasta sequedad y se purificó el residuo por HPLC preparatoria para obtener 22 mg (52%) de ácido RS-5-ciclohex-1-enil-3-[(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-(2-metil-1,3-dioxo-octahidro-isoindol-5-il)-amino]-tiofen-2-carboxílico en forma de un sólido blanco después de liofilización.

20

25

Ejemplo 13 (compuesto no de acuerdo con la invención)

Preparación de ácido 5-(4,4-dimetil-ciclohex-1-enil)-3-[(trans-4-metoxi-metoxi-ciclohexil)-(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-amino]-tiofen-2-carboxílico

(Compuesto #114)

## Etapa I:

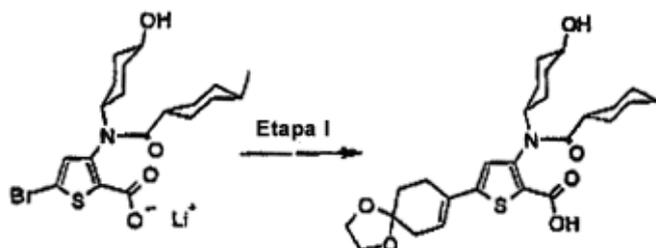
A una solución de éster metílico del ácido 5-(4,4-dimetil-ciclohex-1-enil)-3-[(trans-4-hidroxiciclohexil)-(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-amino]-tiofen-2-carboxílico (406 mg, 0,83 mmol),  $i\text{-Pr}_2\text{EtN}$  (218  $\mu\text{l}$ , 1,25 mmol) y DMAP (15 mg, 0,12 mmol) en  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  en seco (20 ml) se le añadió éter clorometilmetílico (95  $\mu\text{l}$ , 1,25 mmol), y se agitó la mezcla a temperatura ambiente durante toda la noche. A continuación se diluyó la mezcla con  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ , se lavó con salmuera, se secó la fracción orgánica sobre  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ , se concentró a presión reducida y se purificó por cromatografía en columna sobre gel de sílice eluyendo con EtOAc al 0-30% en hexano para proporcionar 286 mg (65%) de éster metílico del ácido 5-(4,4-dimetil-ciclohex-1-enil)-3-[(trans-4-metoximetoxi-ciclohexil)-(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-amino]-tiofen-2-carboxílico.

## Etapa II:

El éster metílico de la Etapa I (285 mg, 0,54 mmol) se disolvió en una mezcla 4:2:1 de THF:H<sub>2</sub>O:metanol (7 ml), se añadió  $\text{LiOH}\cdot\text{H}_2\text{O}$  (225 mg, 5,36 mmol) a la solución, y se calentó en un horno de microondas a 120°C durante 5 min, y a continuación durante 5 min adicionales a 130°C. Se diluyó la mezcla de reacción con  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ , se acidificó con HCl 2 N, se lavó con salmuera, y se secó la fracción orgánica sobre  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  y se evaporó hasta sequedad. Se purificó el residuo por cromatografía en columna sobre gel de sílice eluyendo con MeOH al 0-10% en  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  para proporcionar 265 mg (95%) de ácido 5-(4,4-dimetil-ciclohex-1-enil)-3-[(trans-4-metoximetoxi-ciclohexil)-(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-amino]-tiofen-2-carboxílico.

Usando esencialmente el mismo procedimiento descrito anteriormente pueden prepararse los siguientes compuestos:

Ácido 5-ciclohex-1-enil-3-[(trans-4-etoximetoxi-ciclohexil)-(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-amino]-tiofen-2-carboxílico (compuesto #125)

Ejemplo 14 (compuesto no de acuerdo con la invención)Preparación de ácido 5-(1,4-dioxa-espiro[4,5]dec-7-en-8-il)-3-[(trans-4-hidrociclohexil-(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-amino]-tiofen-2-carboxílico (compuesto #14)

5

## Etapa I:

A una solución de 5-bromo-3-[(trans-4-hidroxi-ciclohexil)-(trans-4-metilciclohexanocarbonil)-amino]-tiofen-2-carboxilato de litio (498 mg, 1,10 mmol) y ácido 1,4-dioxaespiro[4,5]dec-7-en-8-borónico (412 mg, 1,55 mmol) en DMF (6 ml) se le añadió solución 2 M de Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (3 ml), y la mezcla se desoxigenó haciendo burbujear nitrógeno a través de la solución durante 10 min. A continuación se añadió Pd(PPh<sub>3</sub>)<sub>4</sub> a la mezcla, y se sometió a reflujo bajo nitrógeno durante 2 h. La mezcla se llevó a temperatura ambiente y se filtró a través de un lecho de celita lavando con EtOAc y H<sub>2</sub>O. Se extrajo el filtrado con EtOAc (4x), y a continuación se separó la fracción acuosa y se acidificó con HCl 2 N hasta pH 2-3. Se extrajo la mezcla con CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> y CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>-MeOH, se secó la fracción orgánica sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> y se evaporó hasta sequedad. Se recrystalizó el compuesto en bruto a partir de CH<sub>3</sub>CN para producir 453 mg (82%) de ácido 5-(1,4-dioxa-espiro[4,5]dec-7-en-8-il)-3-[(trans-4-hidroxi-ciclohexil)-(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-amino]-tiofen-2-carboxílico en forma de un sólido.

Usando esencialmente el mismo procedimiento descrito anteriormente pueden prepararse los siguientes compuestos usando otros ácidos borónicos:

Ácido 5-ciclohept-1-enil-3-[(trans-4-hidroxi-ciclohexil)-(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-amino]-tiofen-2-carboxílico (compuesto #5)

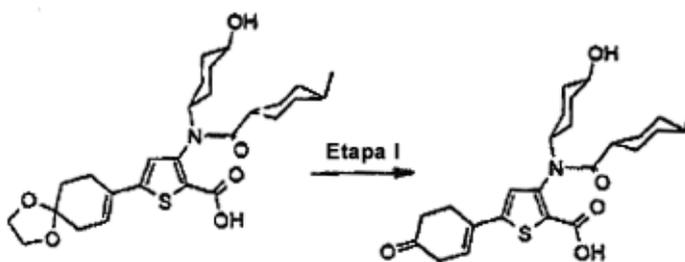
Ácido RS-3-[(trans-4-hidroxi-ciclohexil)-(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-amino]-5-(4-metil-ciclohex-1-enil)-tiofen-2-carboxílico (compuesto #4)

Ácido RS-5-(4-terc-butil-ciclohex-1-enil)-3-[(trans-4-hidroxi-ciclohexil)-(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-amino]-tiofen-2-carboxílico (compuesto #13)

Se prepararon ácido RS-3-[ciclohexil-(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-amino]-5-(4-metil-ciclohex-1-enil)-tiofen-2-carboxílico (compuesto #47) y ácido 5-ciclohept-1-enil-3-[ciclohexil-(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-amino]-tiofen-2-carboxílico (compuesto #46) a partir de 5-bromo-3-[ciclohexil-(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-amino]-tiofen-2-carboxilato de litio obtenido de éster metílico del ácido 5-bromo-3-amino-tiofen-2-carboxílico.

Ejemplo 15 (compuesto no de acuerdo con la invención)

Preparación de ácido 3-[(trans-4-hidroxi-ciclohexil)-(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-amino]-5-(4-oxo-ciclohex-1-enil)-tiofen-2-carboxílico (compuesto #25)

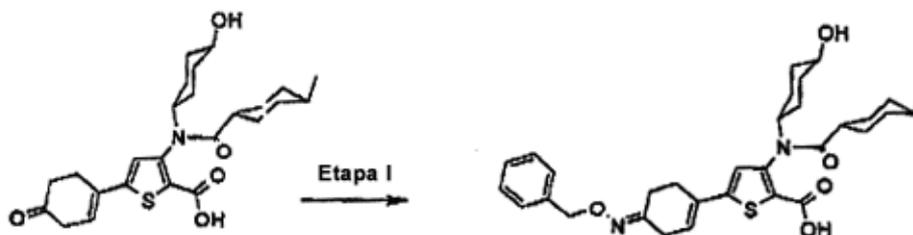


Etapa I:

A una solución de ácido 5-(1,4-dioxa-espiro[4,5]dec-7-en-8-il)-3-[(trans-4-hidroxiciclohexil)-(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-amino]-tiofen-2-carboxílico (428 mg, 0,85 mmol) en THF (5 ml) se le añadió HCl 3 N (2,5 ml), y se calentó la mezcla a 40°C durante 5 h. A continuación se diluyó con CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (70 ml) y se lavó con salmuera y agua. Se secó la fracción orgánica sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, se concentró a presión reducida y se purificó el residuo por cromatografía en columna sobre gel de sílice eluyendo con MeOH al 0-10% en CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> para proporcionar 278 mg (71%) de ácido 3-[(trans-4-hidroxi-ciclohexil)-(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-amino]-5-(4-oxo-ciclohex-9-enil)-tiofen-2-carboxílico.

Ejemplo 16 (compuesto no de acuerdo con la invención)

Preparación de ácido 5-[4-benciloxiimino-ciclohex-1-enil]-3-[(trans-4-hidroxiciclohexil)-(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil-amino)-tiofen-2-carboxílico (compuesto #26)



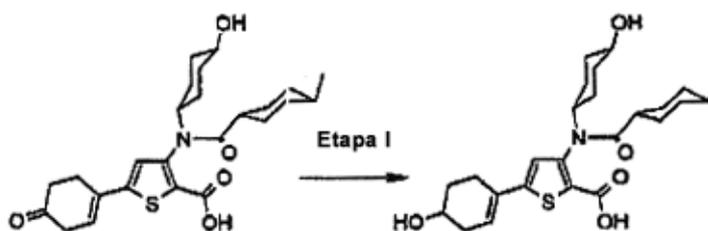
#### Etapa I:

A una solución de ácido 3-[(trans-4-hidroxi-ciclohexil)-(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-amino]-5-(4-oxo-ciclohex-1-enil)-tiofen-2-carboxílico (30 mg, 0,065 mmol) en una mezcla 2:1 de H<sub>2</sub>O-etanol (3 ml) se le añadieron clorhidrato de O-bencilhidroxilamina (21 mg, 0,13 mmol) y acetato de sodio (18 mg, 0,13 mmol), y se agitó la mezcla a temperatura ambiente durante toda la noche. A continuación se extrajo la mezcla con CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, se secó la fase orgánica sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, se concentró a presión reducida y se purificó por cromatografía en columna sobre gel de sílice eluyendo con MeOH al 2-15% en CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> para proporcionar 20 mg (54%) de ácido 5-{4-benciloxiimino-ciclohex-1-enil}-3-[(trans-4-hidroxi-ciclohexil)-(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-amino]-tiofen-2-carboxílico.

El ácido 5-{4-etoxiimino-ciclohex-1-enil}-3-[(trans-4-hidroxi-ciclohexil)-(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-amino]-tiofen-2-carboxílico (compuesto #27) puede prepararse de una forma similar usando O-etilhidroxilamina.

#### Ejemplo 17 (compuesto no de acuerdo con la invención)

Preparación de ácido RS-5-(4-hidroxi-ciclohex-1-enil)-3-[(trans-4-hidroxiciclohexil)-(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-amino]-tiofen-2-carboxílico (compuesto #34)



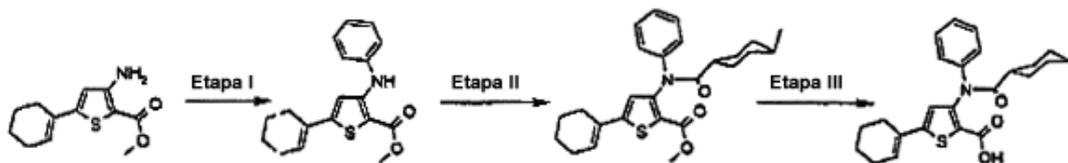
#### Etapa I:

A una solución de ácido 3-[(trans-4-hidroxi-ciclohexil)-(trans-4-metil-

ciclohexanocarbonil)-amino]-5-(4-oxo-ciclohex-1-enil)-tiofen-2-carboxílico (87 mg, 0,19 mmol) en MeOH en seco (5 ml) se le añadió borohidruro de sodio (4 mg, 0,09 mmol), y se agitó la mezcla a temperatura ambiente durante 4 h. La reacción se inactivó por adición de NH<sub>4</sub>Cl acuoso, se acidificó hasta pH 3 y se extrajo con CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>. Se lavó la fracción orgánica con salmuera, se secó sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, se concentró a presión reducida y se purificó por cromatografía en columna sobre gel de sílice eluyendo con MeOH al 0-10% en CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> para proporcionar 49 mg (56%) de ácido RS-5-(4-hidroxi-ciclohex-1-enil)-3-[(trans-4-hidroxi-ciclohexil)-(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-amino]-tiofen-2-carboxílico.

#### Ejemplo 18 (compuesto no de acuerdo con la invención)

#### Preparación de ácido 5-ciclohex-1-enil-3-[(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-fenil-amino]-tiofen-2-carboxílico (Compuesto 10)



15

#### Etapa I:

A una solución de éster metílico del ácido 5-ciclohex-1-enil-3-amino-tiofen-2-carboxílico (111 mg, 0,47 mmol) y bromobenceno (54  $\mu$ l, 0,51 mmol) en dioxano en seco (3 ml) se le añadieron carbonato de cesio (459 mg, 1,41 mmol) y Pd<sub>2</sub>dba<sub>3</sub> (43 mg, 0,047 mmol), y se desoxigenó la mezcla mediante burbujeo de nitrógeno a través de la solución durante 10 min. A continuación se añadió BINAP (47 mg, 0,075 mmol) a la mezcla, y se sometió a reflujo bajo nitrógeno durante toda la noche. Se diluyó la mezcla con CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> y se filtró a través de lavado en celita con CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>. Se concentró el filtrado a presión reducida y se purificó por cromatografía en columna sobre gel de sílice eluyendo con EtOAc al 2-30% en hexano para proporcionar 111 mg (76%) de éster metílico del ácido 5-ciclohex-1-enil-3-fenilamino-tiofen-2-carboxílico.

25

#### Etapa II:

El éster metílico de la Etapa I (565 mg, 1,13 mmol) se aciló con cloruro del ácido trans-4-metilciclohexil-carboxílico tal como se describe anteriormente (ejemplo 11, etapa II) para proporcionar 41 mg (27%) de éster metílico del

30

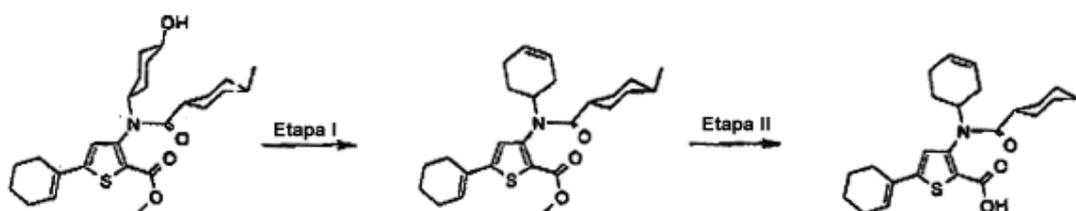
ácido 5-ciclohex-1-enil-3-[(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-fenil-amino]-tiofen-2-carboxílico.

Etapa III:

El producto de la Etapa II (38 mg, 0,09 mmol) se hidrolizó con hidróxido de litio tal como se describe anteriormente (ejemplo 3, etapa VIII) para proporcionar 32 mg (89%) de ácido 5-ciclohex-1-enil-3-[(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-fenil-amino]-tiofen-2-carboxílico.

Ejemplo 19 (compuesto no de acuerdo con la invención)

10 Preparación de ácido RS-5-ciclohex-1-enil-3-[ciclohex-3-enil-trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-amino]-tiofen-2-carboxílico (Compuesto #115)



Etapa I:

A una solución de éster metílico del ácido 5-ciclohex-1-enil-3-[(trans-4-hidroxi-ciclohexil)-(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-amino]-tiofen-2-carboxílico (390 mg, 0,85 mmol) en DMF en seco (3 ml) a 0°C se le añadió 0,34 ml de solución 10 M de  $\text{CHF}_2\text{I}$  en benceno, seguido por NaH (suspensión al 60% en aceite, 68 mg, 1,70 mmol), y se agitó la mezcla durante 2 h dejándola calentarse a temperatura ambiente. A continuación se transfirió en un tubo sellado y se calentó en un horno de microondas durante 20 min a 120°C. La mezcla se trató según se describe en el ejemplo 4, y se purificó por cromatografía en columna sobre gel de sílice eluyendo con acetato de etilo al 0→50% en hexano para proporcionar éster metílico del ácido 5-ciclohex-1-enil-3-[ciclohex-3-enil-(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-amino]-tiofen-2-carboxílico (132 mg, 35%).

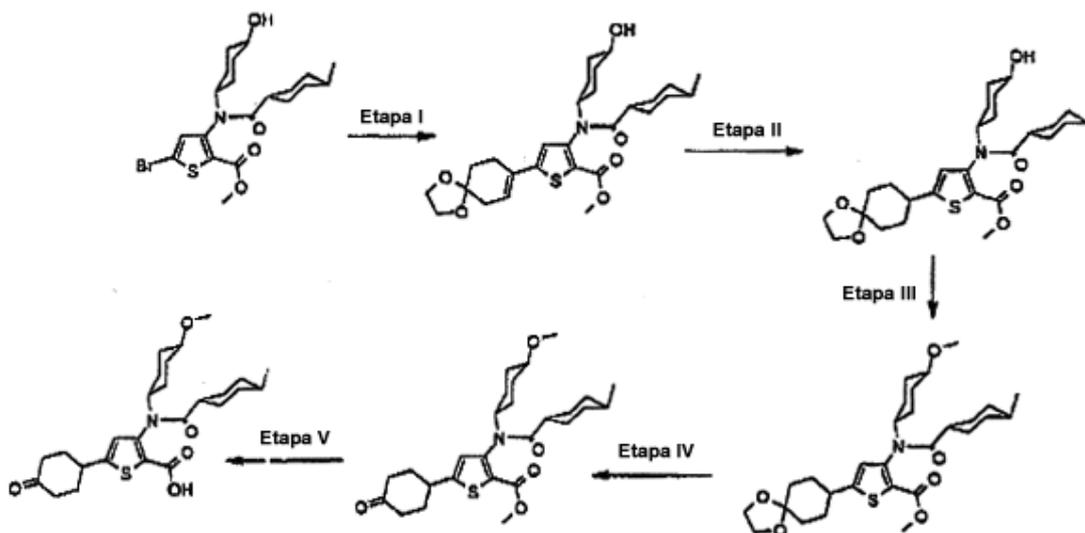
Etapa II:

El éster metílico de la Etapa I (132 mg, 0,30 mmol) se hidrolizó con hidróxido de litio tal como se describe anteriormente (ejemplo 3, etapa VIII) para proporcionar 99 mg (77%) de ácido RS-5-ciclohex-1-enil-3-[ciclohex-3-enil-(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-amino]-tiofen-2-carboxílico en forma de

un sólido.

Ejemplo 20 (compuesto no de acuerdo con la invención)

Preparación de ácido 3-[(trans-4-metoxi-ciclohexil)-(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-amino]-5-(4-oxo-ciclohexil)-tiofen-2-carboxílico  
5 (Compuesto #113)



Etapa I:

A una solución de éster metílico del ácido 5-bromo-3-[(trans-4-hidroxi-ciclohexil)-(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-amino]-tiofen-2-carboxílico (1,312 g, 2,86 mmol) y ácido 1,4-dioxaespiro[4,5]dec-7-en-8-borónico (1,066 g, 4,01 mmol) en DMF (12 ml) se le añadió solución 2 M de Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (6 ml), y la mezcla se desoxigenó mediante burbujeo de nitrógeno a través de la solución durante 10 min. A continuación se añadió Pd(PPh<sub>3</sub>)<sub>4</sub> a la mezcla, y se calentó a 100°C durante 40 min. La mezcla se llevó a temperatura ambiente, se diluyó con CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, se acidificó con HCl 3 N hasta pH 2-3 y se extrajo con EtOAc. Se lavó la fracción orgánica con NaHCO<sub>3</sub> y salmuera, se secó sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, se concentró a presión reducida y se purificó el residuo por cromatografía en columna sobre gel de sílice usando gradiente de hexanos-EtOAc para producir 1,368 g (92%) de éster metílico del ácido 5-(1,4-dioxa-espiro[4,5]dec-7-en-8-il)-3-[(trans-4-hidroxiciclohexil)-(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-amino]-tiofen-2-carboxílico en forma de un sólido.

Etapa II:

Una solución de éster metílico del ácido 5-(1,4-dioxa-espiro[4,5]dec-7-

en-8-il)-3-[(trans-4-hidroxiciclohexil)-(trans-4-metil-ciclohexano-carbonil)-amino]-  
tiofen-2-carboxílico (981 mg, 1,89 mmol) en MeOH en seco (30 ml) se  
desoxigenó mediante burbujeo de nitrógeno a través de la solución durante 5  
min, a continuación se añadió paladio sobre carbón al 10% (202 mg), se hizo  
5 burbujear nitrógeno durante otros 5 min, a continuación se desplazó con  
hidrógeno, y se agitó la mezcla a temperatura ambiente durante toda la noche.  
Se filtró la mezcla a través de lavado en celita con MeOH, y se concentró el  
filtrado a presión reducida para proporcionar 928 mg (95%) de éster metílico  
del ácido 5-(1,4-dioxa-espiro[4,5]dec-8-il)-3-[(trans-4-hidroxi-ciclohexil)-(trans-4-  
10 metil-ciclohexano-carbonil)-amino]-tiofen-2-carboxílico en bruto, que se usó en  
la etapa siguiente sin purificación.

Etapa III:

El producto de la etapa II (922 mg, 1,77 mmol) se trató con yoduro de  
metilo (2,21 ml, 35,48 mmol) y suspensión en aceite al 60% de hidruro de sodio  
15 (142 mg, 3,54 mmol) usando el procedimiento descrito en la etapa I del ejemplo  
4 para producir 1,143 g (100%) de éster metílico del ácido 5-(1,4-dioxa-  
espiro[4,5]dec-8-il)-3-[(trans-4-metoxi-ciclohexil)-(trans-4-metil-ciclohexano-  
carbonil)-amino]-tiofen-2-carboxílico en bruto.

Etapa IV:

20 El producto de la etapa III se disolvió en THF (40 ml), se añadió HCl 3 N  
(20 ml) a esta solución, y se calentó la mezcla durante 3 h a 50°C, y a  
continuación durante 3 h más a 60°C. La mezcla se llevó a temperatura  
ambiente, se extrajo con CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, se lavó con bicarbonato de sodio y salmuera,  
se separó la fracción orgánica, se secó sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, y se concentró a presión  
25 reducida. La purificación por cromatografía en columna sobre gel de sílice  
usando gradiente de hexanos-EtOAc produjo 726 mg (85%) de éster metílico  
del ácido 3-[(trans-4-metoxi-ciclohexil)-(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-  
amino]-5-(4-oxociclohexil)-tiofen-2-carboxílico.

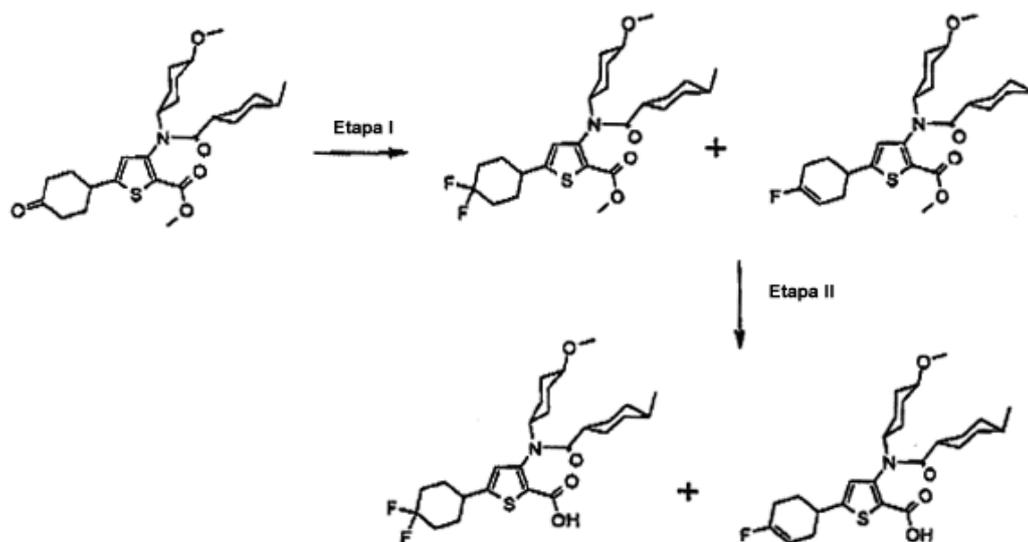
Etapa V:

30 El producto de la etapa IV (61 mg) se hidrolizó con hidróxido de litio  
según se describe anteriormente (ejemplo 3, etapa VIII) para producir después  
de purificación en columna sobre gel de sílice (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>-MeOH) 23 mg (39%) de  
ácido 3-[(trans-4-metoxi-ciclohexil)-(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-amino]-  
5-(4-oxociclohexil)-tiofen-2-carboxílico.

35

Ejemplo 21 (compuesto no de acuerdo con la invención)

Preparación de ácido 5-(4,4-difluoro-ciclohexil)-3-trans-4-metoxi-ciclohexil)-(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-amino]-tiofen-2-carboxílico (Compuesto #122) y ácido RS-5-(4-fluoro-ciclohex-3-enil)-3-[(trans-4-metoxi-ciclohexil)-(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-amino]-tiofen-2-carboxílico (Compuesto #123)



## Etapa I:

A una solución de éster metílico del ácido 3-[(trans-4-metoxi-ciclohexil)-(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-amino]-5-(4-oxociclohexil)-tiofen-2-carboxílico (652 mg, 1,33 mmol) en tolueno en seco se le añadió DAST (523  $\mu$ l, 3,99 mmol), y se agitó la mezcla a temperatura ambiente durante toda la noche. A continuación se diluyó la mezcla con diclorometano se lavó con salmuera. Se separó la fracción orgánica, se secó sobre  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ , se concentró a presión reducida y se purificó por cromatografía en columna sobre gel de sílice usando gradiente de hexanos-EtOAc para producir 600 mg (88%) de mezcla 7:3 de éster metílico del ácido 5-(4,4-difluoro-ciclohexil)-3-[(trans-4-metoxi-ciclohexil)-(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-amino]-tiofen-2-carboxílico y éster metílico del ácido 5-(4-fluoro-ciclohex-3-enil)-3-[(trans-4-metoxi-ciclohexil)-(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-amino]-tiofen-2-carboxílico.

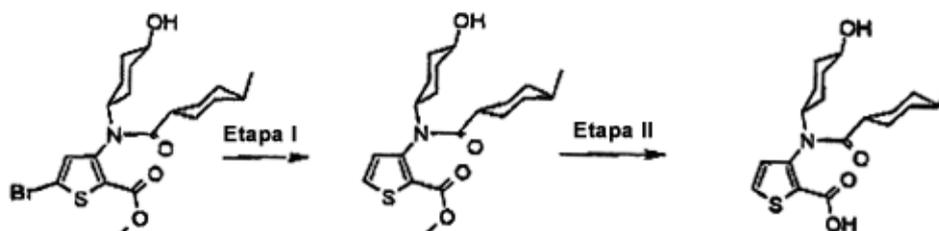
## Etapa II:

El producto de la etapa I (584 mg) se hidrolizó con hidróxido de litio

según se describe anteriormente (ejemplo 3, etapa VIII) para producir después de separación por HPLC preparatoria 270 mg de ácido 5-(4,4-difluorociclohexil)-3-[(trans-4-metoxi-ciclohexil)-(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-amino]-tiofen-2-carboxílico y 55 mg de ácido RS-5-(4-fluoro-ciclohex-3-enil)-3-[(trans-4-metoxi-ciclohexil)-(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-amino]-tiofen-2-carboxílico.

Ejemplo 22 (compuesto no de acuerdo con la invención)

Preparación de ácido 3-[(trans-4-hidroxi-ciclohexil)-(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-amino]-tiofen-2-carboxílico (Compuesto #143)

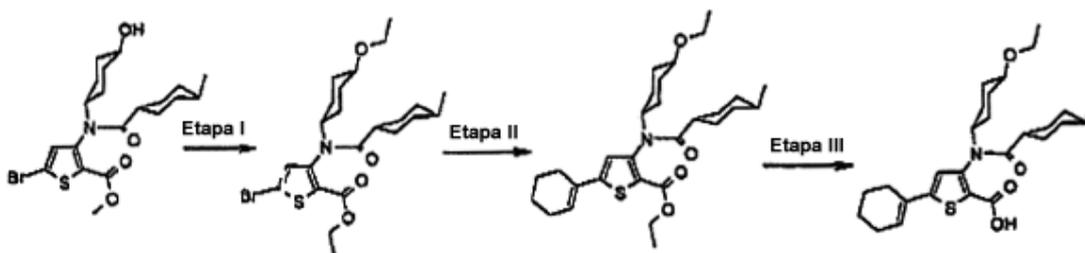


Etapa I:

A una solución de éster metílico del ácido 5-bromo-3-[(trans-4-hidroxi-ciclohexil)-(trans-4-metilciclohexanocarbonil)-amino]-tiofen-2-carboxílico (229 mg, 0,50 mmol) en MeOH en seco (5 ml) se le añadió paladio sobre carbón al 10% (53 mg), se hizo burbujear nitrógeno a través de la solución durante 10 min, a continuación se desplazó con hidrógeno, y se agitó la mezcla a temperatura ambiente durante 24 h. Se filtró la mezcla a través de lavado en celita con MeOH, y se concentró el filtrado a presión reducida para proporcionar 199 mg de éster metílico del ácido 3-[(trans-4-hidroxi-ciclohexil)-(trans-4-metilciclohexanocarbonil)-amino]-tiofen-2-carboxílico en bruto, que se usó en la etapa siguiente sin purificación.

Etapa II:

El producto de la etapa I (30 mg) se hidrolizó con hidróxido de litio según se describe anteriormente (ejemplo 3, etapa VIII) para producir después de purificación en columna sobre gel de sílice (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>-MeOH) 16 mg (57%) de ácido 3-[(trans-4-hidroxi-ciclohexil)-(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-amino]-tiofen-2-carboxílico.

Ejemplo 23 (compuesto no de acuerdo con la invención)Preparación de ácido 5-ciclohex-1-enil-3-[(trans-4-etoxi-ciclohexil)-(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-amino]-tiofen-2-carboxílico (compuesto #22)

## 5 Etapa I:

A una solución de éster metílico del ácido 5-bromo-3-[(trans-4-hidroxi-ciclohexil)-(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-amino]-tiofen-2-carboxílico (269 mg, 0,59 mmol) en DMF en seco (2 ml) se le añadió yodoetano (279  $\mu$ l, 2,95 mmol), se enfrió la mezcla a 0°C, y se añadió NaH (suspensión al 60% en aceite, 47 mg, 1,17 mmol) en partes durante 5 min. Se agitó la mezcla a 0°C durante 3 h, y se inactivó por adición de agua y se acidificó con HCl 2 N. Se diluyó la mezcla con CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> y se lavó con salmuera. Se separó la fracción orgánica, se secó sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, se concentró a presión reducida. Se purificó el residuo por cromatografía en columna sobre gel de sílice eluyendo con acetato de etilo al 0→50% en hexano para proporcionar 176 mg de mezcla 2:1 de ésteres etílico y metílico del ácido 5-bromo-3-[(trans-4-etoxi-ciclohexil)-(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-amino]-tiofen-2-carboxílico.

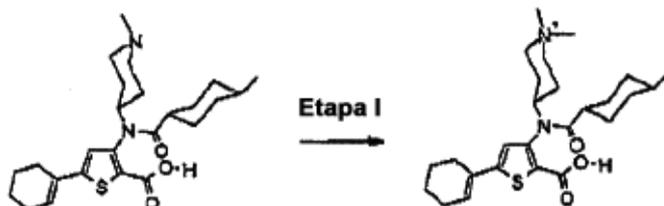
## 15 Etapa II:

El producto de etapa I (277 mg) se hizo reaccionar con ácido ciclohexenoborónico (91 mg, 0,72 mmol) para proporcionar 173 mg (63%) de éster etílico del ácido 5-bromo-3-[(trans-4-etoxi-ciclohexil)-(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-amino]-tiofen-2-carboxílico.

## Etapa III:

El éster de la Etapa II (173 mg, 0,34 mmol) se hidrolizó con hidróxido de litio tal como se describe anteriormente (ejemplo 3, etapa VIII) para proporcionar 91 mg de ácido 5-ciclohex-1-enil-3-[(trans-4-etoxi-ciclohexil)-(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-amino]-tiofen-2-carboxílico.

30

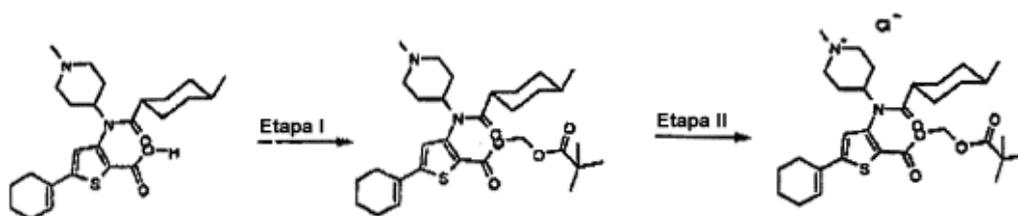
Ejemplo 24 (compuesto no de acuerdo con la invención)4-[(2-carboxi-5-ciclohex-1-enil-tiofen-3-il)-(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-amino]-1,1-dimetil-piperidinio (compuesto #88)

## 5 Etapa I:

A una solución de ácido 5-ciclohex-1-enil-3-[(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-(1-metil-piperidin-4-il)-amino]-tiofen-2-carboxílico (10 mg, 0,02 mmol) en 0,5 ml de diclorometano en seco a 0°C (baño de hielo) bajo nitrógeno se le añadió yoduro de metilo (3,1 mg, 0,02 mmol). Se agitó la mezcla durante 15 min a 0°C y 150 min a temperatura ambiente. Se concentró la mezcla a presión reducida para producir 10 mg (100%) de 4-[(2-carboxi-5-ciclohex-1-enil-tiofen-3-il)-(trans-4-metil-ciclohexanocarbo-nil)-amino]-1,1-dimetil-piperidinio.

Ref: Documento US-4.962.101.

15

Ejemplo 25 (compuesto no de acuerdo con la invención)4-[[5-ciclohex-1-enil-2-(2,2-dimetil-propioniloximetoxi-carbonil)-tiofen-3-il]-(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-amino]-1-metil-piperidinio; cloruro (compuesto #89)

## 20 Etapa I:

A una solución de ácido 5-ciclohex-1-enil-3-[(4-metil-ciclohexanocarbonil)-(1-metil-piperidin-4-il)-amino]-tiofen-2-carboxílico (130 mg, 0,27 mmol) en 5,0 ml de dimetilformamida en seco bajo nitrógeno se le añadió carbonato de cesio (351 mg, 1,08 mmol) y éster clorometílico del ácido 2,2-dimetil-propiónico (45 mg, 0,297 mmol). Se agitó la mezcla durante 120 min a 60°C. Se repartió la mezcla entre acetato de etilo y agua. Se separó la capa de

EtOAc y se lavó 3 veces con agua, se secó sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. La filtración y eliminación del disolvente a presión reducida en un evaporador rotatorio seguido por purificación por HPLC produjo 120 mg (79%) de éster 2,2-dimetil-propioniloximetílico del ácido 5-ciclohex-1-enil-3-[(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-(1-metil-piperidin-4-il)-amino]-tiofen-2-carboxílico.

Etapa II:

A una solución de éster 2,2-dimetil-propioniloximetílico del ácido 5-ciclohex-1-enil-3-[(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-(1-metil-piperidin-4-il)-amino]-tiofen-2-carboxílico (112 mg, 0,20 mmol) en 5,0 ml de metanol en seco bajo nitrógeno a 0°C (baño de hielo) se le añadieron 3 gotas de HCl (6 N). Se agitó la mezcla durante 5 min y se evaporó a presión reducida en un evaporador rotatorio para producir 109 mg de clorhidrato de 4-[[5-ciclohex-1-enil-2-(2,2-dimetil-propioniloximetoxi-carbonil)-tiofen-3-il]-(trans-4-metil-ciclohexano-carbonil)-amino]-1-metil-piperidinio.

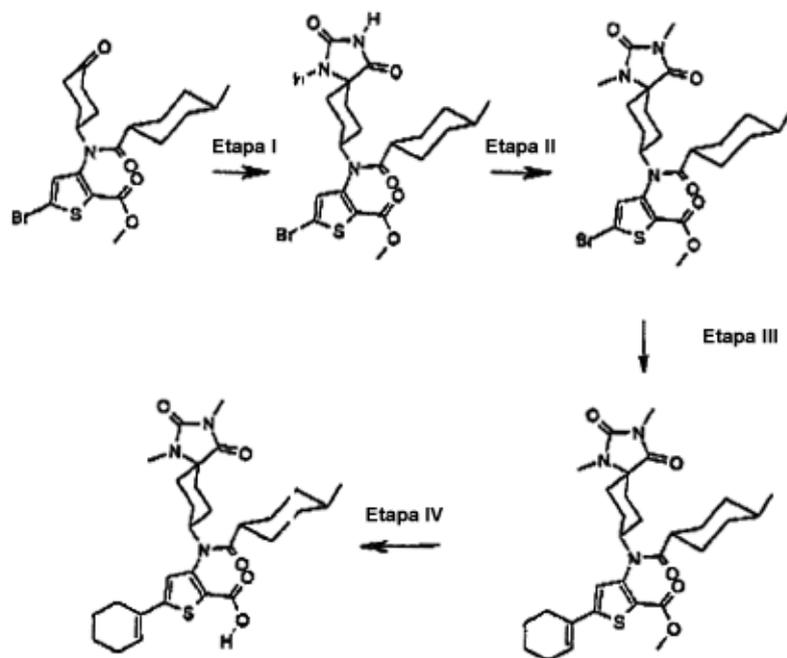
Usando esencialmente el mismo procedimiento descrito anteriormente pueden prepararse los siguientes compuestos:

4-[(5-ciclohex-1-enil-2-isopropoxicarboniloximetoxicarbonil-tiofen-3-il)-(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-amino]-1-metil-piperidinio; cloruro (compuesto #90)

20

Ejemplo 26 (compuesto no de acuerdo con la invención)

Ácido 5-ciclohex-1-enil-3-[(1,3-dimetil-2,4-dioxo-1,3-diaza-espiro[4,5]dec-8-il)-(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-amino]-tiofen-2-carboxílico (compuesto #32)



#### Etapa I:

A una solución de éster metílico del ácido 5-bromo-3-[(4-metil-ciclohexanocarbonil)-(4-oxo-ciclohexil)-amino]-tiofen-2-carboxílico (1.000 mg, 2,20 mmol) en 30 ml de metanol en seco se le añadió una solución acuosa de carbonato de amonio (634 mg, 6,60 mmol, 15 ml H<sub>2</sub>O) y cianuro de potasio sólido (634 mg, 6,60 mmol). Se agitó la mezcla durante 16 h a 55°C bajo nitrógeno. Se repartió la mezcla entre acetato de etilo y agua. Se separó la capa de EtOAc, se lavó 3 veces con agua, se secó sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, se filtró y se concentró a presión reducida. Se purificó el residuo por cromatografía en columna sobre gel de sílice usando EtOAc al 50% en hexano para producir 510 mg (45%) de éster metílico del ácido 5-bromo-3-[(2,4-dioxo-1,3-diaza-espiro[4,5]dec-8-il)-(4-metil-ciclohexanocarbonil)-amino]-tiofen-2-carboxílico.

#### Etapa II:

A una solución de éster metílico del ácido 5-bromo-3-[(2,4-dioxo-1,3-diaza-espiro[4,5]dec-8-il)-(4-metil-ciclohexanocarbonil)-amino]-tiofen-2-carboxílico (360 mg, 0,68 mmol) en 5 ml de dimetilformamida en seco a 0°C se le añadió hidruro de sodio al 60% (82 mg, 2,05 mmol) y yoduro de metilo (291 mg, 1,36 mmol). Se agitó la mezcla durante 16 h a temperatura ambiente bajo nitrógeno. Se repartió la mezcla entre acetato de etilo y agua. Se separó la

capa de EtOAc, se lavó 3 veces con agua, se secó sobre  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ , se filtró y se concentró a presión reducida. Se purificó el residuo por cromatografía en columna sobre gel de sílice usando EtOAc al 30% en hexano para producir 200 mg (50%) de éster metílico del ácido 5-bromo-3-[(1,3-dimetil-2,4-dioxo-1,3-diaza-espiro[4,5]dec-8-il)-(4-metil-ciclohexanocarbonil)-amino]-tiofen-2-carboxílico.

### Etapa III

Se aplicó el mismo procedimiento según se describe en el Ejemplo 20, etapa I.

### 10 Etapa IV

Se aplicó el mismo procedimiento según el Ejemplo 3, etapa VIII.

Usando esencialmente el mismo procedimiento descrito anteriormente pueden prepararse los siguientes compuestos:

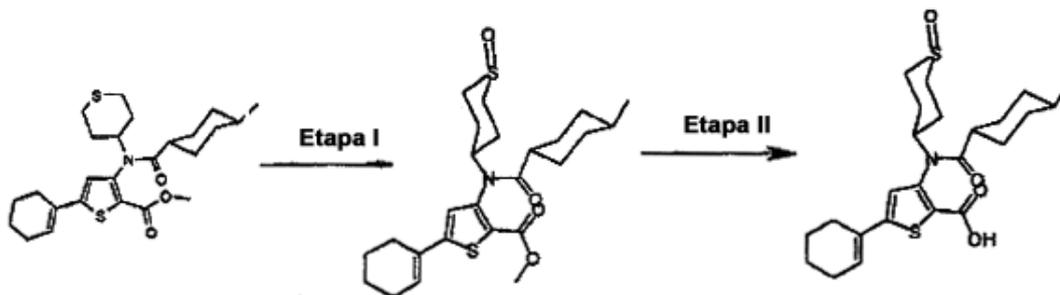
15 Ácido 5-(4,4-dimetil-ciclohexil)-3-[(1,3-dimetil-2,4-dioxa-1,3-diaza-espiro[4,5]dec-8-il)-(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-amino]-tiofen-2-carboxílico (compuesto #79)

Ácido 5-(4,4-dimetil-ciclohex-1-enil)-3-[(1,3-dimetil-2,4-dioxo-1,3-diaza-espiro[4,5]dec-8-il)-(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-amino]-tiofen-2-carboxílico (compuesto #75)

20

### Ejemplo 27 (compuesto no de acuerdo con la invención)

Ácido 5-ciclohex-1-enil-3-[(1-oxo-hexahidro-tiopiran-4-il)-(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-amino]-tiofen-2-carboxílico (compuesto #63 + compuesto #69)



25

### Etapa I:

A una mezcla de éster metílico del ácido 5-ciclohex-1-enil-3-[(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-(tetrahidrotiopiran-4-il)-amino]-tiofen-2-carboxílico (100 mg, 0,22 mmol) en 2 ml de EtOH, se le añadió bis(monoperoxifalato) de

magnesio hexahidratado (53 mg, 0,11 mmol). Se agitó la mezcla de reacción 16 h a temperatura ambiente. Después de evaporación hasta sequedad, se repartió el residuo entre acetato de etilo y agua. Se separó la capa orgánica, se secó ( $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ) y se concentró. Se purificó el residuo por cromatografía en columna sobre gel de sílice usando acetona/hexano (1:5) para producir 12 mg del isómero mayor y 8 mg de una mezcla (30:70) del isómero menor del éster metílico del ácido 5-ciclohex-1-enil-3-[(1-oxo-hexahidro-tiopiran-4-il)-(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-amino]-tiofen-2-carboxílico.

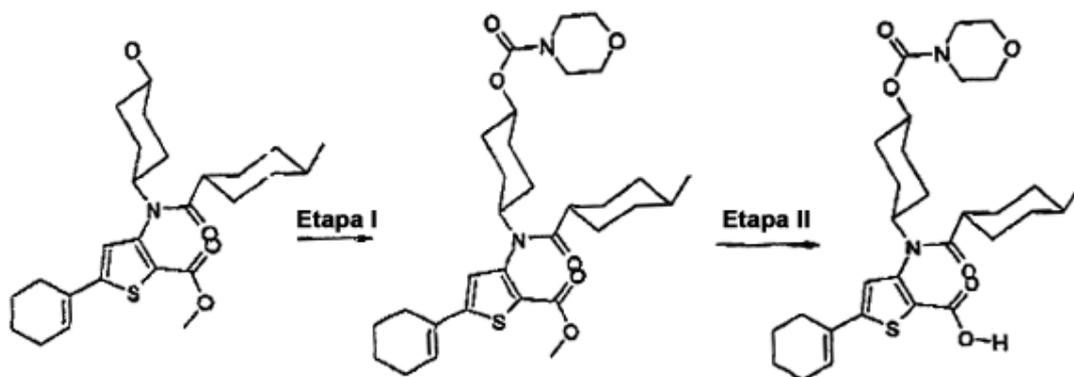
Etapa II:

10 Se aplicó el mismo procedimiento según el Ejemplo 3, etapa VIII.

Ejemplo 28 (compuesto no de acuerdo con la invención)

Éster 4-[(2-carboxi-5-ciclohex-1-enil-tiofen-3-il)-(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-amino]-ciclohexílico del ácido morfolin-4-carboxílico (compuesto #18)

15



Etapa I:

A una solución en frío ( $-20^\circ\text{C}$ ) de éster metílico del ácido 5-ciclohex-1-enil-3-[(trans-4-hidroxi-ciclohexil)-(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-amino]-tiofen-2-carboxílico (75 mg, 0,16 mmol) en 5 ml de THF se le añadió LiHMDS (33 mg, 0,20 mmol). Después de 1/2 h, la mezcla de reacción se trató con cloruro de morfolin-4-carbonilo (24 mg, 0,16 mmol). Se agitó la mezcla de reacción durante 3 h a temperatura ambiente. Se repartió el residuo entre acetato de etilo y 5 ml de solución acuosa saturada de  $\text{NH}_4\text{Cl}$ . Se separó la capa orgánica, se secó ( $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ) y se concentró. Se purificó el residuo por cromatografía en columna sobre gel de sílice para producir 35 mg (37%) de éster 4-[(5-ciclohex-1-enyl-2-metoxicarbonil-tiofen-3-il)-(trans-4-metil-

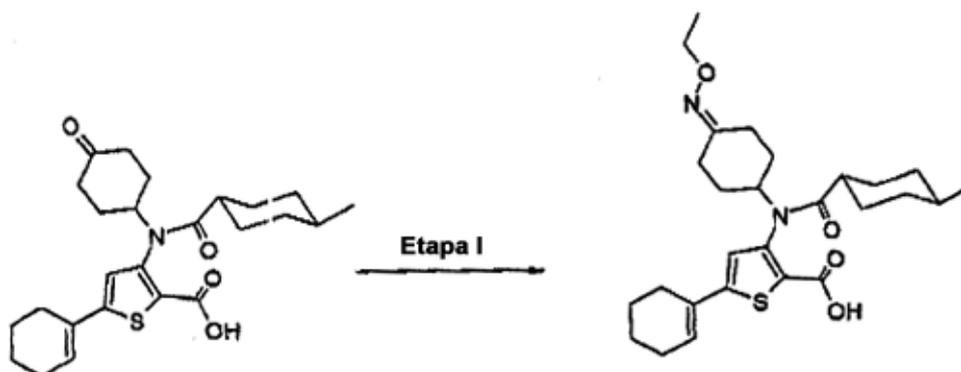
25

ciclohexanocarbonil)-amino]-ciclohexílico del ácido morfolin-trans-4-carboxílico.  
Etapa II:

Se aplicó el mismo procedimiento según el Ejemplo 3, etapa VIII.

5 Ejemplo 29 (compuesto no de acuerdo con la invención)

Ácido 5-ciclohex-1-enil-3-[(4-etiloxiimino-ciclohexil-trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-amino]-tiofen-2-carboxílico (compuesto #54)



Etapa I:

10 A una solución de ácido 5-ciclohex-1-enil-3-[(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-(4-oxo-ciclohexil)-amino]-tiofen-2-carboxílico (0,055 g, 0,12 mmol) en 1 ml de H<sub>2</sub>O/EtOH (2:1) se le añadió clorhidrato de etoxiamina (0,024 g, 0,24 mmol) y acetato de sodio (0,032 g, 0,24 mmol). Se agitó la mezcla de reacción a temperatura ambiente durante 24 h y se trató con agua.

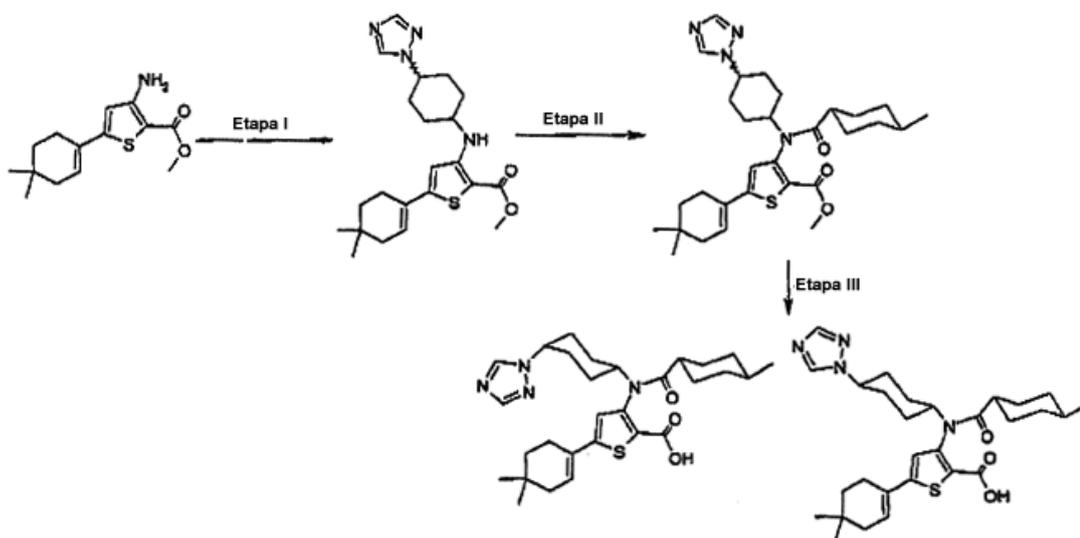
15 Se extrajo la capa acuosa con CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (3 x) y se secó la capa orgánica con sulfato de sodio, se filtró y se concentró a presión reducida. Se purificó el residuo por HPLC para obtener ácido 5-ciclohex-1-enil-3-[(4-etiloxiimino-ciclohexil)-(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-amino]-tiofen-2-carboxílico (0,015 g, 26%).

20

Ejemplo 30 (compuesto no de acuerdo con la invención)

Clorhidrato de ácido 5-(4,4-dimetil-ciclohex-1-enil)-3-[(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-(cis-4-[1,2,4]triazol-1-il-ciclohexil)-amino]-tiofen-2-carboxílico (compuesto #94) y clorhidrato de ácido 5-(4,4-dimetil-ciclohex-1-enil)-3-[(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-(trans-4-(1,2,4]triazol-1-il-ciclohexil)-amino]-tiofen-2-carboxílico (compuesto #95)

25



#### Etapa I:

Se realizó aminación reductiva de éster metílico del ácido 3-amino-5-(4,4-dimetil-ciclohex-1-enil)-tiofen-2-carboxílico (0,630 g, 2,37 mmol) y 5 [1,2,4]triazol-1-il-heptan-2-ona (0,560 g, 3,39 mmol) en las mismas condiciones descritas anteriormente (ejemplo 3, etapa I) usando dicloruro de dibutilestaño y fenilsilano para proporcionar éster metílico del ácido 5-(4,4-dimetil-ciclohex-1-enil)-3-(trans-4-[1,2,4]triazol-1-il-ciclohexilamino)-tiofen-2-carboxílico (0,800 g, 64%).

#### 10 Etapa II:

Se aciló éster metílico del ácido 5-(4,4-dimetil-ciclohex-1-enil)-3-(4-[1,2,4]triazol-1-il-ciclohexilamino)-tiofen-2-carboxílico (0,800 g, 2 mmol) con cloruro de ácido trans-4-metilciclohexil-carboxílico tal como se describe anteriormente (ejemplo 1, etapa II) para proporcionar éster metílico del ácido 5-(4,4-dimetil-ciclohex-1-enil)-3-[(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-(4-[1,2,4]triazol-1-il-ciclohexil)-amino]-tiofen-2-carboxílico (0,640 g, 60%).

#### Etapa III:

Se hidrolizó éster metílico del ácido 5-(4,4-dimetil-ciclohex-1-enil)-3-[(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-(4-[1,2,4]triazol-1-il-ciclohexil)-amino]-tiofen-2-carboxílico (0,073 g, 0,13 mmol) con hidróxido de litio tal como se describe anteriormente (ejemplo 3, etapa VIII) para proporcionar después de purificación por HPLC el isómero puro de clorhidrato de ácido 5-(4,4-dimetil-ciclohex-1-enil)-3-[(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-(cis-4-[1,2,4]triazol-1-il-

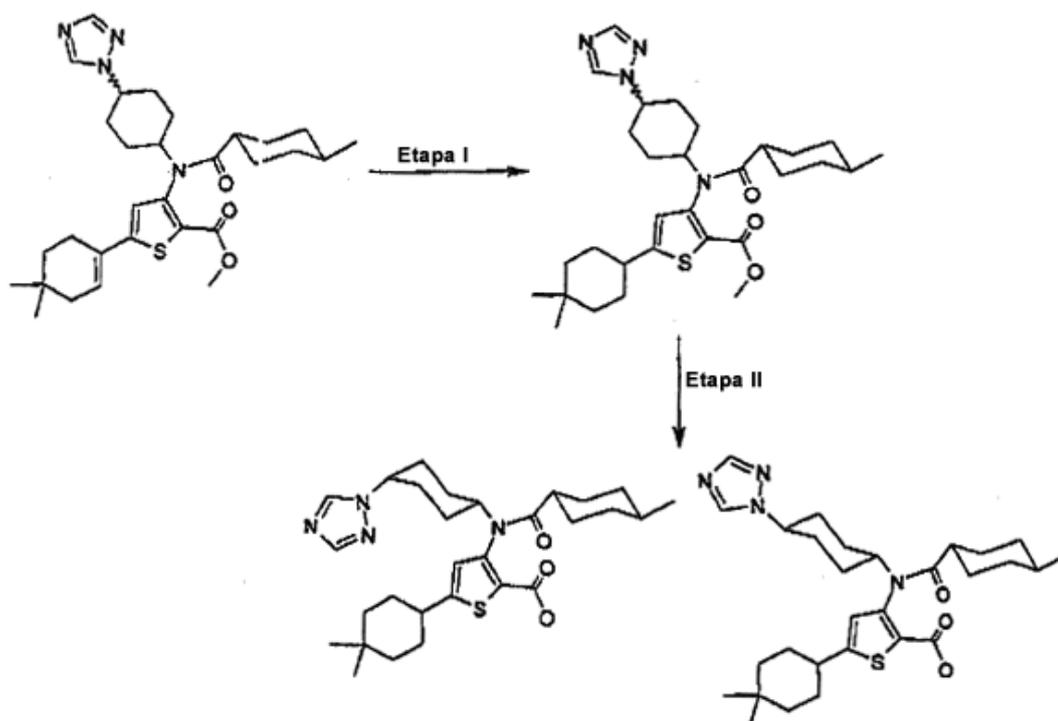
ciclohexil)-amino]-tiofen-2-carboxílico, compuesto #94 (0,0024 g, 4%) y clorhidrato de ácido 5-(4,4-dimetil-ciclohex-1-enil)-3-[(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-(trans-4-[1,2,4]triazol-1-il-ciclohexil)-amino]-tiofen-2-carboxílico, compuesto #95 (0,005 g, 8%).

5

Ejemplo 31 (compuesto no de acuerdo con la invención)

Clorhidrato de ácido 5-(4,4-dimetil-ciclohexil)-3-[(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-(cis-4-[1,2,4]triazol-1-il-ciclohexil)-amino]-tiofen-2-carboxílico (compuesto #117) y clorhidrato de ácido 5-(4,4-dimetil-ciclohexil)-3-[(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-(trans-4-[1,2,4]triazol-1-il-ciclohexil)-amino]-tiofen-2-carboxílico (compuesto #118)

10



Etapa I:

A una solución de éster metílico del ácido 5-(4,4-dimetil-ciclohex-1-enil)-3-[(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-(4-[1,2,4]triazol-1-il-ciclohexil)-amino]-tiofen-2-carboxílico (0,472 g, 0,88 mmol) en ácido acético (4,4 ml) se le añadió hidróxido de palacio al 20% en húmedo sobre carbón (0,141 g). La mezcla de reacción resultante se colocó en atmósfera de H<sub>2</sub>, se agitó a temperatura ambiente durante 16 h, y a continuación se filtró a través de celita y se evaporó hasta sequedad para obtener éster metílico del ácido 5-(4,4-dimetilciclohexil)-3-

20

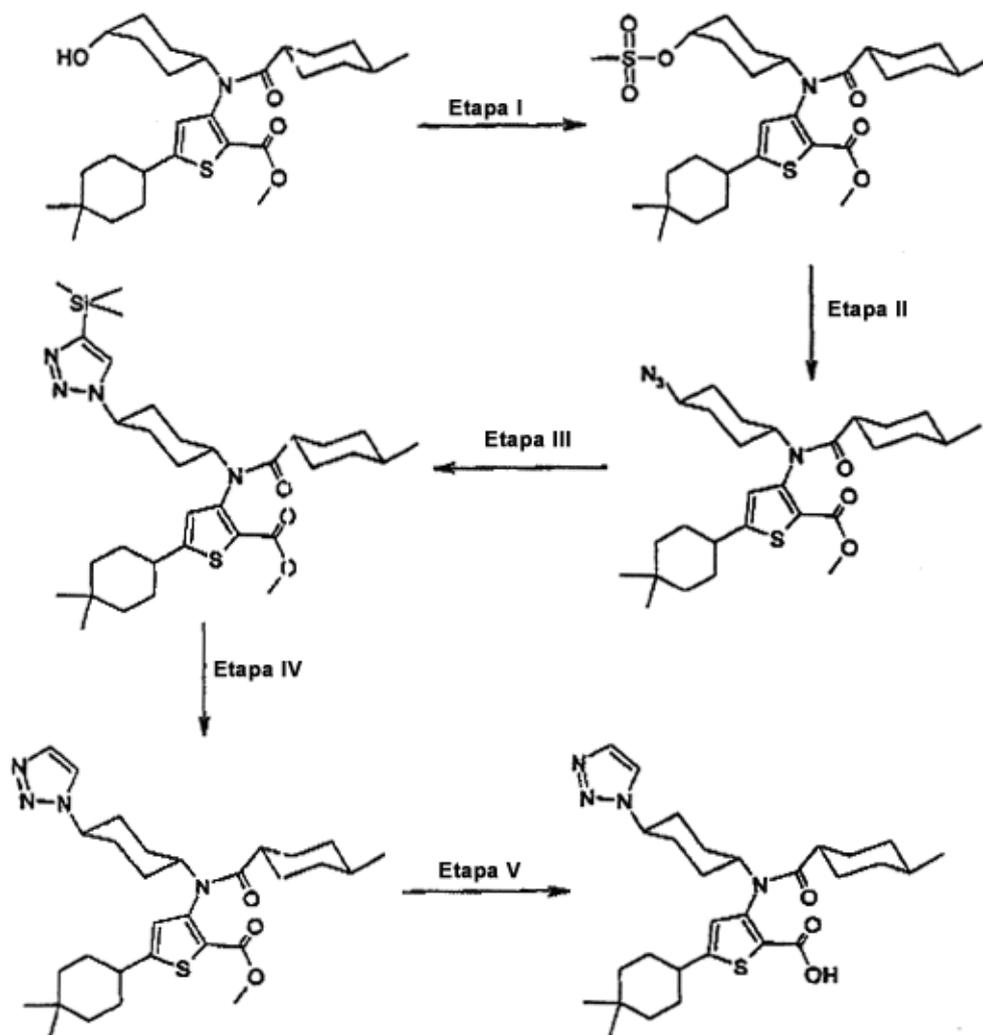
[(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-(4-[1,2,4]triazol-1-il-ciclohexil)-amino]-tiofen-2-carboxílico (0,470 g, 95%).

Etapa II:

Se hidrolizó éster metílico del ácido 5-(4,4-dimetil-ciclohexil)-3-[(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-(4[1,2,4]triazol-1-il-ciclohexil)-amino]-tiofen-2-carboxílico (0,470 g, 0,88 mmol) con hidróxido de litio tal como se describe anteriormente (ejemplo 3, etapa VIII) para proporcionar después de purificación por HPLC el isómero puro de clorhidrato de ácido 5-(4,4-dimetil-ciclohexil)-3-[(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-(cis-4-[1,2,4]triazol-1-il-ciclohexil)-amino]-tiofen-2-carboxílico (0,011 g, 2,4%) y clorhidrato de ácido 5-(4,4-dimetil-ciclohexil)-3-[(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-(trans-4-[1,2,4]triazol-1-il-ciclohexil)-amino]-tiofen-2-carboxílico (0,020 g, 4,3%).

Ejemplo 32 (compuesto no de acuerdo con la invención)

15 Clorhidrato de ácido 5-(4,4-dimetil-ciclohexil)-3-[(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-(trans-4-[1,2,3]triazol-1-il-ciclohexil)-amino]-tiofen-2-carboxílico (compuesto #135)



## Etapa I:

A una solución de éster metílico del ácido 5-(4,4-dimetil-ciclohexil)-3-  
 [(cis-4-hidroxi-ciclohexil)-(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-amino]-tiofen-2-  
 5 carboxílico (2,25 g, 4,60 mmol) en 23 ml de  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  se le añadió a  $0^\circ\text{C}$  cloruro  
 de metanosulfonilo (1,05 g, 9,20 mmol) seguido por trietilamina (1,28 ml, 9,20  
 mmol). Se agitó la mezcla de reacción a temperatura ambiente durante 24 h y  
 se trató con agua. Se extrajo la capa acuosa con acetato de etilo y se lavó la  
 capa orgánica con agua y salmuera. Se secó la capa orgánica con sulfato de  
 10 sodio, se filtró y se concentró a presión reducida para proporcionar éster  
 metílico del ácido 5-(4,4-dimetil-ciclohexil)-3-[(cis-4-metanosulfonilo-oxi-  
 ciclohexil)-(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-amino]-tiofen-2-carboxílico (2,56

g, 98%)

Etapa II:

A una solución de éster metílico del ácido 5-(4,4-dimetil-ciclohexil)-3-  
 [(cis-4-metanosulfoniloxi-ciclohexil)-(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-amino]-  
 5 tiofen-2-carboxílico (2,56 g, 4,50 mmol) en 30 ml de DMF se le añadió azida de  
 sodio (1,5 g, 23 mmol). Se agitó la mezcla de reacción durante 48 h a 50°C. Se  
 diluyó la mezcla con éter dietílico y se lavó 3 veces con agua y 1 vez con  
 salmuera. Se secó la capa orgánica con sulfato de sodio, se filtró y se  
 concentró a presión reducida. Se purificó el residuo por cromatografía en  
 10 columna sobre gel de sílice (acetato de etilo/hexano al 20% a acetato de etilo al  
 100% seguido por MeOH/CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> al 10%) para proporcionar éster metílico del  
 ácido 3-[(trans-4-azido-ciclohexil)-(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-amino]-5-  
 (4,4-dimetil-ciclohexil)-tiofen-2-carboxílico (1,6 g, 69%).

Etapa III:

15 Una solución de éster metílico del ácido 3-[(trans-4-azido-ciclohexil)-  
 (trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-amino]-5-(4,4-dimetil-ciclohexil)-tiofen-2-  
 carboxílico (0,90 g, 1,7 mmol) en trimetilsililacetileno (1,2 ml, 6,8 mmol) se trató  
 en microondas a 120°C durante 2 h. Se concentró la mezcla a presión reducida  
 y se purificó el residuo por cromatografía en columna sobre gel de sílice  
 20 (MeOH/CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> al 1% a MeOH/CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> al 10%) para obtener éster metílico del  
 ácido 5-(4,4-dimetil-ciclohexil)-3-[(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-[trans-4-(4-  
 trimetilsilanil-[1,2,3]triazol-1-il)-ciclohexil]-amino]-tiofen-2-carboxílico (1,1 g,  
 58%)

Etapa IV:

25 A una solución de éster metílico del ácido 5-(4,4-dimetil-ciclohexil)-3-  
 [(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-[trans-4-(4-trimetilsilanil-[1,2,3]triazol-1-  
 il)ciclohexil]-amino]-tiofen-2-carboxílico (1,1 g, 1,8 mmol) en THF (4,4 ml) se le  
 añadió TBAF 1,0 M en THF (0,270 ml, 2,70 mmol). Se agitó la mezcla de  
 reacción durante 24 h y se trató con agua y solución saturada de cloruro de  
 30 amonio. Se extrajo la capa acuosa con acetato de etilo. Se lavó la capa  
 orgánica con salmuera, se secó con sulfato de sodio, se filtró y se concentró a  
 presión reducida. Se purificó el residuo por cromatografía en columna sobre gel  
 de sílice (acetato de etilo/hexano al 50% a acetato de etilo al 100%) para  
 proporcionar éster metílico del ácido 5-(4,4-dimetil-ciclohexil)-3-[(trans-4-metil-  
 35 ciclohexanocarbonil)-(trans-4-[1,2,3]triazol-1-il-ciclohexil)-amino]-tiofen-2-

carboxílico (0,534 g, 55%).

Etapa V:

Se hidrolizó éster metílico del ácido 5-(4,4-dimetil-ciclohexil)-3-[(trans-4-metil-ciclohexanocarboxil)-(trans-4-[1,2,3]triazol-1-il-ciclohexil)-amino]-tiofen-2-carboxílico (0,53 g, 0,99 mmol) con hidróxido de litio tal como se describe anteriormente (ejemplo 3, etapa VIII) para proporcionar sin ninguna purificación clorhidrato del ácido 5-(4,4-dimetil-ciclohexil)-3-[(trans-4-metil-ciclohexanocarboxil)-(trans-4-[1,2,3]triazol-1-il-ciclohexil)-amino]-tiofen-2-carboxílico (0,48 g, 95%).

10

Ejemplo 33 (compuesto no de acuerdo con la invención)

Ácido 5-ciclohex-1-enil-3-[(trans, 4-metil-ciclohexanocarboxil)-piperidin-4-il-amino]-tiofen-2-carboxílico (compuesto #107)

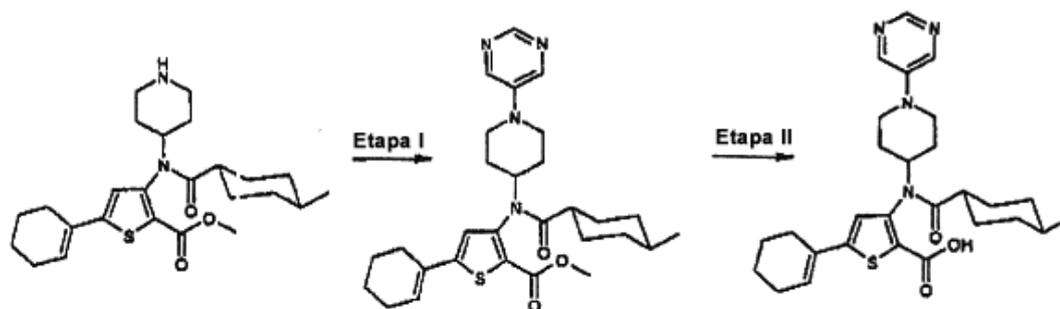


15

La Etapa I se aplicó según el Ejemplo 3, etapa VIII.

Ejemplo 34 (compuesto no de acuerdo con la invención)

Ácido 5-ciclohex-1-enil-3-[(trans,4-metil-ciclohexanocarboxil)-(1-pirimidin-5-il-piperidin-4-il)-amino]-tiofen-2-carboxílico (Compuesto #96)



20

## Etapa I:

A una solución de tris(dibencilidenacetona)dipaladio ( $\text{Pd}_2(\text{dba})_3$ ) (10 mg, 0,01 mmol, 5% en moles) y rac 2,2'bis(difenilfosfonio)1,1'-binaftil (BINAP) (6,8 mg, 0,01 mmol) en tolueno en seco (9 ml) a temperatura ambiente, bajo nitrógeno, se le añadió una mezcla sólida de éster metílico del ácido 5-ciclohex-1-enil-3-[(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-piperidin-4-il-amino]tiofen-2-carboxílico (100 mg, 0,22 mmol) y 5-bromo-1,3-pirimidina (143 mg, 0,89 mmol) y carbonato de cesio (79 mg, 0,24 mmol). La mezcla parda y sucia resultante se calentó a 110°C durante 19,5 h. Se despojó la mezcla de reacción del disolvente y se disolvió el residuo en EtOAc y se lavó con agua y salmuera, se secó y se evaporó en una espuma parda (123 mg). Se purificó el material en bruto por cromatografía usando  $\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{CH}_3\text{CN}:\text{MeOH} = 3:1:0,1$  como eluyente para proporcionar éster metílico del ácido 5-ciclohex-1-enil-3-[(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-(1-pirimidin-5-il-piperidin-4-il)-amino]tiofen-2-carboxílico (65 mg, 57%).

## Etapa II:

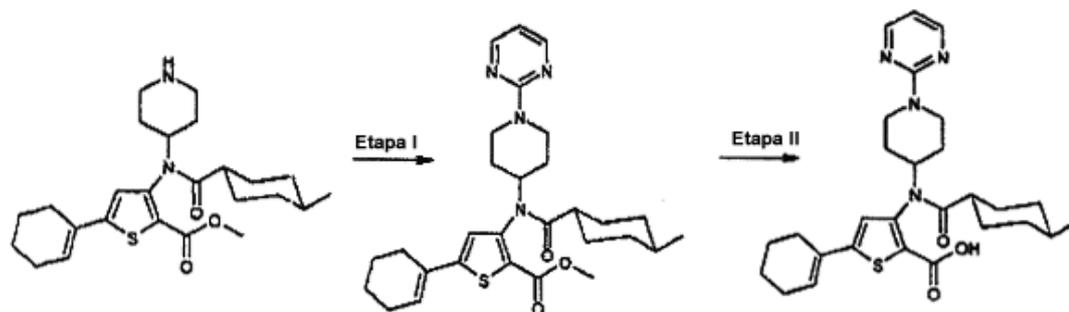
A una solución de éster metílico del ácido 5-ciclohex-1-enil-3-[(4-metil-ciclohexanocarbonil)-(1-pirimidin-5-il-piperidin-4-il)-amino]tiofen-2-carboxílico (45 mg, 0,09 mmol) en dioxano:agua = 4:1, 1 ml) se le añadió hidróxido de litio sólido (11 mg, 0,26 mmol) en una parte. La solución se agitó a 21°C durante 25 h y a continuación se despojó del disolvente y se tomó el residuo en agua (2 ml), se enfrió a 0°C y se acidificó lentamente a pH 1,5 con HCl 6 N. Se filtró el precipitado amarillo claro resultante, se lavó con agua (3 ml) y éter y se secó al vacío para proporcionar el ácido 5-ciclohex-1-enil-3-[(trans, 4-metil-ciclohexanocarbonil)-(1-pirimidin-5-il-piperidin-4-il)-amino]tiofen-2-carboxílico en forma de un sólido amarillo claro (35 mg, 79%)

Usando esencialmente el mismo procedimiento descrito anteriormente pueden prepararse los siguientes compuestos:

Ácido 5-ciclohex-1-enil-3-[(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-(1-fenil-piperidin-4-il)-amino]tiofen-2-carboxílico (compuesto #127)

Ejemplo 35 (compuesto no de acuerdo con la invención)

Ácido 5-ciclohex-1-enil-3-[(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-(1-pirimidin-2-il-piperidin-4-il)-amino]tiofen-2-carboxílico (compuesto #103)



#### Etapa 1:

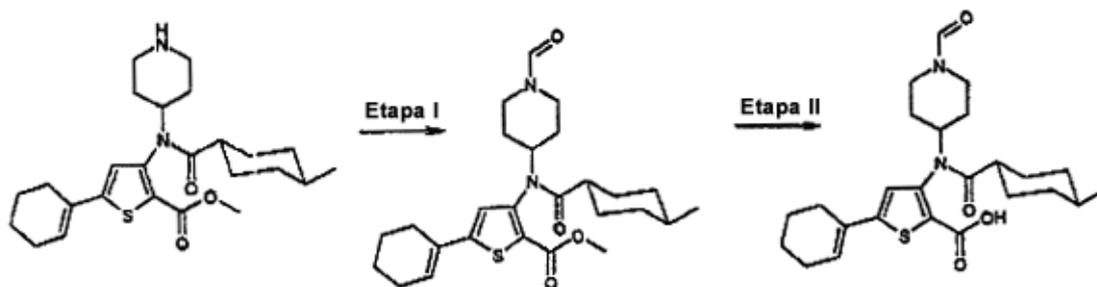
Una solución de  $\text{Pd}_2(\text{dba})_3$  (6 mg, 0,01 mmol, 3% en moles) y 2-diciclohexilfosfino-2'-(N,N-dimetilamino)bifenilo (3,4 mg, 0,01 mmol, 4,5% en moles) en tolueno en seco (4,6 ml) a 21°C bajo nitrógeno se le añadió una mezcla de 2-bromo-1,2-pirimidina (107 mg, 0,68 mmol), éster metílico del ácido 5-ciclohex-1-enil-3-[(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-piperidin-4-il-amino]tiofen-2-carboxílico (100 mg, 0,22 mmol) y carbonato de cesio (80 mg, 0,25 mmol). La mezcla verde sucia resultante se agitó a 21°C durante 64 h. La mezcla de reacción verde opaca sucia se despojó del disolvente y el residuo se tomó en EtOAc y se lavó con agua, salmuera seca ( $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ) y se evaporó hasta formar una goma (136 mg). Se purificó el material en bruto por cromatografía en columna usando cloruro de metileno:acetonitrilo:metanol = 9:1:0,1 como eluyente para proporcionar éster metílico del ácido 5-ciclohex-1-enil-3-[(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-(1-pirimidin-2-il-piperidin-4-il)-amino]tiofen-2-carboxílico en forma de una espuma amarilla clara (58 mg, 49%).

#### Etapa II:

Se hidrolizó el éster metílico del ácido 5-ciclohex-1-enil-3-[(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-(1-pirimidin-2-il-piperidin-4-il)-amino]tiofen-2-carboxílico con hidróxido de litio según se describe anteriormente (ejemplo 3, etapa VIII) para proporcionar el compuesto #103 del título.

#### Ejemplo 36 (compuesto no de acuerdo con la invención)

Ácido 5-ciclohex-1-enil-3-[(1-formil-piperidin-4-il)-(trans-4-metilciclohexanocarbonil)-amino]tiofen-2-carboxílico (compuesto #98)



#### Etapa I:

Una solución de éster metílico del ácido 5-ciclohex-1-enil-3-[(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-piperidin-4-il-amino]tiofen-2-carboxílico (100 mg, 0,22 mmol) en formato de etilo (1,5 ml) bajo nitrógeno, se colocó en un baño a 65°C durante 20 h después de lo cual se añadió 1,2-dicloroetano (2,5 ml) y otra parte de formato de etilo (2 ml). La temperatura del baño se elevó a 95°C y la reacción se sometió a reflujo durante 21 h más. La TLC mostró una conversión del 80% aprox. La reacción se despojó del disolvente y se purificó el residuo por cromatografía en columna usando cloruro de metileno:acetonitrilo:metanol = 9:1:0,1 como eluyente para proporcionar éster metílico del ácido 5-ciclohex-1-enil-3-[(1-formil-piperidin-4-il)-(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-amino]-tiofen-2-carboxílico (42 mg, 41%)

#### Etapa II:

Se hidrolizó éster metílico del ácido 5-ciclohex-1-enil-3-[(1-formil-piperidin-4-il)-(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-amino]-tiofen-2-carboxílico con hidróxido de litio según los procedimientos descritos anteriormente (ejemplo 3, etapa VIII) para proporcionar el compuesto del título.

#### 20 Ejemplo 37 (compuesto no de acuerdo con la invención)

#### Ácido 5-ciclohex-1-enil-3-[(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-(1-piridin-3-ilmetil-piperidin-4-il)-amino]-tiofen-2-carboxílico (compuesto #121)

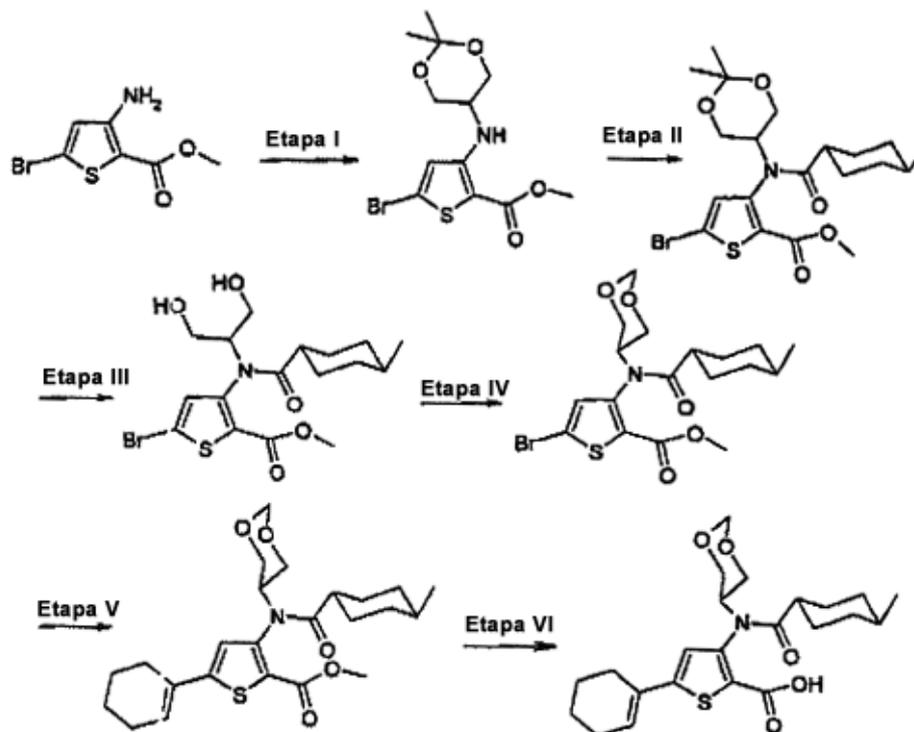
La alquilación de éster metílico del ácido 5-ciclohex-1-enil-3-[(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-piperidin-4-il-amino]-tiofen-2-carboxílico con 3-bromometilpiridina y la posterior hidrólisis del éster derivado produjo el compuesto del título compuesto #121

Usando esencialmente el mismo procedimiento descrito anteriormente pueden prepararse los siguientes compuestos:

Ácido 3-[(1-ciano-piperidin-4-il)-(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-amino]-5-ciclohex-1-enil-tiofen-2-carboxílico, compuesto #102

Ejemplo 38 (compuesto no de acuerdo con la invención)

5 Ácido 5-ciclohex-1-enil-3-[[1,3]dioxan-5-il-(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-amino]-tiofen-2-carboxílico (compuesto #30)



Etapa I:

Una suspensión de éster metílico del ácido 3-amino-5-bromo-tiofen-2-carboxílico (0,5 g, 2,12 mmol) en THF en seco (0,6 ml) se trató con 2,2-dimetil-10 [1,3]dioxan-5-ona (253  $\mu$ t, 2,12 mmol), seguido por dicloruro de dibutilestaño (32 mg, 0,11 mmol). Después de 5 min se añadió fenilsilano (280  $\mu$ l, 2,27 mmol) y se agitó la reacción a temperatura ambiente durante 3 días. Se disolvió en acetato de etilo (100 ml), se lavó con solución de  $\text{NaHCO}_3$  y salmuera. Se separó la capa orgánica, se secó sobre  $\text{MgSO}_4$ , se evaporó y se dejó en una 15 bomba de vacío durante toda la noche. Se trituro el residuo con mezcla de hexano-éter (4:1) (2x 100 ml). Se evaporó la parte soluble y se purificó por cromatografía sobre gel de sílice (hexano:acetato de etilo - 95:5) para producir éster metílico del ácido 5-bromo-3-(2,2-dimetil-[1,3]dioxan-5-ilamino)-tiofen-2- 20 carboxílico puro (220 mg, 29%).

## Etapa II:

Se añadió cloruro de oxalilo (2 M en DCM, 2,7 ml) gota a gota a una suspensión del ácido trans-4-metilciclohexil-carboxílico (365 mg, 2,57 mmol) en DCM y una gota de DMF. Se agitó la mezcla a temperatura ambiente durante 3 h y se evaporó. Se añadió hexano (4 ml) y se evaporó la mezcla. Se repitió una vez más. Se diluyó el residuo con tolueno en seco (2,3 ml) (el volumen total pasó a ser de 2,7 ml) y se usó para la etapa siguiente.

A una mezcla de éster metílico del ácido 5-bromo-3-(2,2-dimetil-[1,3]dioxan-5-ilamino)-tiofen-2-carboxílico (200 mg, 0,57 mmol) en tolueno (1 ml) y piridina (100  $\mu$ l, 1,23 mmol), se añadió cloruro ácido en tolueno preparado anteriormente (1,1 ml, 1,05 mmol). La mezcla de reacción se sometió a reflujo durante 16 h. La TLC mostró la presencia de material de partida. Se añadieron piridina (50  $\mu$ l, 0,62 mmol) y cloruro ácido en tolueno (0,5 ml, 0,47 mmol) y se mantuvo el reflujo durante 24 h. Se enfrió la mezcla a 5°C. Se añadieron tolueno (2 ml) y piridina (0,2 ml). Después de agitación durante 5 min se añadió MeOH (0,5 ml) y se agitó la mezcla durante 10 min. Se diluyó con acetato de etilo, se lavó con NaHCO<sub>3</sub> saturado y salmuera, se secó y se evaporó. Se cromatografió la mezcla de reacción en bruto sobre gel de sílice (mezclas de hexano-acetato de etilo como eluyentes) para producir éster metílico del ácido 5-bromo-3-[(2,2-dimetil-[1,3]dioxan-5-il)-(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-amino]-tiofen-2-carboxílico (35 mg) contaminado con una pequeña impureza. Este material se usó para la etapa siguiente.

## Etapa III:

Una mezcla de éster metílico del ácido 5-bromo-3-[(2,2-dimetil-[1,3]dioxan-5-il)-(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-amino]-tiofen-2-carboxílico (35 mg) contaminada con una pequeña impureza en THF (1,1 ml) y HCl 3 N (0,75 ml) se agitó a temperatura ambiente durante 16 h. Se neutralizó con NaHCO<sub>3</sub> sólido y se evaporó hasta sequedad. Se trituró el residuo con acetato de etilo (3 x 8 ml). Se combinaron los extractos de acetato de etilo, se evaporó y se cromatografió sobre gel de sílice (hexano:EtOAc - 1:1) para producir éster metílico del ácido 5-bromo-3-[(2-hidroxi-1-hidroximetil-etil)-(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-amino]-tiofen-2-carboxílico puro (18 mg; 7,2% en dos etapas).

## Etapa IV:

Una mezcla de éster metílico del ácido 5-bromo-3-[(2-hidroxi-1-

hidroximetil-etil)-(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-amino]-tiofen-2-carboxílico (18 mg, 0,041 mmol), paraformaldehído (6 mg) y trifluoruro de boro-eterato dietílico (15  $\mu$ l, 0,12 mmol) en dioxano en seco (0,6 ml) se agitó a 80°C durante 14 min. Se enfrió y se añadió a una mezcla de hielo y solución de NaHCO<sub>3</sub>, se  
 5 extrajo con acetato de etilo, se lavó con salmuera, se secó y se evaporó. El éster metílico del ácido 5-bromo-3-[[1,3]dioxan-5-il-(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-amino]-tiofen-2-carboxílico puro se obtuvo después de cromatografía sobre gel de sílice (hexano:acetato de etilo - 9:1 como eluyente) (15 mg; 81%).

10 Etapa V:

Se hizo burbujear nitrógeno a través de una solución de éster metílico del ácido 5-bromo-3-[[1,3]dioxan-5-il-(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-amino]-tiofen-2-carboxílico (15 mg, 0,034 mmol) que contenía ácido ciclohexen-1-il-borónico (8 mg, 0,063 mmol) en Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> acuoso 2 M (0,9 ml) y DME (1,8 ml)  
 15 durante 10 min. Se añadió Pd(PPh<sub>3</sub>)<sub>4</sub> (3 mg) y se sometió la mezcla a reflujo durante 1 h 10 min. Se enfrió, se diluyó con acetato de etilo (50 ml), se lavó con agua y salmuera, se secó y se evaporó para producir el éster metílico del ácido 5-ciclohex-1-enil-3-[[1,3]dioxan-5-il-(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-amino]-tiofen-2-carboxílico en bruto (24 mg) que se usó en la etapa siguiente sin  
 20 purificación adicional.

Etapa VI:

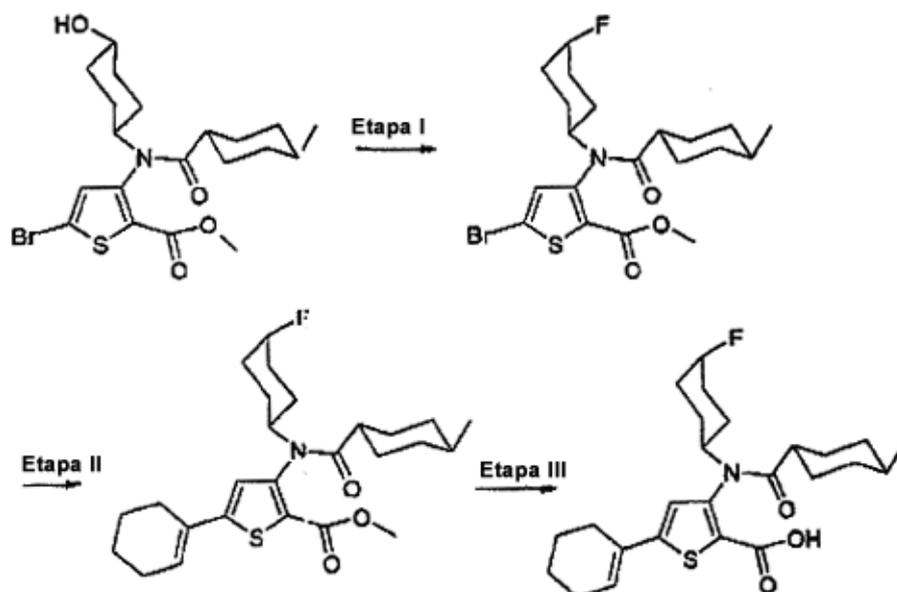
El éster metílico del ácido 5-ciclohex-1-enil-3-[[1,3]dioxan-5-il-(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-amino]-tiofen-2-carboxílico en bruto (24 mg) se disolvió en una mezcla de THF, MeOH y H<sub>2</sub>O (3:2:1) (1,8 ml) y se añadió LiOH  
 25 1 N (0,15 ml). El resto del procedimiento se ha descrito anteriormente (ejemplo 3, etapa VIII). Se obtuvo ácido 5-ciclohex-1-enil-3-[[1,3]dioxan-5-il-(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-amino]-tiofen-2-carboxílico puro por HPLC preparatoria.

Usando esencialmente el mismo procedimiento descrito anteriormente  
 30 pueden prepararse los siguientes compuestos:

Ácido 5-ciclohex-1-enil-3-[(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-(2-metil-  
 [1,3]dioxan-5-il)-amino]-tiofen-2-carboxílico (compuesto #36)

Ejemplo 39 (compuesto no de acuerdo con la invención)

35 Ácido 5-ciclohex-1-enil-3-[(cis-4-fluoro-ciclohexil)-(trans-4-metil-

ciclohexanocarbonil)-amino]-tiofen-2-carboxílico (compuesto #57)

## Etapa I:

A una solución de trifluoruro de (dietilamino)azufre (0,24 ml, 1,82 mmol) en DCM (2,7 ml) se le añadió piridina (0,27 ml, 3,34 mmol) seguido de adición gota a gota de éster metílico del ácido 5-bromo-3-[(trans-4-hidroxi-ciclohexil)-(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-amino]-tiofen-2-carboxílico (150 mg, 0,32 mmol) en DCM (2,0 ml) durante 10 min. Se agitó la mezcla durante 16 h a temperatura ambiente. Se enfrió en baño de hielo y se añadió NaHCO<sub>3</sub> saturada lentamente para neutralizar el exceso de reactivo. Se agitó la mezcla a temperatura ambiente durante 3 h. Se extrajo con DCM (100 ml), se lavó con salmuera, se secó (MgSO<sub>4</sub>) y se evaporó. Se cromatografió el producto en bruto sobre gel de sílice (hexano:EtOAc - 95:5 y 90:10 como eluyentes) para producir éster metílico del ácido 5-bromo-3-[(cis-4-fluoro-ciclohexil)-(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-amino]-tiofen-2-carboxílico (28 mg, 18%) y éster metílico del ácido 5-bromo-3-[(trans-4-fluoro-ciclohexil)-(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-amino]-tiofen-2-carboxílico puros (22 mg, 14%).

## Etapa II:

Se hizo burbujear nitrógeno a través de una solución de éster metílico del ácido 5-bromo-3-[(cis-4-fluoro-ciclohexil)-(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-amino]-tiofen-2-carboxílico (20 mg, 0,043 mmol) y ácido ciclohexen-1-il-

borónico (13 mg, 0,103 mmol) en Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 2 M (1,3 ml) y DME (2,6 ml) durante 6 min. Se añadió Pd(PPh<sub>3</sub>)<sub>4</sub> (4,4 mg) y se sometió la mezcla a reflujo durante 1 h y 30 min. Se enfrió, se diluyó con acetato de etilo, se lavó con agua y salmuera, se secó (MgSO<sub>4</sub>) y se evaporó. Se purificó el producto en bruto por  
 5 cromatografía sobre gel de sílice (hexano:EtOAc - 9:1 y 4:1 como eluyentes) para producir éster metílico del ácido 5-ciclohex-1-enil-3-[(cis-4-fluorociclohexil)-(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-amino]-tiofen-2-carboxílico puro (10 mg, 50%).

Etapa III:

10 Se disolvió éster metílico del ácido 5-ciclohex-1-enil-3-[(cis-4-fluorociclohexil)-(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-amino]-tiofen-2-carboxílico (10 mg, 0,021) en una mezcla de THF, MeOH y H<sub>2</sub>O (3:2:1) (2 ml) y se añadió LiOH 1 N (0,1 ml). El resto del procedimiento se ha descrito anteriormente (ejemplo 3, etapa VIII). Se obtuvo ácido 5-ciclohex-1-enil-3-[(cis-4-fluorociclohexil)-(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-amino]-tiofen-2-carboxílico puro  
 15 después de cromatografía sobre gel de sílice (MeOH al 5% en DCM como eluyente) (5 mg, 51%).

Usando esencialmente el mismo procedimiento descrito anteriormente pueden prepararse los siguientes compuestos:

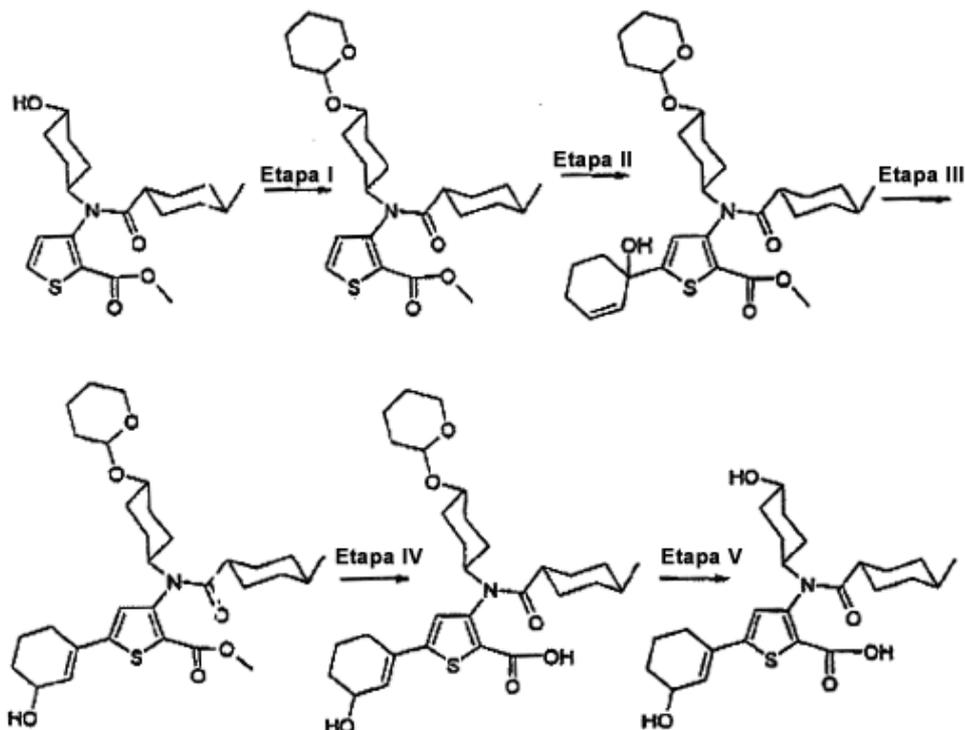
20 Ácido 5-ciclohex-1-enil-3-[(trans-4-fluorociclohexil)-(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-amino]-tiofen-2-carboxílico (compuesto #70)

Ácido 5-(4,4-dimetil-ciclohexil)-3-[(trans-4-fluorociclohexil)-(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-amino]-tiofen-2-carboxílico (compuesto #83)

25 El ácido 5-ciclohex-1-enil-3-[(4,4-difluoro-ciclohexil)-(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-amino]-tiofen-2-carboxílico (compuesto #91) puede prepararse a partir del éster metílico del ácido 5-bromo-3-[(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-(4-oxo-ciclohexil)-amino]-tiofen-2-carboxílico usando las etapas de síntesis descritas en el ejemplo 39.

30 Ejemplo 40 (compuesto no de acuerdo con la invención)

Ácido 5-(3-hidroxi-ciclohex-9-enil)-3-[(trans-4-hidroxi-ciclohexil)-(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-amino]-tiofen-2-carboxílico (compuesto #82)



#### Etapa I:

A una solución de éster metílico del ácido 3-[(trans-4-hidroxi-ciclohexil)-(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-amino]-tiofen-2-carboxílico (140 mg, 0,37 mmol) en DCM (4 ml) se le añadieron ácido p-toluensulfónico monohidratado (6 mg) y 3,4-dihidro-2H-pirano (38  $\mu$ l, 0,42 mmol) a temperatura ambiente. Después de agitación durante 1 h y 10 min se añadió  $\text{NaHCO}_3$  saturado. Se extrajo con DCM, se lavó con salmuera, se secó ( $\text{MgSO}_4$ ) y se evaporó. Se cromatografió el material en bruto sobre gel de sílice (prelavado con  $\text{Et}_3\text{N}$ ) (hexano:EtOAc - 9:1 como eluyente) para producir éster metílico del ácido 3-{(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-[trans-4-(tetrahidro-piran-2-iloxi)-ciclohexil]-amino}-tiofen-2-carboxílico puro (83 mg, 48%).

#### Etapa II:

A una mezcla de THF (0,5 ml) y diisopropilamina (31  $\mu$ l, 0,22 mmol) enfriada a  $-40^\circ\text{C}$  se añadió n-BuLi (1,3 M, 165  $\mu$ l, 0,21 mmol) gota a gota. Después de agitación a esta temperatura durante 30 min se enfrió a  $-78^\circ\text{C}$  y se añadió éster metílico del ácido 3-{(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-[trans-4-(tetrahidro-piran-2-iloxi)-ciclohexil]-amino}-tiofen-2-carboxílico (82 mg, 0,18 mmol) en THF (0,5 ml) gota a gota. Se agitó la mezcla a esta temperatura

durante 30 min. Se añadió ciclohex-2-enona (20  $\mu$ l, 0,21 mmol) rápidamente y se agitó durante 20 min a  $-78^{\circ}\text{C}$ . Se añadió solución saturada de  $\text{NH}_4\text{Cl}$  y se dejó que la mezcla se situara a temperatura ambiente. Se extrajo con EtOAc. Se lavó el extracto con salmuera, se secó ( $\text{MgSO}_4$ ) y se evaporó. Se obtuvo  
5 éster metílico del ácido 5-(1-hidroxi-ciclohex-2-enil)-3-{{(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-[trans-4-(tetrahydro-piran-2-iloxi)-ciclohexil]-amino}-tiefen-2-carboxílico puro después de cromatografía sobre gel de sílice (hexano:EtOAc - 80:20 como eluyente) (48 mg, 48%).

Etapa III:

10 Una solución de éster metílico del ácido 5-(1-hidroxi-ciclohex-2-enil)-3-{{(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-[trans-4-(tetrahydro-piran-2-iloxi)-ciclohexil]-amino}-tiefen-2-carboxílico (48 mg, 0,086 mmol) en DCM (1 ml) se enfrió a  $-50^{\circ}\text{C}$ . Se añadió trietilsilano (43  $\mu$ l, 0,27 mmol) seguido por adición gradual de ácido trifluoroacético (total 22  $\mu$ l, 0,28 mmol) (4  $\mu$ l a 6  $\mu$ l cada 30 min). Se agitó  
15 la mezcla a entre  $-40^{\circ}\text{C}$  y  $-50^{\circ}\text{C}$  durante 3,5 h. Se añadió  $\text{NaHCO}_3$  acuoso y se dejó que la mezcla se situara a temperatura ambiente. Se extrajo con DCM, se lavó con salmuera, se secó ( $\text{MgSO}_4$ ) y se evaporó. Se dejó el producto en bruto a temperatura ambiente durante 2 días y se purificó por cromatografía sobre gel de sílice (mezclas de hexano-EtOAc) para producir éster metílico del ácido  
20 5-(3-hidroxiciclohex-1-enil)-3-{{(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-[trans-4-(tetrahydro-piran-2-iloxi)-ciclohexil]-amino}-tiefen-2-carboxílico (22 mg, 45%).

Etapa IV:

Una mezcla de éster metílico del ácido 5-(3-hidroxi-ciclohex-1-enil)-3-{{(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-[trans-4-(tetrahydro-piran-2-iloxi)-  
25 ciclohexil]-amino}-tiefen-2-carboxílico (22 mg; 0,039 mmol) en THF:MeOH:H<sub>2</sub>O (3:2:1) (2,5 ml) y LiOH 1 N (0,2 ml) se agitó a  $50^{\circ}\text{C}$  durante 4 h. Siguiendo el procedimiento descrito anteriormente (ejemplo 3, etapa VIII) se obtuvo ácido 5-(3-hidroxi-ciclohex-1-enil)-3-{{(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-[trans-4-(tetrahydro-piran-2-iloxi)-ciclohexil]-amino}-tiefen-2-carboxílico puro (10 mg,  
30 46%) por cromatografía sobre gel de sílice.

Etapa V:

Una solución de ácido 5-(3-hidroxi-ciclohex-1-enil)-3-{{(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-[trans-4-(tetrahydro-piran-2-iloxi)-ciclohexil]-amino}-tiefen-2-carboxílico (4 mg, 0,007 mmol) en ácido acético:THF:H<sub>2</sub>O (4:2:1) (0,7 ml) se  
35 agitó a  $45^{\circ}\text{C}$  durante 3,5 h. Se evaporó la mezcla hasta sequedad y se trituró

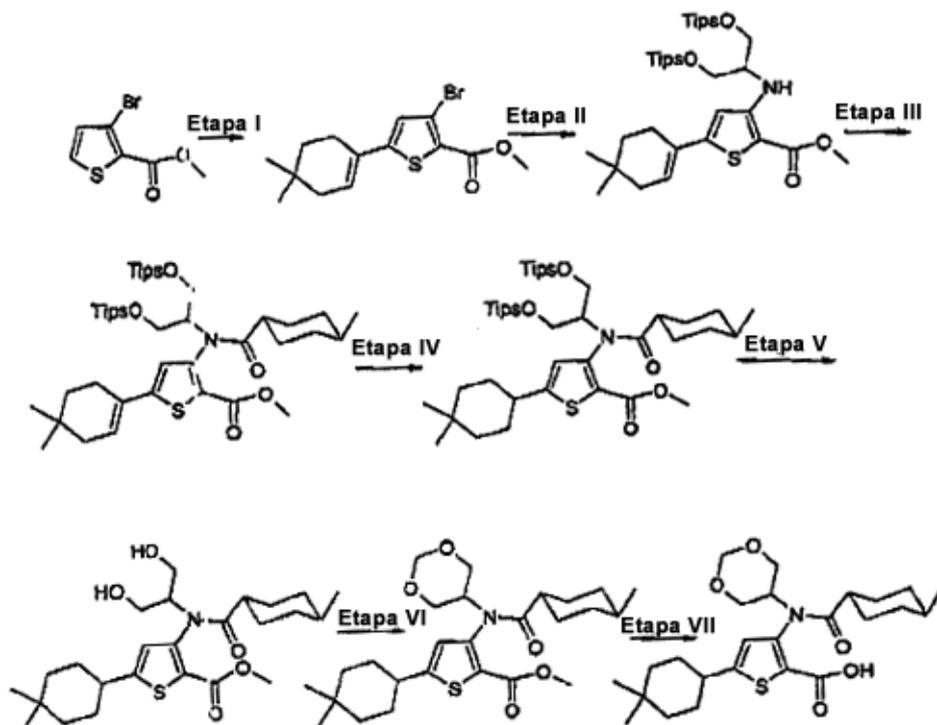
con  $\text{CHCl}_3$  y hexano para producir ácido 5-(3-hidroxi-ciclohex-1-enil)-3-[(trans-4-hidroxiciclohexil)-(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-amino]-tiofen-2-carboxílico (1,6 mg, 47%).

Usando esencialmente el mismo procedimiento descrito anteriormente pueden prepararse los siguientes compuestos:

Ácido 5(3-hidroxi-ciclohex-1-enil)-3-[(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-[trans-4-(tetrahidro-piran-2-iloxi)-ciclohexil]-amino]-tiofen-2-carboxílico (compuesto #55)

10 Ejemplo 41 (compuesto no de acuerdo con la invención)

Ácido 5-(4,4-dimetil-ciclohexil)-3-[[1,3]dioxan-5-il-(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-amino]-tiofen-2-carboxílico (compuesto #97)



Etapa I:

15 Se preparó éster metílico del ácido 3-bromo-5-(4,4-dimetil-ciclohex-1-enil)-tiofen-2-carboxílico a partir de éster metílico del ácido 3-bromo-tiofen-2-carboxílico siguiendo un procedimiento descrito anteriormente (ejemplo 3, etapas III y IV).

Etapa II:

20 Se hizo burbujear nitrógeno a través de una mezcla de 2-

triiisopropilsilaniloxi-1-triiisopropilsilaniloximetil-etilamina (preparado a partir de serinol usando cloruro de triisopropilsililo) (420 mg, 1,04 mmol) y éster metílico del ácido 3-bromo-5-(4,4-dimetil-ciclohex-1-enil)-tiofen-2-carboxílico (350 mg, 1,06 mmol) en dioxano (3,5 ml) que contenía CS<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (1 g, 3,07 mmol) y  
5 Pd<sub>2</sub>(dba)<sub>3</sub> (96 mg, 0,1 mmol) durante 6 min. Se añadió 2,2'-bis(difenilfosfino)-1,1'-binaftilo (105 mg, 0,17 mmol) y se agitó la mezcla a 80°C durante 24 h. Se diluyó con DCM, se filtró a través de celita y se evaporó. Se obtuvo éster metílico del ácido 5-(4,4-dimetil-ciclohex-1-enil)-3-(2-triiisopropilsilaniloxi-1-triiisopropilsilaniloximetil-etilamino)-tiofen-2-carboxílico por cromatografía sobre  
10 gel de sílice (hexano:EtOAc - 95:5) (500 mg, 72%).

Etapa III:

Se preparó éster metílico del ácido 5-(4,4-dimetil-ciclohex-1-enil)-3-  
[(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-(2-triiisopropilsilaniloxi-1-triiisopropilsitaniloximetil-etil)-amino]-tiofen-2-carboxílico a partir de éster  
15 metílico del ácido 5-(4,4-dimetil-ciclohex-1-enil)-3-(2-triiisopropilsilaniloxi-1-triiisopropilsilaniloximetil-etilamino)-tiofen-2-carboxílico siguiendo un procedimiento descrito anteriormente (ejemplo 38, etapa II).

Etapa IV:

Se hidrogenó éster metílico del ácido 5-(4,4-dimetil-ciclohex-1-enil)-3-  
20 [(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-(2-triiisopropilsilaniloxi-1-triiisopropilsilaniloximetil-etil)-amino]-tiofen-2-carboxílico con Pd/C al 10% según un procedimiento descrito (ejemplo 2).

Etapa V:

Una solución de éster metílico del ácido 3-[(1-diisopropilsilaniloximetil-2-  
25 triisopropilsilaniloxi-etil)-(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-amino]-5-(4,4-dimetil-ciclohexil)-tiofen-2-carboxílico (60 mg, 0,078 mmol) en THF (1 ml) se trató con HF-piridina (0,1 ml). Se agitó la mezcla a temperatura ambiente durante 16 h. Se diluyó la mezcla con EtOAc y se añadió a NaHCO<sub>3</sub> sólido. Se agitó a temperatura ambiente durante 2 h, se filtró y se evaporó. Se obtuvo  
30 éster metílico del ácido 5-(4,4-dimetilciclohexil)-3-[(2-hidroxi-1-hidroximetil-etil)-(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-amino]-tiofen-2-carboxílico puro en cromatografía sobre gel de sílice (EtOAc como eluyente) (32 mg, 89%).

Etapa VI:

Se preparó éster metílico del ácido 5-(4,4-dimetil-ciclohexil)-3-  
35 [[1,3]dioxan-5-il-(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-amino]-tiofen-2-carboxílico

a partir de éster metílico del ácido 5-(4,4-dimetil-ciclohexil)-3-[(2-hidroxi-1-hidroximetil-etil)-(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-amino]-tiofen-2-carboxílico usando paraformaldehído según un procedimiento descrito anteriormente (ejemplo 38, etapa IV).

5 Etapa VII:

Se preparó ácido 5-(4,4-dimetil-ciclohexil)-3-[[1,3]dioxan-5-il-(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-amino]-tiofen-2-carboxílico a partir de éster metílico del ácido 5-(4,4-dimetil-ciclohexil)-3-[[1,3]dioxan-5-il-(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-amino]-tiofen-2-carboxílico según un procedimiento  
10 descrito anteriormente (ejemplo 3, etapa VIII).

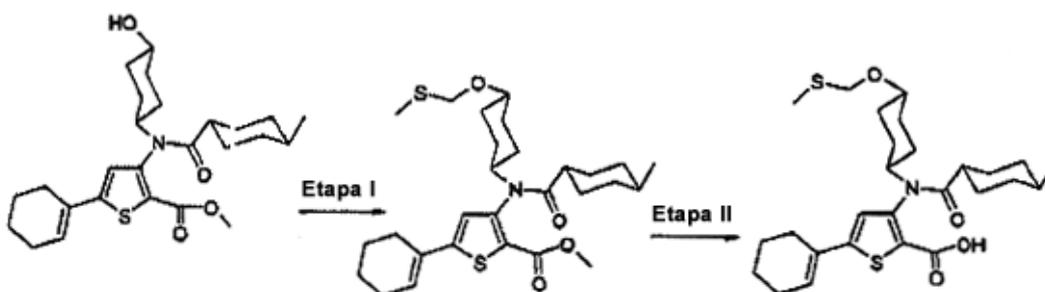
Usando esencialmente el mismo procedimiento descrito anteriormente pueden prepararse los siguientes compuestos:

Ácido 5-ciclohex-1-enil-3-[ciclopropil-(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-amino]-tiofen-2-carboxílico (compuesto #51)

15 Ácido 3-[benzo[1,3]dioxol-5-il-(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-amino]-5-ciclohex-1-enil-tiofen-2-carboxílico (compuesto #136)

Ejemplo 42 (compuesto no de acuerdo con la invención)

20 Ácido 5-ciclohex-1-enil-3-[(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-(trans-4-metilsulfanilmetoxi-ciclohexil)-amino]-tiofen-2-carboxílico (compuesto #142)



Etapa I:

A una solución de éster metílico del ácido 5-ciclohex-1-enil-3-[(trans-4-hidroxi-ciclohexil)-(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-amino]-tiofen-2-  
25 carboxílico (25 mg, 0,054 mmol) en DMSO (0,2 ml) se le añadió una mezcla de ácido acético y anhídrido acético (1:5,6) (0,17 ml). Después de agitación durante 1,5 h a temperatura ambiente se mantuvo a 40°C durante 5 h. Se enfrió a temperatura ambiente y se agitó durante 16 h. Se enfrió la mezcla en

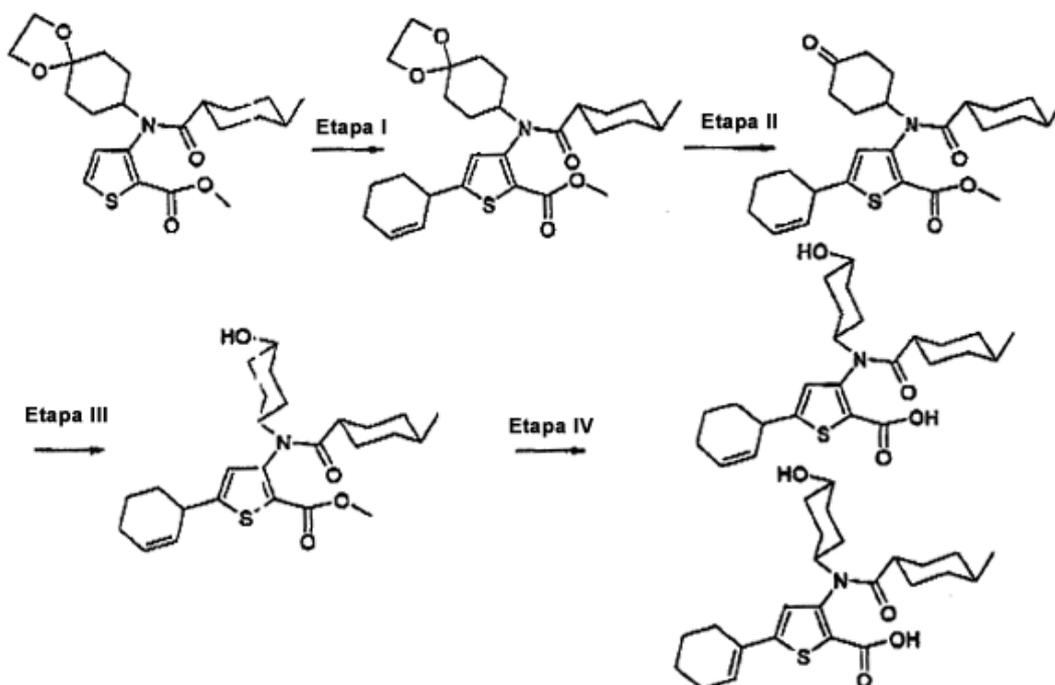
baño de hielo y se añadió solución de  $\text{NaHCO}_3$  cuidadosamente. Se extrajo con éter. Se lavó el extracto con agua y salmuera, se secó sobre  $\text{MgSO}_4$  y se evaporó. Se obtuvo éster metílico del ácido 5-ciclohex-1-enil-3-[(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-(trans-4-metilsulfanilmetoxi-ciclohexil)-amino]-tiofen-2-carboxílico puro por cromatografía sobre gel de sílice (hexano:EtOAc = 4:1) (22 mg, 77%).

Etapa II:

Se hidrolizó éster metílico del ácido 5-ciclohex-1-enil-3-[(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-(trans-4-metilsulfanilmetoxi-ciclohexil)-amino]-tiofen-2-carboxílico al ácido correspondiente según un procedimiento descrito anteriormente (ejemplo 3, etapa VIII).

Ejemplo 43 compuestos no de acuerdo con la invención)

15 Ácido 5-ciclohex-2-enil-3-[(trans-4-hidroxi-ciclohexil)-(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-amino]-tiofen-2-carboxílico (compuesto #146) y ácido 5-ciclohex-1-enil-3-[(trans-4-hidroxi-ciclohexil)-(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-amino]-tiofen-2-carboxílico (compuesto #4) como una mezcla 5:6



Etapa I:

20 En un matraz pequeño de base redonda se colocó THF (1,5 ml) seguido

por diisopropilamina (80  $\mu$ l, 0,57 mmol) y se enfrió la mezcla a  $-40^{\circ}\text{C}$ , se añadió n-BuLi (1,6 M, 0,34 ml, 0,54 mmol) gota a gota. Se agitó a esta temperatura durante 20 min. Se enfrió la mezcla a  $-78^{\circ}\text{C}$  y se añadió éster metílico del ácido 3-[(1,4-dioxa-espiro[4,5]dec-8-il)-(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-amino]-  
5 tioen-2-carboxílico (200 mg, 0,47 mmol) en THF (2 ml) gota a gota. Se continuó con la agitación a  $-78^{\circ}\text{C}$  durante 30 min. Se añadió tributil-borano (1 M en éter, 0,48 ml) y se dejó que la mezcla se situara a temperatura ambiente durante un periodo de 1 h. Esta solución se añadió a una suspensión de CuCN (47 mg) en THF (1 ml) enfriada a  $-30^{\circ}\text{C}$ . Se agitó la mezcla a esta temperatura  
10 durante 20 min. Se añadió 3-bromociclohexeno (90%, 60  $\mu$ l, 0,47 mmol) y se dejó que la mezcla se situara a temperatura ambiente lentamente. Se agitó a esta temperatura durante 16 h. Se enfrió la mezcla a  $0^{\circ}\text{C}$  y se añadió NaOH al 10% (0,8 ml) seguido por adición gota a gota de  $\text{H}_2\text{O}_2$  al 30% (0,27 ml). Se agitó la mezcla durante 10 min. Se diluyó con EtOAc, se lavó con agua y  
15 salmuera, se secó ( $\text{MgSO}_4$ ) y se evaporó. Se obtuvo éster metílico del ácido 5-ciclohex-2-enil-3-[(1,4-dioxa-espiro[4,5]dec-8-il)-(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-amino]-tioen-2-carboxílico puro en cromatografía sobre gel de sílice (hexano:EtOAc - 9:1, 4:1 y 7:3 como eluyentes) (153 mg, 64%).

Etapa II:

20 Una mezcla de éster metílico del ácido 5-ciclohex-2-enil-3-[(1,4-dioxa-espiro[4,5]dec-8-il)-(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-amino]-tioen-2-carboxílico (50 mg, 0,1 mmol) en DCM (4 ml), ácido trifluoroacético (0,4 ml) y agua (20  $\mu$ l) se agitó durante 16 h a temperatura ambiente. Se añadió ácido trifluoroacético (0,2 ml) y se agitó durante 3 h más. Se añadió solución saturada  
25 de  $\text{NaHCO}_3$  y se extrajo con DCM. Se lavó el extracto con salmuera, se secó sobre  $\text{MgSO}_4$  y se evaporó para producir éster metílico del ácido 5-ciclohex-2-enil-3-[(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-(4-oxo-ciclohexil)-amino]-tioen-2-carboxílico puro (40 mg) que se usó en la etapa siguiente.

Etapa III:

30 A una mezcla de éster metílico del ácido 5-ciclohex-2-enil-3-[(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-(4-oxo-ciclohexil)-amino]-tioen-2-carboxílico (40 mg) y MeOH (3 ml) enfriado a  $0^{\circ}\text{C}$  se le añadió  $\text{NaBH}_4$  (15 mg) en una parte. La reacción se completó en 5 min. Se añadió HCl (0,1 N, 0,5 ml) hasta que se convirtió en ácida. Se evaporó y a continuación se extrajo con DCM, se lavó  
35 con solución saturada de  $\text{NaHCO}_3$ , salmuera, se secó ( $\text{MgSO}_4$ ) y se evaporó.

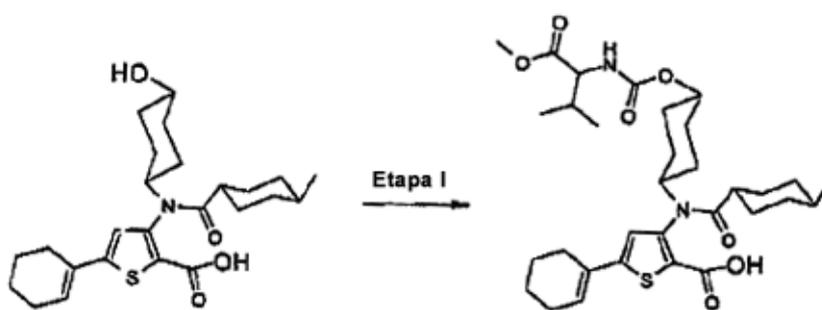
Se purificó el producto en bruto por cromatografía sobre gel de sílice (hexano:EtOAc - 1:1 como eluyente) para producir éster metílico del ácido 5-ciclohex-2-enil-3-[(trans-4-hidroxi-ciclohexil)-(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-amino]-tiofen-2-carboxílico puro (12 mg, 26%) en dos etapas.

5 Etapa IV:

A una solución de éster metílico del ácido 5-ciclohex-2-enil-3-[(trans-4-hidroxi-ciclohexil)-(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-amino]-tiofen-2-carboxílico (12 mg, 0,026 mmol) en una mezcla de THF:MeOH:H<sub>2</sub>O (3:2:1) (1,6 ml) se le añadió LiOH 1 N (0,1 ml). Se agitó la mezcla a 50°C durante 4,5 h. Se concentró la mezcla y se disolvió en agua. Se transfirió a un embudo de separación. Se añadió acetato de etilo seguido por adición de HCl 0,1 N (1 ml). El producto se extrajo en EtOAc. Se lavó el extracto con agua y salmuera, se secó (MgSO<sub>4</sub>) y se evaporó. Se cromatografió el producto en bruto sobre gel de sílice (DCM que contenía MeOH del 1 al 8% como eluyente) para producir una  
 10 mezcla 5:6 de ácido 5-ciclohex-2-enil-3-[(trans-4-hidroxi-ciclohexil)-(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-amino]-tiofen-2-carboxílico y ácido 5-ciclohex-1-enil-3-[(trans-4-hidroxi-ciclohexil)-(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-amino]-tiofen-2-carboxílico (4,5 mg).

20 Ejemplo 44 (compuesto no de acuerdo con la invención)

Ácido 5-ciclohex-1-enil-3-[(trans-4-(1-metoxicarbonil-2-metil-propil-carbamoiloxi)-ciclohexil)-(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil-amino)-tiofen-2-carboxílico (compuesto #19)



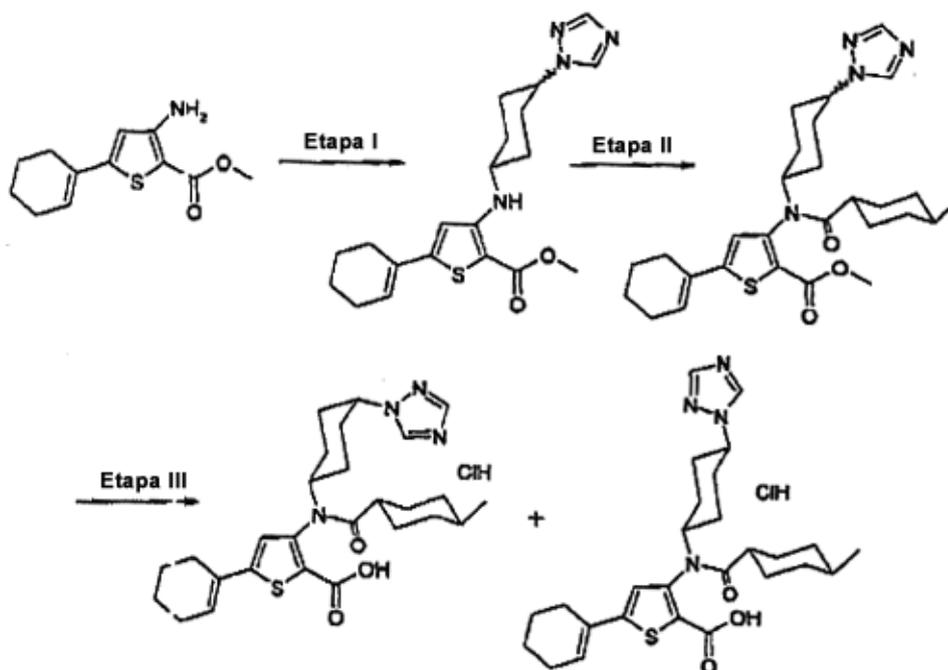
25 Etapa I:

Una mezcla de ácido 5-ciclohex-1-enil-3-[(trans-4-hidroxi-ciclohexil)-(trans-4-metilciclohexano-carbonil)-amino]-tiofen-2-carboxílico (20 mg, 0,045 mmol) y (S)-(-)-2-isocianato-3-metilbutirato de metilo (10 µl, 0,07 mmol) en

tolueno (1 ml) se agitó a 70°C durante 2 h. Se enfrió y se añadió agua (1 ml). Se agitó la mezcla a temperatura ambiente durante 1 h. Se extrajo con EtOAc (50 ml), se lavó con salmuera, se secó (MgSO<sub>4</sub>) y se evaporó. Se obtuvo ácido 5-ciclohex-1-enil-3-[[trans-4-(1-metoxicarbonil-2-metil-propilcarbamoiloxi)-ciclohexil]-(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-amino]-tiofen-2-carboxílico puro por cromatografía sobre gel de sílice (mezclas hexano-EtOAc, EtOAc puro y acetona al 5% en DCM como eluyente) (12,4 mg, 45%).

Ejemplo 45 (compuesto no de acuerdo con la invención)

10 Preparación de clorhidrato de ácido 5-ciclohex-1-enil-3-[(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-(cis-4-[1,2,4]triazol-1-il-ciclohexil)-amino]-tiofen-2-carboxílico (compuesto #41) y clorhidrato de ácido 5-ciclohex-1-enil-3-[(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-(trans-4-[1,2,4]triazol-1-il-ciclohexil)-amino]-tiofen-2-carboxílico (compuesto #48)



15

Etapa I:

Una mezcla de producto intermedio 1,4-[1,2,4]triazol-1-il-ciclohexanona (257 mg, 1,55 mmol) y éster metílico del ácido 3-amino-5-ciclohex-1-enil-tiofen-2-carboxílico (compuesto x, véase Irina) (368 mg, 1,55 mmol) se trató con dicloruro de dibutilestaño (24 mg, 0,078 mmol). La mezcla resultante se agitó 5 min a temperatura ambiente y se añadió fenilsilano (210 µl, 1,70 mmol). Se

20

agitó la mezcla de reacción a temperatura ambiente bajo nitrógeno durante 40 h. Se eliminó el disolvente y se purificó el producto en bruto por cromatografía en columna sobre gel de sílice usando un gradiente a partir de EtOAc:hexanos al 50% a EtOAc al 100% como eluyente para proporcionar éster metílico del ácido 5-ciclohex-1-enil-3-(4-[1,2,4]triazol-1-il-ciclohexilamino)-tiofen-2-carboxílico (555 mg, 92%) en forma de una mezcla amarilla de isómeros cis y trans.

Etapa II:

Se trató éster metílico del ácido 5-ciclohex-1-enil-3-(4-[1,2,4]triazol-1-il-ciclohexilamino)-tiofen-2-carboxílico (555 mg, 1,436 mmol) con una solución 1 M de cloruro de trans-4-metilciclohexanocarbonilo en tolueno (2,87 ml, 2,87 mmol). Se añadió piridina (128  $\mu$ l, 1,58 mmol) y se agitó la mezcla a reflujo durante toda la noche bajo nitrógeno. Se enfrió a temperatura ambiente y se diluyó con EtOAc. La mezcla resultante se lavó dos veces con un bicarbonato de sodio acuoso saturado y una vez con salmuera, se secó sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> y se concentró. Se purificó el producto en bruto por cromatografía en columna sobre gel de sílice usando un gradiente a partir de EtOAc:hexanos al 50% a EtOAc al 100% como eluyente para producir éster metílico del ácido 5-ciclohex-1-enil-3-[(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-(4-[1,2,4]triazol-1-il-ciclohexil)-amino]-tiofen-2-carboxílico (494 mg, 67%) en forma de una mezcla amarilla de isómeros cis y trans.

Etapa III;

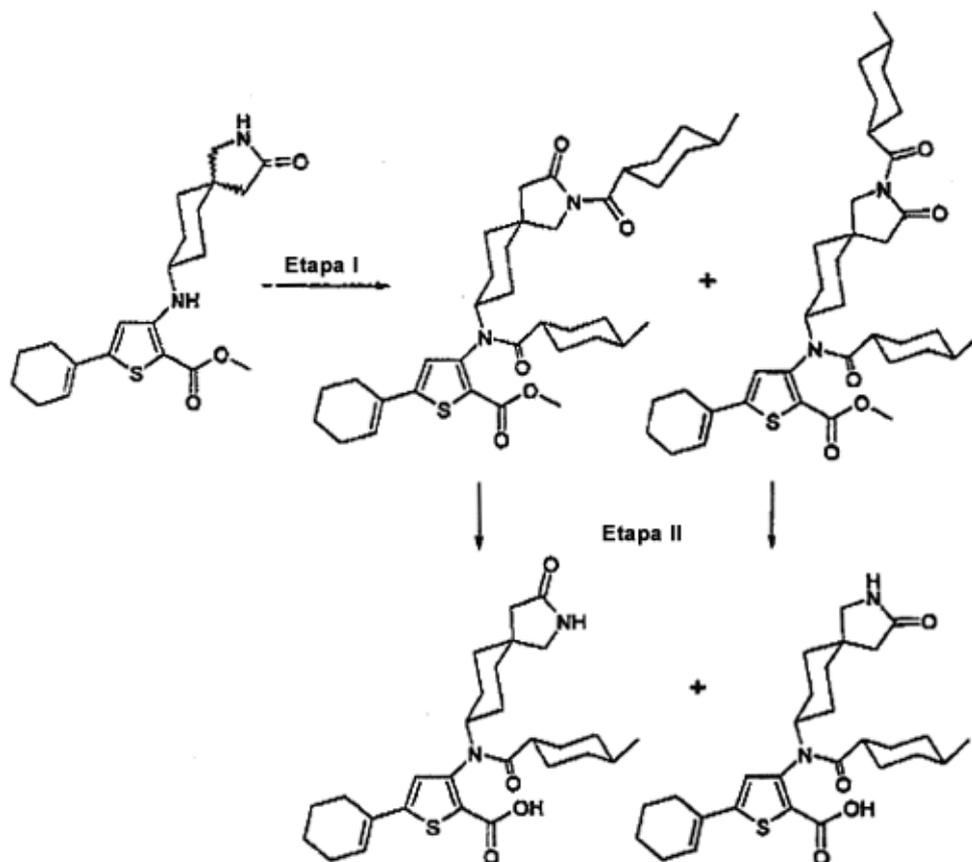
Se saponificó éster metílico del ácido 5-ciclohex-1-enil-3-[(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-(4-[1,2,4]triazol-1-il-ciclohexil)-amino]-tiofen-2-carboxílico (494 mg, 0,967) según se describe anteriormente (ejemplo 3, etapa VIII). El compuesto final se purificó por HPLC preparatoria para producir clorhidrato de ácido 5-ciclohex-1-enil-3-[(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-(cis-4-[1,2,4]triazol-1-il-ciclohexil)-amino]-tiofen-2-carboxílico (92 mg, 18%) y clorhidrato de ácido 5-ciclohex-1-enil-3-[(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-(trans-4-[1,2,4]triazol-1-il-ciclohexil)-amino]-tiofen-2-carboxílico (141 mg, 26%), los dos en forma de un sólido blanco.

Usando esencialmente el mismo procedimiento descrito anteriormente pueden prepararse los siguientes compuestos según el ejemplo 45 usando los productos intermedios 1, 2, 3, 5, 6 y 1,3-dimetoxiacetona comercial, respectivamente:

Ácido 5-ciclohex-1-enil-3-[(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)]-(cis-4-[1,2,3]triazol-1-il-ciclohexil)-amino]-tiofen-2-carboxílico (compuesto #104), ácido 5-ciclohex-1-enil-3-[(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)]-(trans-4-[1,2,3]triazol-1-il-ciclohexil)-amino]-tiofen-2-carboxílico (compuesto #105), ácido 5-ciclohex-1-enil-3-[cis-(1,3-dimetil-2-oxo-1,3-diaza-espiro[4,5]dec-8-il)]-(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-amino]-tiofen-2-carboxílico (compuesto #73), ácido 5-ciclohex-1-enil-3-[trans-(1,3-dimetil-2-oxo-1,3-diaza-espiro[4,5]dec-8-il)]-(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-amino]-tiofen-2-carboxílico (compuesto #74), ácido 3-[(cis-4-ciano-4-metil-ciclohexil)]-(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-amino]-5-ciclohex-1-enil-tiofen-2-carboxílico (compuesto #99), ácido 3-[(trans-4-ciano-4-metil-ciclohexil)]-(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-amino]-5-ciclohex-1-enil-tiofen-2-carboxílico (compuesto #106), ácido 3-[biciclo[3,2,1]oct-3-il-(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-amino]-5-ciclohexen-1-enil-tiofen-2-carboxílico (compuesto #40) y ácido 5-ciclohex-1-enil-3-[(2-metoxi-1-metoximetil-etil)]-(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-amino]-tiofen-2-carboxílico (compuesto #111)

Ejemplo 46 (compuesto no de acuerdo con la invención)

Preparación de ácido 5-ciclohex-1-enil-3-[(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)]-cis-(3-oxo-2-aza-espiro[4,5]dec-8-il)-amino]-tiofen-2-carboxílico (compuesto #80) y ácido 5-ciclohex-1-enil-3-[(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)]-trans-(3-oxo-2-aza-espiro[4,5]dec-8-il)-amino]-tiofen-2-carboxílico (compuesto #81)



#### Etapa I:

Una mezcla de éster metílico del ácido 5-ciclohex-1-enil-3-(3-oxo-2-aza-espiro[4,5]dec-8-ilamino)-tiofen-2-carboxílico cis y trans (1,08 g, 2,78 mmol), preparada con producto intermedio 4 se trató con una solución 1 M de cloruro de trans-4-metilciclohexanocarbonilo en tolueno (5,56 ml, 5,56 mmol). Se añadió piridina (248  $\mu$ l, 3,06 mmol) y se agitó la mezcla a reflujo durante toda la noche bajo nitrógeno. Se enfrió a temperatura ambiente y se diluyó con EtOAc. La mezcla resultante se lavó dos veces con un bicarbonato de sodio acuoso saturado y una vez con salmuera, se secó sobre  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  y se concentró. Se purificó el producto en bruto por cromatografía en columna sobre gel de sílice usando un gradiente a partir de EtOAc:hexanos al 15% a EtOAc:hexanos al 30% como eluyente para producir éster metílico del ácido 5-ciclohex-1-enil-3-  
 5 {(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-[2-(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-cis-3-oxo-2-aza-espiro[4,5]dec-8-il]-amino}-tiofen-2-carboxílico (543 mg, 31%) y éster metílico del ácido 5-ciclohex-1-enil-3-  
 10 {(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-[2-

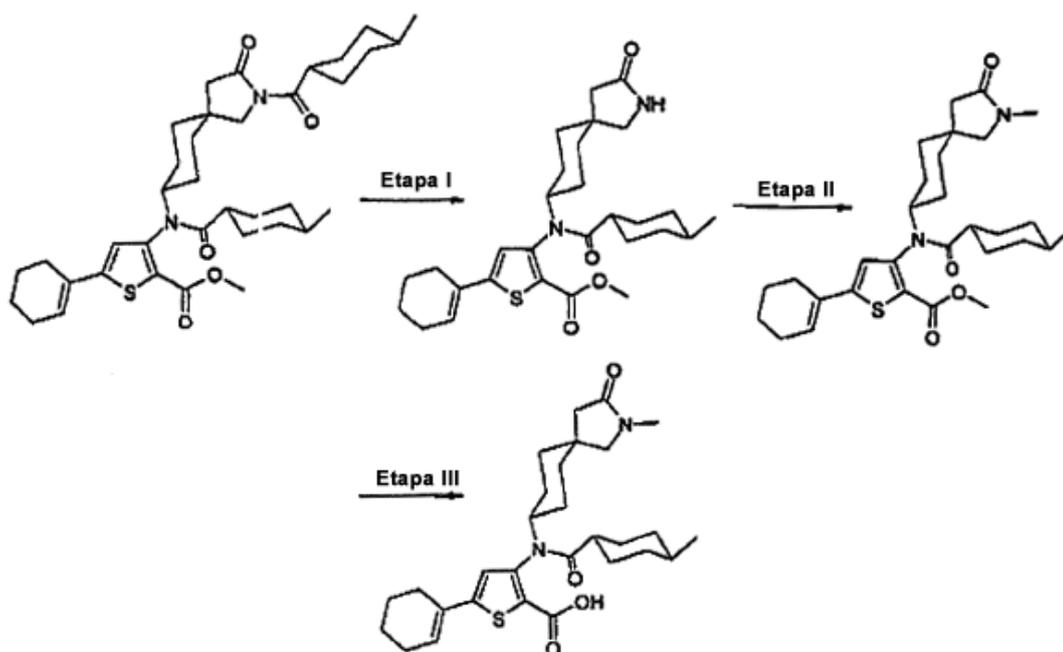
(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-trans-3-oxo-2-aza-espiro[4,5]dec-8-il]-amino}-tiofen-2-carboxílico (319 mg, 18%)

Etapa II:

Cada isómero por separado de la etapa I se sometió a las condiciones de saponificación estándar (ejemplo 3, etapa VIII) para producir los dos compuestos del título.

Ejemplo 47 (compuesto no de acuerdo con la invención)

Preparación de ácido 5-ciclohex-1-enil-3-[(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-cis-(2-metil-3-oxo-2-aza-espiro[4,5]dec-8-il)-amino]-tiofen-2-carboxílico (compuesto #84)



Etapa 1:

Una solución de éster metílico del ácido 5-ciclohex-1-enil-3-[(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-[2-(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-cis-3-oxo-2-aza-espiro[4,5]dec-8-il]-amino]-tiofen-2-carboxílico (445 mg, 0,699 mmol) en 4 ml de metanol anhidro se trató con una solución de metóxido de sodio al 25% en metanol (151  $\mu$ l, 0,669 mmol). La mezcla resultante se agitó bajo nitrógeno a temperatura ambiente durante 2 h. Se eliminó el disolvente al vacío. Se añadió una parte de 30 ml de diclorometano. Se lavó con 20 ml de solución 1 N de HCl acuoso, se secó sobre  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  y se concentró. Se purificó el producto en bruto

por cromatografía en columna sobre gel de sílice usando EtOAc al 100% como eluyente para producir éster metílico del ácido 5-ciclohex-1-enil-3-[(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-cis-(3-oxo-2-aza-espiro[4,5]dec-8-il)-amino]-tiofen-2-carboxílico (150 mg, 42%) en forma de un sólido amarillo claro.

5 Etapa II:

Una solución de éster metílico del ácido 5-ciclohex-1-enil-3-[(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-cis-(3-oxo-2-aza-espiro[4,5]dec-8-il)-amino]-tiofen-2-carboxílico (145 mg, 0,283 mmol) en 2,5 ml de DMF en seco se trató con hidruro de sodio al 60% (34 mg, 0,85 mmol). Se agitó la mezcla a temperatura ambiente durante 20 min y después se añadió yodometano (53  $\mu$ l, 0,85 mmol). Se agitó la mezcla de reacción durante toda la noche. Se añadió agua y se acidificó usando HCl 1 N acuoso. A continuación, se extrajo con EtOAc. Se lavó la parte orgánica con salmuera, se secó sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> y se concentró para producir éster metílico del ácido 5-ciclohex-1-enil-3-[(4-metil-ciclohexanocarbonil)-(2-metil-3-oxo-2-aza-espiro[4,5]dec-8-il)-amino]-tiofen-2-carboxílico en bruto.

Etapa III:

El material en bruto obtenido en etapa II se diluyó en 6 ml de una solución 3:2:1 de THF, metanol, agua. Se trató con hidróxido de litio monohidratado (48 mg, 1,1 mmol). La mezcla resultante se agitó 3 h a 50°C. A continuación se acidificó con HCl 1 N acuoso concentrado y se purificó por HPLC preparatoria para producir ácido 5-ciclohex-1-enil-3-[(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil))-cis-(2-metil-3-oxo-2-aza-espiro[4,5]dec-8-il)-amino]-tiofen-2-carboxílico (24 mg, 16%) en forma de un sólido blanco.

25 Usando esencialmente el mismo procedimiento descrito anteriormente pueden prepararse los siguientes compuestos:

Ácido 5-ciclohex-1-enil-3-[(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil))-trans-(2-metil-3-oxo-2-aza-espiro[4,5]dec-8-il)-amino]-tiofen-2-carboxílico (compuesto #128),

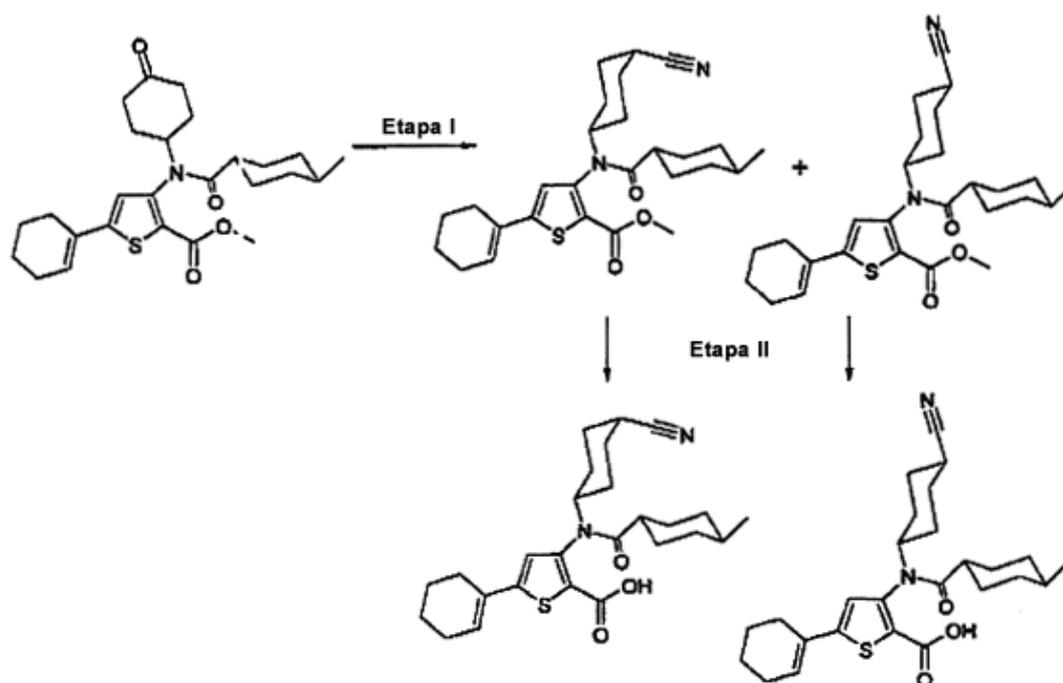
30 Ácido 5-ciclohex-1-enil-3-[cis-(2-etil-3-oxo-2-aza-espiro[4,5]dec-8-il)-(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-amino]-tiofen-2-carboxílico (compuesto #130)

Ácido 5-ciclohex-1-enil-3-[trans-(2-etil-3-oxo-2-aza-espiro[4,5]dec-8-il)-(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-amino]-tiofen-2-carboxílico (compuesto #129).

Ejemplo 48 (compuesto no de acuerdo con la invención)

Preparación de ácido 3-[(cis-4-cianociclohexil)-(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-amino]-5-ciclohex-1-enil-tiofen-2-carboxílico (compuesto #49) y ácido 3-[(trans-4-cianociclohexil)-(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-amino]-5-ciclohex-1-enil-tiofen-2-carboxílico (compuesto #50)

5



## Etapa 1:

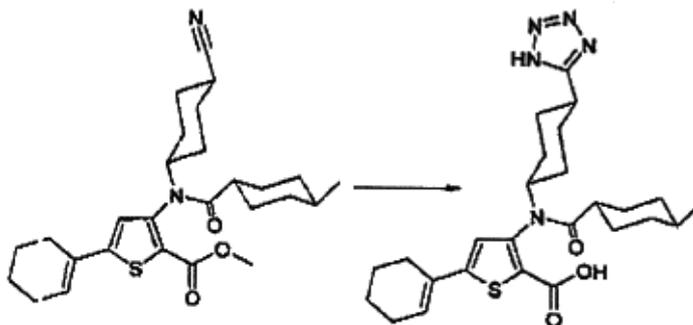
Se sometió éster metílico del ácido 5-ciclohex-1-enil-3-[(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-(4-oxo-ciclohexil)-amino]-tiofen-2-carboxílico (1,00 g, 2,25) al mismo procedimiento que para la etapa I del producto intermedio 1. La mezcla final obtenida se purificó por cromatografía en columna sobre gel de sílice usando EtOAc:hexanos al 30% como eluyente para producir éster metílico del ácido 3-[(cis-4-ciano-ciclohexil)-(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-amino]-5-ciclohex-1-enil-tiofen-2-carboxílico (256 mg, 25%) y éster metílico del ácido 3-[(trans-4-ciano-ciclohexil)-(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-amino]-5-ciclohex-1-enil-tiofen-2-carboxílico (352 mg, 34%).

## Etapa II:

Cada isómero por separado de la etapa I se sometió a las condiciones de saponificación estándar (ejemplo 3, etapa VIII) para producir los dos compuestos del título.

Ejemplo 49 (compuesto no de acuerdo con la invención)

Preparación de ácido 5-ciclohex-1-enil-3-[(trans-4-metil-ciclohexanocarboxil)-[trans-4-(1H-tetrazol-5-il)-ciclohexil]-amino]-tiofen-2-carboxílico (compuesto #62)

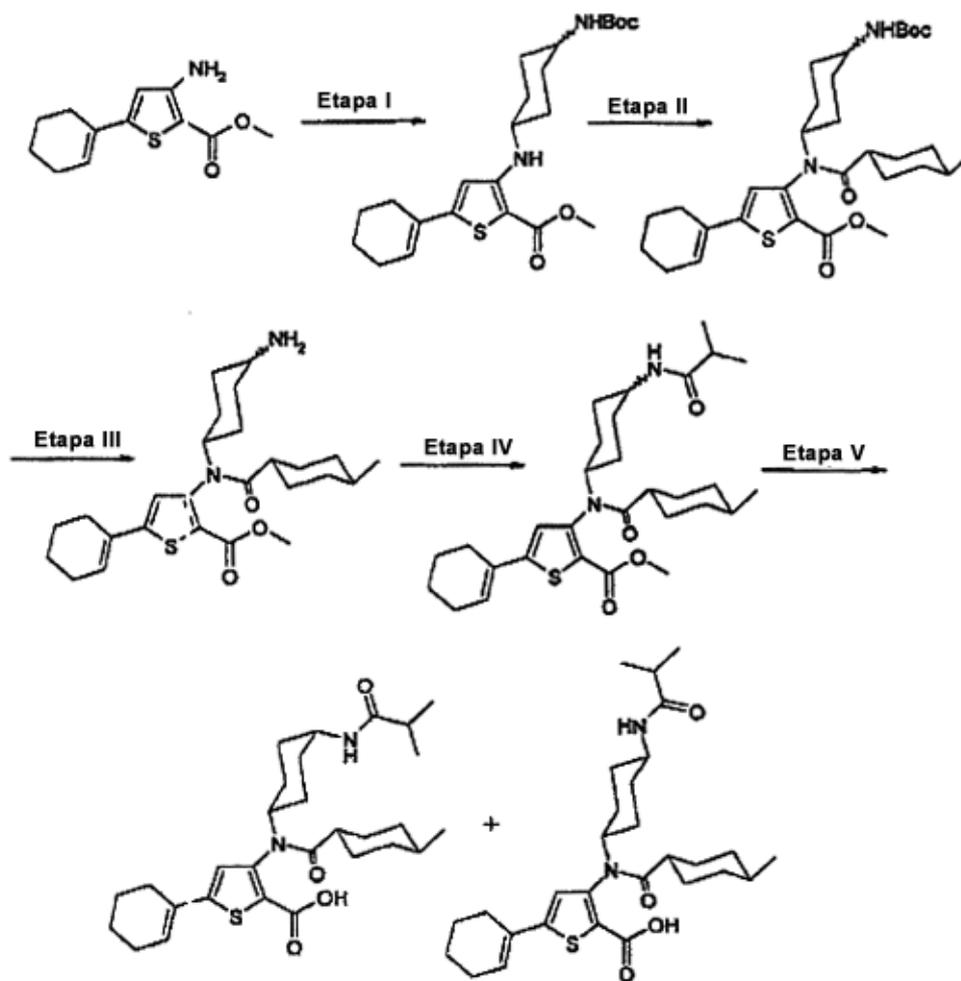


5

Una mezcla de éster metílico del ácido 3-[(trans-4-ciano-ciclohexil)-(trans-4-metil-ciclohexanocarboxil)-amino]-5-ciclohex-1-enil-tiofen-2-carboxílico (100 mg, 0,220 mmol), cloruro de amonio (74 mg, 1,4 mmol) y azida de sodio (91 mg, 1,4 mmol) en 2,0 ml de DMF en seco se agitó a 150°C bajo nitrógeno durante dos días. Se añadió agua y se extrajo con EtOAc. Se secó la parte orgánica sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> y se concentró. Se purificó el producto en bruto por HPLC para producir el compuesto del título (9,0 mg, 8,2%).

Ejemplo 50 (compuesto no de acuerdo con la invención)

15 Preparación de ácido 5-ciclohex-1-enil-3-[(cis-4-isobutirilamino-ciclohexil)-(trans-4-(metil-ciclohexanocarboxil)-amino)-tiofen-2-carboxílico (compuesto #133) y ácido 5-ciclohex-1-enil-3-[(trans-4-isobutirilamino-ciclohexil)-(trans-4-(metil-ciclohexanocarboxil)-amino)-tiofen-2-carboxílico (compuesto #134)



La etapa I y la etapa II se realizaron según se describe anteriormente (ejemplo 1, etapa I y II) usando N-4-Boc-aminociclohexanona como producto intermedio.

5 Etapa III:

A una solución de éster metílico del ácido 3-[(4-terc-butoxicarbonilamino-ciclohexil)-(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-amino]-5-ciclohex-1-enil-tiofen-2-carboxílico cis y trans (2,21 g, 3,95 mmol) en 17 ml de diclorometano se le añadieron 17 ml de ácido trifluoroacético. Se agitó la mezcla a temperatura ambiente durante 15 h. Se eliminaron al vacío el disolvente y el ácido trifluoroacético. Se diluyó el producto en bruto con éter. Se lavó con una solución acuosa de NaOH 1 N y con salmuera, se secó sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> y se concentró para producir una mezcla en bruto de éster metílico del ácido 3-[(4-amino-ciclohexil)-(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-amino]-5-ciclohex-1-eniltiofen-2-carboxílico cis y trans (1,62 g, 3,51 mmol) en forma de un sólido

amarillo oscuro.

Etapa IV:

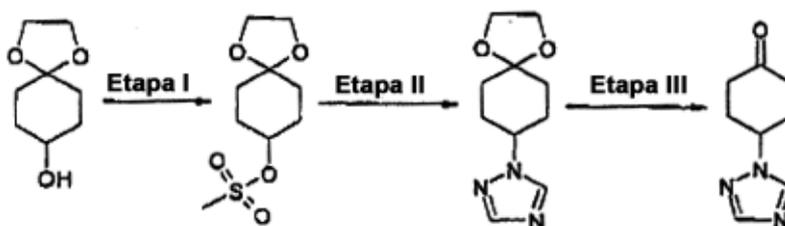
Una solución de éster metílico del ácido 3-[(4-amino-ciclohexil)-(trans-4-metilciclohexanocarbonil)-amino]-5-ciclohex-1-enil-tiofen-2-carboxílico cis y trans (100 mg, 0,218 mmol) y trietilamina (46  $\mu$ l, 0,33 mmol) en 1 ml de diclorometano se trató con cloruro de isobutirilo (30  $\mu$ l, 0,28 mmol). Se agitó la mezcla durante toda la noche a temperatura ambiente bajo nitrógeno. Se eliminó el disolvente. Se añadió EtOAc. Se lavó dos veces con agua y una vez con salmuera, se secó sobre  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  y se concentró para proporcionar una mezcla en bruto de éster metílico del ácido 5-ciclohex-1-enil-3-[(4-isobutirilamino-ciclohexil)-(trans-4-metilciclohexanocarbonil)-amino]-tiofen-2-carboxílico cis y trans.

Etapa V:

El material en bruto obtenido en la etapa IV se diluyó en 4,3 ml de una solución 3:2:1 de THF, metanol, agua. Se trató con hidróxido de litio monohidratado (37 mg, 0,87 mmol). La mezcla resultante se agitó 24 h a temperatura ambiente, a continuación se acidificó con solución de HCl acuosa al 10%, se concentró y se purificó por HPLC preparatoria para producir ácido 5-ciclohex-1-enil-3-[(cis-4-isobutirilamino-ciclohexil)-(trans-4-(metilciclohexanocarbonil)-amino)-tiofen-2-carboxílico (7,6 mg, 6,7%) y ácido 5-ciclohex-1-enil-3-[(trans-4-isobutirilamino-ciclohexil)-(trans-4-(metilciclohexanocarbonil)-amino)-tiofen-2-carboxílico (26,3 mg, 23%) los dos en forma de un sólido blanco.

## 25 Preparación de productos intermedios 1 a 8

### Producto intermedio 1: 4-[1,2,4]triazol-1-il-ciclohexanona



## Etapa I:

Se preparó éster 1,4-dioxa-espiro[4,5]dec-8-ílico del ácido metanosulfónico según: *Cheng, Chen Yu; Wu, Shou Chien; Hsin, Ling Wei; Tam, S. William. Coll. Med., Natl. Taiwán Univ., Taipéi, Taiwán. Journal of*  
5 *Medicinal Chemistry* (1992), 35(12), 2243-7.

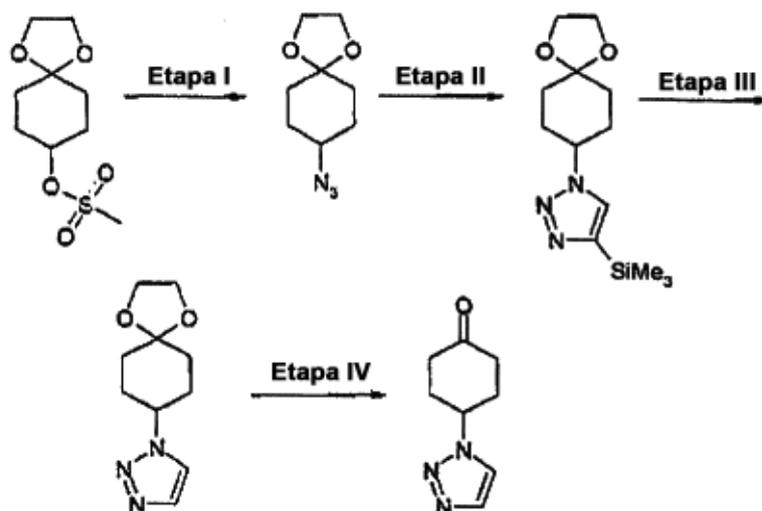
## Etapa II:

Una solución de éster 1,4-dioxa-espiro[4,5]dec-8-ílico del ácido metanosulfónico (567 mg, 2,40 mmol) y 1,2,4-triazol (232 mg, 3,36 mmol) en DMF en seco (5,00 ml) se trató con hidruro de sodio al 60% (125 mg, 3,12  
10 mmol) a temperatura ambiente bajo nitrógeno. La mezcla resultante se agitó a 65°C durante 72 h. Se vertió en agua con hielo (75 ml), se extrajeron 3 partes de 75 ml de EtOAc. Se combinaron las partes orgánicas, se secó sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhidro y se concentró. Se purificó el sólido por cromatografía en columna sobre gel de sílice usando un gradiente a partir de EtOAc al 100% a  
15 MeOH:EtOAc al 5% como eluyente para suministrar el compuesto final 1-(1,4-dioxa-espiro[4,5]dec-8-il)-1H-[1,2,4]triazol en forma de un sólido blanco (247 mg, 49%).

## Etapa III:

Se disolvió 1-(1,4-dioxa-espiro[4,5]dec-8-il)-1H-[1,2,4]triazol (379 mg,  
20 1,81 mmol) en una mezcla 1:1 de THF y solución acuosa de HCl 3 N (9 ml). La mezcla resultante se agitó a 40°C durante 5 h. La mayor parte del THF se eliminó al vacío y a continuación la mezcla residual se neutralizó usando una solución acuosa de NaOH 3 N hasta que se alcanzó un pH básico. Se extrajo con 3 partes de 10 ml de diclorometano. Se combinaron las partes orgánicas,  
25 se secó sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhidro y se concentró para producir 4-[1,2,4]triazol-1-il-ciclohexanona en forma de un sólido ceroso blanco (257 mg, 86%).

Producto intermedio 2: 4-[1,2,3]triazol-1-il-ciclohexanona



Etapa I:

Una mezcla de éster 1,4-dioxa-espiro[4,5]dec-8-ílico del ácido metanosulfónico (2,80 g, 11,9 mmol) y azida de sodio (3,86 g, 59,3 mmol) en 50 ml de DMF en seco se agitó durante 20 h a 100°C bajo nitrógeno. La mezcla final se enfrió a temperatura ambiente diluida con salmuera y se extrajo con tres partes de éter. Se combinaron las partes orgánicas, se secó sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> y se concentró para proporcionar 8-azido-1,4-dioxa-espiro[4,5]decano (2,2 g, 100%).

10 Etapa II:

Una mezcla de 8-azido-1,4-dioxa-espiro[4,5]decano (1,00 g, 5,43 mmol) y 1-(trimetilsilil)propino (3,76 ml, 27,1 mmol) se sometió a microondas a 120°C durante 2 h. Se concentró la mezcla al vacío para eliminar el exceso de 1-(trimetilsilil)propino y se obtuvo 1-(1,4-dioxa-espiro[4,5]dec-8-il)-4-trimetilsilanil-1H-[1,2,3]triazol en bruto (1,6 g, 105%).

Etapa III:

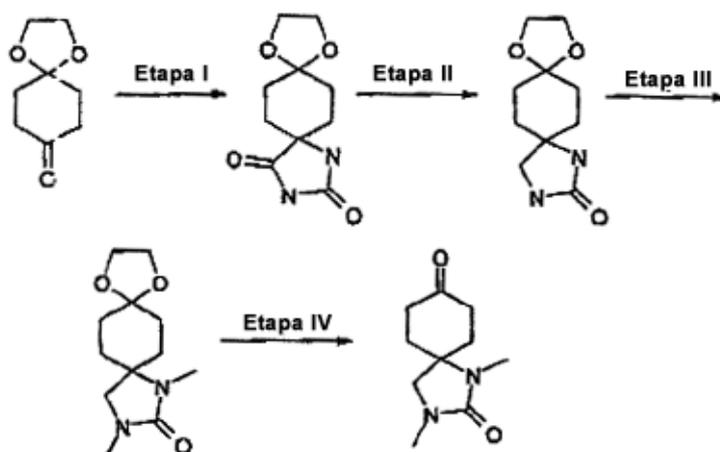
Una solución de 1-(1,4-dioxa-espiro[4,5]dec-8-il)-4-trimetilsilanil-1H-[1,2,3]triazol (1,60 g, 5,68) en 41 ml de THF en seco se trató con una solución 1 M de fluoruro de tetrabutilamonio en THF (9,0 ml, 9,0 mmol). La mezcla resultante se agitó durante 48 h a temperatura ambiente bajo nitrógeno. Se diluyó con EtOAc, se lavó con cloruro de amonio acuoso saturado, agua y salmuera, se secó sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> y se concentró para proporcionar 1-(1,4-dioxa-espiro[4,5]dec-8-il)-1H-[1,2,3]triazol (1,06 g, 89%).

Etapa IV:

Se sometió 1-(1,4-dioxa-espiro[4,5]dec-8-il)-1H-[1,2,3]triazol (1,06 g, 5,06 mmol) al mismo procedimiento que para el producto intermedio 1 de la etapa III para producir 4-[1,2,3]triazol-1-il-ciclohexanona (479 mg, 57%) en forma de un sólido blanco.

5

Producto intermedio 3: 9,12-dioxa-1,3-diaza-diespiro[4,2,4,2]tetradecano-2,4-diona



Etapa I:

- 10 Una suspensión de 1,4-dioxa-espiro[4,5]decan-8-ona (10,0 g, 64,0 mmol) en 64 ml de metanol se trató con una solución de carbonato de amonio (18,4 g, 192 mmol) en 64 ml de agua. Se añadió cianuro de potasio (6,14 g, 96,0 mmol) y se agitó la mezcla a 65°C durante 18 h. Se enfrió a temperatura ambiente y se formó un precipitado. Se recogió el precipitado por filtración para proporcionar un sólido blanco y se extrajo el filtrado con acetato de etilo. Se concentró la parte de acetato de etilo para producir también un sólido blanco. Se combinaron los dos sólidos para producir 9,12-dioxa-1,3-diaza-diespiro[4,2,4,2]tetradecano-2,4-diona (9,80 g, 68%)

Etapa II:

- 20 Una suspensión de 9,12-dioxa-1,3-diaza-diespiro[4,2,4,2]tetradecano-2,4-diona (9,64 g, 42,6 mmol) en 143 ml de THF en seco se trató a 0°C con una solución de LiAlH<sub>4</sub> 1 M en THF (94,0 ml, 94,0 mmol). La mezcla resultante se agitó durante toda la noche a temperatura ambiente bajo nitrógeno. Se añadió una solución acuosa saturada de sal de Rochelle. Se agitó durante 3 h, se extrajo 4x con EtOAc y 3x con diclorometano. Se combinaron las partes orgánicas y se concentró. Se purificó el producto en bruto por cromatografía en

columna sobre gel de sílice usando un gradiente a partir de CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> al 1%:MeOH al 10%; CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>:MeOH como eluyente para producir 9,12-dioxa-1,3-diaza-diespiro[4,2,4,2]tetradecan-2-ona (5,20 g, 57%) en forma de un sólido blanco.

Etapa III:

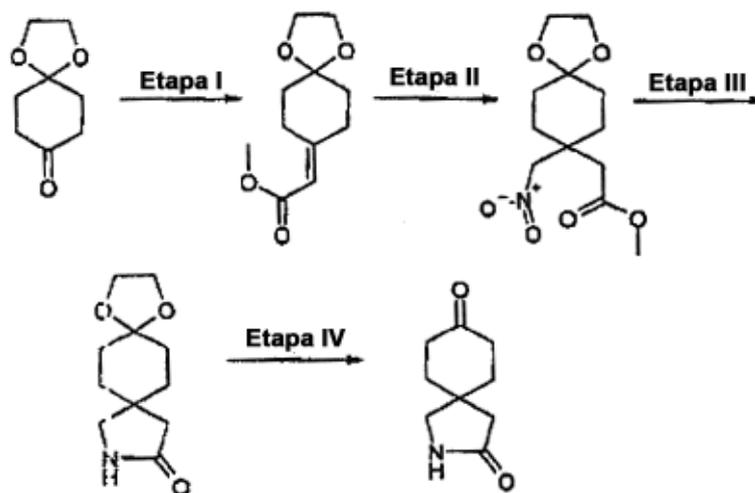
- 5 Una solución de 9,12-dioxa-1,3-diaza-diespiro[4,2,4,2]tetradecan-2-ona (4,70 g, 22,1 mmol) en 110 ml de dioxano se trató con hidruro de sodio al 60% (2,92 g, 73,0 mmol) a temperatura ambiente. La mezcla se calentó a 55°C y se agitó durante 4 h bajo nitrógeno. Se añadió yoduro de metilo (8,20 ml, 132 mmol) y la mezcla resultante se agitó durante toda la noche a reflujo. La
- 10 reacción se inactivó con agua. Se extrajo con cinco partes de éter y dos partes de diclorometano. Se combinaron las partes orgánicas y se concentró. Se purificó el producto en bruto por cromatografía en columna sobre gel de sílice usando un gradiente de EtOAc:hexanos al 10% a EtOAc al 100% como eluyente para proporcionar 1,3-dimetil-9,12-dioxa-1,3-diaza-
- 15 diespiro[4,2,4,2]tetradecan-2-ona (3,1 g, 58%).

Etapa IV:

- Se disolvió 1,3-dimetil-9,12-dioxa-1,3-diaza-diespiro[4,2,4,2]tetradecan-2-ona (3,16 g, 13,2 mmol) en 66 ml de THF y se añadió una parte de 130 ml de solución acuosa de HCl 3 N. La mezcla resultante se agitó a 50°C durante dos
- 20 días. Se eliminó THF al vacío y a continuación se extrajo la mezcla residual con dos partes de diclorometano. Se combinaron las partes orgánicas, se secó sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhidro y se concentró. Se purificó el producto en bruto por cromatografía en columna sobre gel de sílice usando un gradiente de CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>:MeOH al 2% a CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>:MeOH al 10% como eluyente para producir 1,3-
- 25 dimetil-1,3-diaza-espiro[4,5]decano-2,8-diona (1,7 g, 66%).

#### Producto intermedio 4: 2-aza-espiro[4,5]decano-3,8-diona

- El producto intermedio 4 se preparó siguiendo una vía de síntesis descrita para un sustrato similar diferente en: *Przewosny, Michael Thomas;*
- 30 *Puetz, Claudia, documento US-2005/043.454.*



#### Etapa I:

Una solución de 1,4-dioxa-espiro[4,5]decan-8-ona (5,00 g, 32,0 mmol) en 65 ml de tolueno anhidro se trató con acetato de metil(trifenilfosforanilideno) (13,9 g, 41,6 mmol). Se agitó la mezcla a reflujo durante 18 h bajo nitrógeno. Se eliminó el disolvente y se purificó el producto en bruto por cromatografía en columna sobre gel de sílice usando una mezcla de EtOAc:hexanos al 20% como eluyente para producir éster metílico del ácido (1,4-dioxa-espiro[4,5]dec-8-iliden)-acético (5,51 g, 81%) en forma de un aceite incoloro.

#### 10 Etapa II:

Una solución de éster metílico del ácido (1,4-dioxa-espiro[4,5]dec-8-iliden)-acético (5,50 g, 25,9 mmol) en 14 ml de THF en seco se trató con nitrometano (2,10 ml, 38,9 mmol) seguido por una solución 1 M de fluoruro de tetrabutilamonio en THF (26,5 ml, 26,5 mmol). La mezcla resultante se agitó a reflujo durante 20 h bajo nitrógeno. Después de enfriar, se diluyó la mezcla con agua y se extrajo con tres partes de éter. Se combinaron las partes de éter, se lavó con una solución acuosa al 10% de hidrogenosulfato de potasio, se secó sobre  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  anhidro y se concentró. Se purificó el producto en bruto por cromatografía en columna sobre gel de sílice usando una mezcla de EtOAc:hexanos al 20% como eluyente para producir éster metílico del ácido (8-nitrometil-1,4-dioxa-espiro[4,5]dec-8-il)-acético (5,34 g, 75%) en forma de un aceite incoloro.

#### Etapa III:

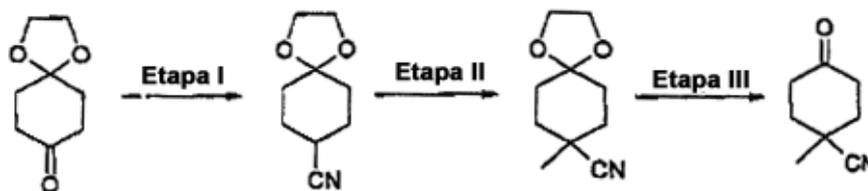
Se purgó una solución de éster metílico del ácido (8-nitrometil-1,4-dioxa-

espiro[4,5]dec-8-il)-acético (5,34 g, 19,5 mmol) en 35 ml de metanol con nitrógeno. Se añadió una parte de aproximadamente 430 mg de níquel de Raney 2800. Se purgó la mezcla de reacción con hidrógeno y se mantuvo una presión positiva de hidrógeno durante toda la noche usando un globo. A continuación, se purgó la mezcla final con nitrógeno y se filtró a través de un lecho de lavado en celita con metanol. Se concentró el filtrado para producir 1,4-dioxa-10-aza-diespiro[4,2,4,2]tetradecan-11-ona (3,95 g, 96%) en forma de un sólido blanco.

Etapa IV:

10 A una solución de 1,4-dioxa-10-aza-diespiro[4,2,4,2]tetradecan-11-ona (3,95 g, 18,7 mmol) en 160 ml de acetona se le añadió 16 ml de agua y p-toluensulfonato de piridinio (1,41 g, 5,61 mmol). La mezcla resultante se agitó a reflujo durante 20 h. A continuación, se enfrió y se concentró. Se purificó el producto en bruto por cromatografía en columna sobre gel de sílice usando una  
15 mezcla de MeOH:EtOAc al 5% como eluyente para producir 2-aza-espiro[4,5]decano-3,8-diona (1,80 g, 58%) en forma de un sólido blanco.

Productos intermedios 5: 8-metil-1,4-dioxa-espiro[4,5]decano-8-carbonitrilo



20 Etapa I:

Se preparó 1,4-dioxa-espiro[4,5]decano-8-carbonitrilo según: *Becker, Daniel P.; Flynn, Daniel I. Gastrointest. Dis. Res. Dep., Searle Res. Dev., Skoki, IL, EE.UU. Synthesis (1992), (11), 1080-2.*

Etapa II:

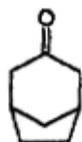
25 Se añadió lentamente una solución 1,6 M de butil-litio en THF (14,6 ml, 23,3 mmol) durante 10 min a una solución de diisopropilamina (3,54 ml, 25,15 mmol) en 11 ml de THF anhidro a -40°C bajo nitrógeno. La mezcla resultante se agitó durante 30 min a -40°C y la solución de diisopropilamida de litio obtenida se transfirió gota a gota durante 15 min a una solución a 0°C de 1,4-  
30 dioxa-espiro[4,5]decano-8-carbonitrilo (3,00 g, 17,9 mmol) en 25 de THF anhidro. Se agitó la mezcla de reacción durante 15 min a 0°C y se añadió

yoduro de metilo (3,35 ml, 53,8 mmol) gota a gota durante 15 min. La mezcla resultante se agitó durante 30 min a 0°C y, a continuación, durante 30 min a temperatura ambiente. Se añadió una parte de 20 ml de cloruro de amonio acuoso saturado. Se extrajo con éter (3 x 150 ml). Se combinaron las partes orgánicas, se secó sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhidro y se concentró. El secado al vacío durante 30 min produjo el 8-metil-1,4-dioxa-espiro[4,5]decano-8-carbonitrilo deseado en forma de un sólido amarillo (3,29 g, 101%).

Etapa III:

Se disolvió 8-metil-1,4-dioxa-espiro[4,5]decano-8-carbonitrilo (3,29 g, 18,1 mmol) en una mezcla 1:1 de THF y solución acuosa de HCl 3 N (60 ml). La mezcla resultante se agitó a 40°C durante 5 h, se enfrió a 0°C y se neutralizó usando aproximadamente 30 ml de una solución acuosa de NaOH 3 N hasta que se alcanzó un pH básico. Se extrajo con éter (4 x 75 ml). Se combinaron las partes orgánicas, se secó sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhidro y se concentró. Se purificó el producto en bruto por cromatografía en columna sobre gel de sílice usando un gradiente a partir de EtOAc:hexanos al 15% a EtOAc:hexanos al 20% como eluyente para producir 1-metil-4-oxo-ciclohexanocarbonitrilo en forma de un sólido blanco (1,82 g, 73%).

20 Producto intermedio 6: 4-[1,2,4]triazol-1-il-ciclohexanona

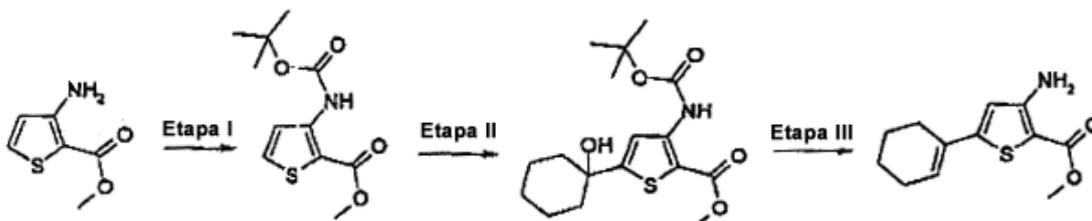


Preparado según se describe en: Jefford, C. W.; Gunsher, J.; Hill, D. T.; Brun, P.; Le Gras, J.; Waegell, B. *Chem. Dep., Temple Univ., Filadelfia, PA, EE.UU.. Organic Syntheses (1971), 51 60-5.*

25

Producto intermedio 7

Éster metílico del ácido 3-amino-5-ciclohex-1-enil-tiofen-2-carboxílico



## Etapa I:

En un matraz de 3 bocas de 3 l con un agitador mecánico, se añadió DMAP (11,5 g, 0,10 mmol) a una solución de éster metílico del ácido 3-amino-tiofen-2-carboxílico (105 g, 0,95 mmol) en piridina (750 ml). Se añadió  
5 lentamente una solución de (BOC)<sub>2</sub>O (222 g, 1,02 mol) en piridina (750 ml) a la solución anterior mientras se mantenía la temperatura entre 20 y 25°C. Se agitó la mezcla bajo nitrógeno durante 20 h. Se evaporó la mezcla de reacción hasta sequedad y a continuación se trituró en 500 ml de MeOH a t.a. durante 3 h y a continuación 30 min a 0°C. Se filtró la suspensión en un embudo Büchner y se  
10 lavó con etanol en frío. Se secó el sólido blanco para producir 175 g (70%) de éster metílico del ácido 3-terc-butoxicarbonilamino-tiofen-2-carboxílico.

## Etapa II:

Se añadieron diisopropilamina (140 g, 1,39 mol) y 800 ml de THF en seco a un matraz de 4 bocas y 12 l en seco con un agitador mecánico bajo  
15 nitrógeno. Se enfrió la mezcla a -40°C y se añadió n-BuLi (1,29 mol) lentamente mientras se mantenía la temperatura interior aproximadamente en -40°C. Se agitó la mezcla durante 45 min a -40°C y a continuación se enfrió a -78°C. A esta solución, se le añadió gota a gota una solución de éster metílico del ácido 3-terc-butoxicarbonilamino-tiofen-2-carboxílico (99 g, 0,384 mmol) en  
20 3,2 l de THF. Se agitó la mezcla durante 60 min a -78°C y a continuación se añadió ciclohexanona (118 g, 1,19 mmol) en 30 segundos. Se agitó la mezcla durante 30 min a -78°C. Se inactivó la mezcla de reacción con 0,75 l de NH<sub>4</sub>Cl (sat). Se extrajo la fase acuosa con 0,75 l de EtOAc. Se combinó la fase orgánica y se lavó con 5 l de salmuera, se secó sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, se filtró y se  
25 evaporó hasta un residuo para producir 115 g (84%) de éster metílico del ácido 3-terc-butoxicarbonilamino-5-(1-hidroxi-ciclohexil)-tiofen-2-carboxílico.

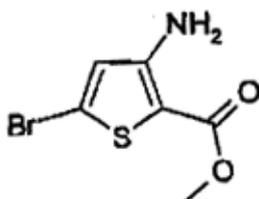
## Etapa III:

A una solución de éster metílico del ácido 3-terc-butoxicarbonilamino-5-(1-hidroxi-ciclohexil)-tiofen-2-carboxílico (68 g, 0,192 mol) en 400 ml de  
30 diclorometano a 0°C (baño de hielo) se le añadió ácido trifluoroacético (400 ml). Se agitó la mezcla durante 30 min a 0°C y se siguió con TLC. Una vez terminada, se evaporó la mezcla de reacción hasta sequedad y se distribuyó entre acetato de etilo y solución acuosa saturada de NaHCO<sub>3</sub>. Se separó la capa orgánica, se secó (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) y se concentró. Se trituró el residuo en  
35 volumen 4.4 de hexano durante 30 min. A continuación se filtró y se lavó con

hexano en frío. Se secó en el horno al vacío para producir 35 g (76%) de éster metílico del ácido 3-amino-5-ciclohex-1-enil-tiofen-2-carboxílico.

Producto intermedio 8

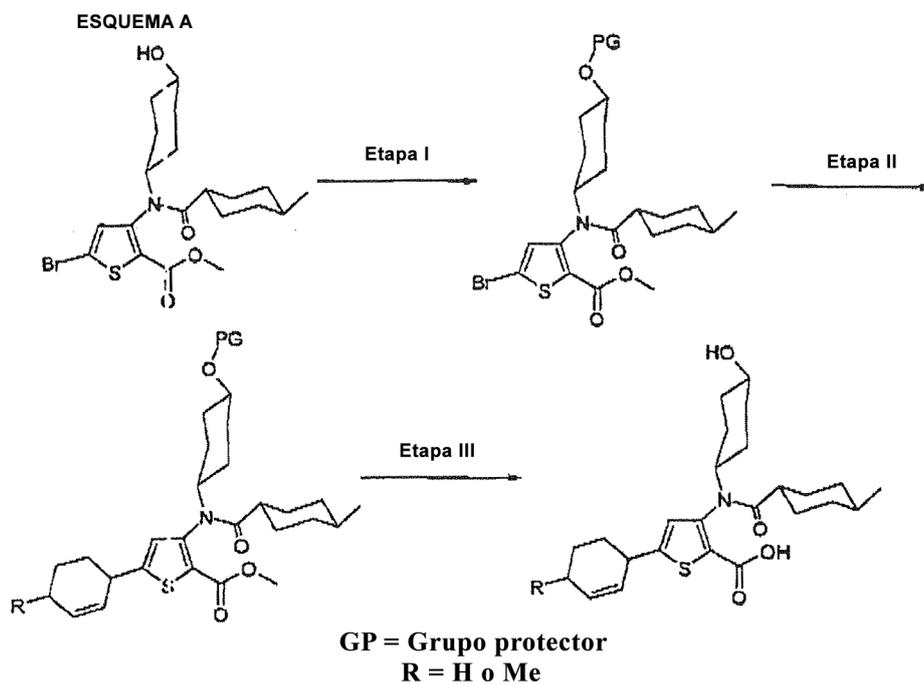
5 Éster metílico del ácido 3-amino-5-bromo-tiofen-2-carboxílico



El producto intermedio 8 se preparó siguiendo el mismo procedimiento mencionado para el producto intermedio 7.

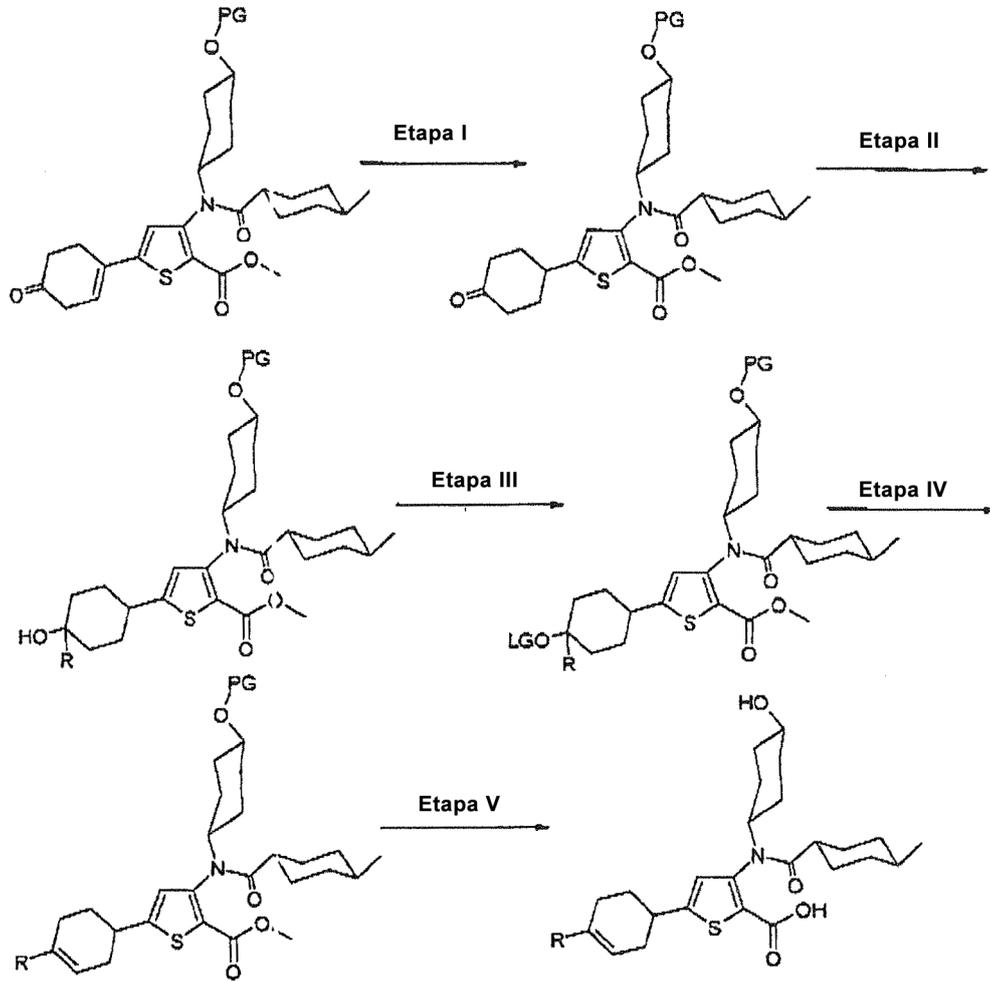
10 Esquemas generales para la producción de compuestos de acuerdo con la presente invención

En la solicitud provisional USSN-60/680.482 se establece que el Compuesto#16 y el Compuesto#19 (los dos fueron numerados incorrectamente y se renumeran como Compuestos 146 y 149, respectivamente) pueden prepararse según el siguiente Esquema A. El solicitante desea señalar que el  
15 Compuesto #146 se obtuvo usando el esquema de síntesis ilustrado en el Ejemplo 43.



Por ejemplo, los compuestos tales como 149 y 150 pueden prepararse según el siguiente Esquema B:

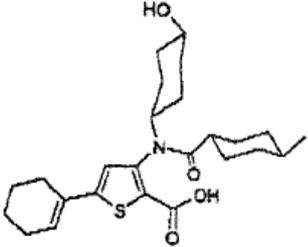
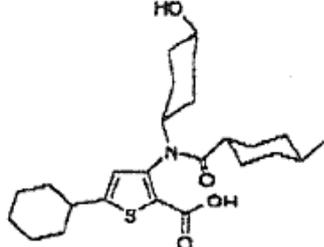
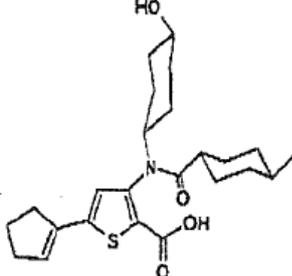
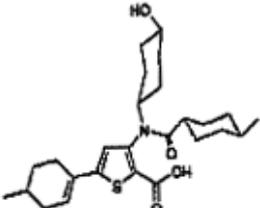
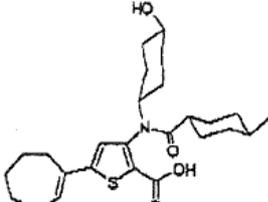
ESQUEMA B

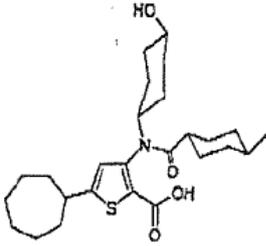
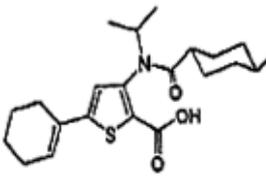
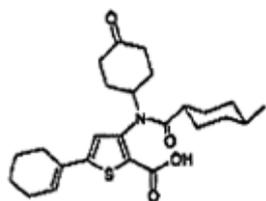
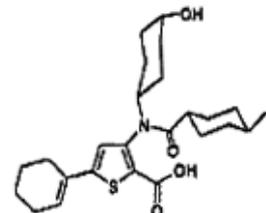
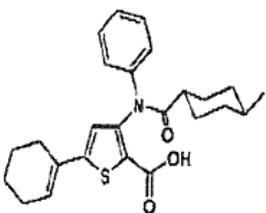
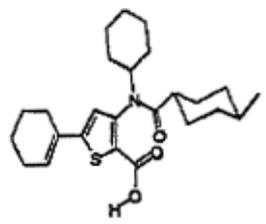


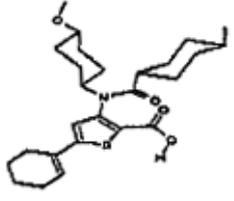
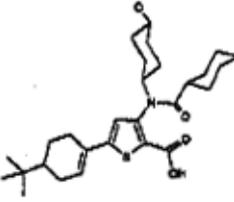
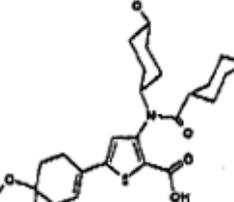
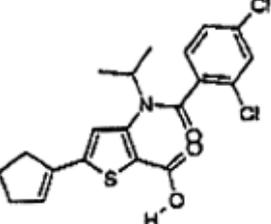
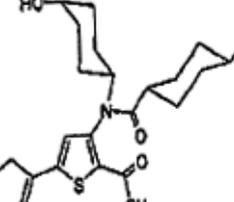
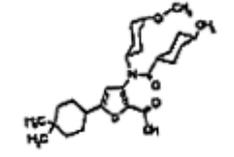
GP = Grupo protector  
 GS = Grupo saliente  
 R = H o Me

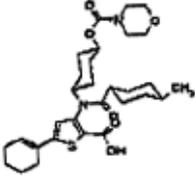
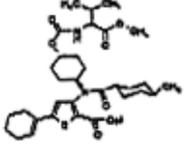
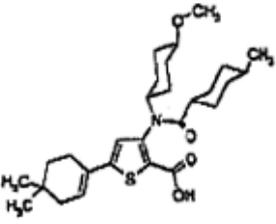
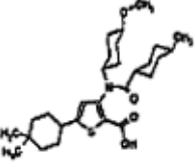
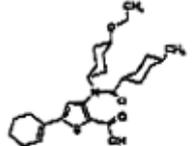
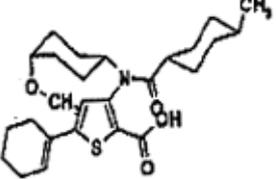
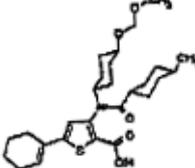
Tabla 1

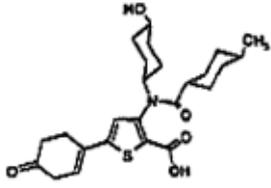
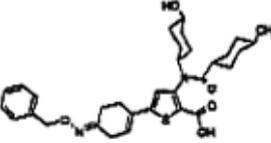
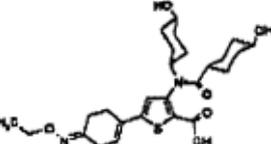
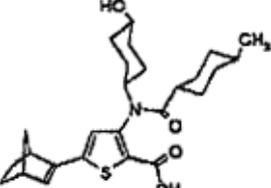
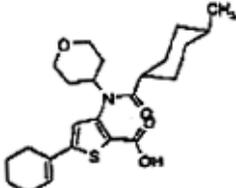
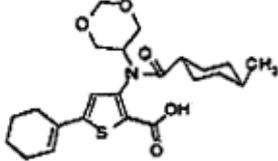
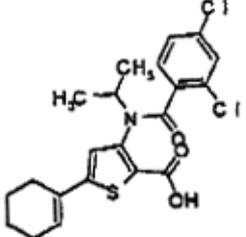
Lista de compuestos de ejemplo (el Compuesto #12 está de acuerdo con la  
 5 presente invención, los demás compuestos no son de acuerdo con la  
invención)

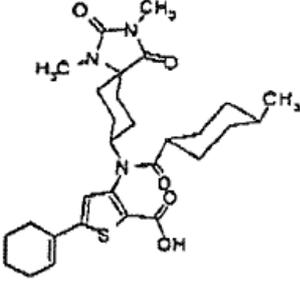
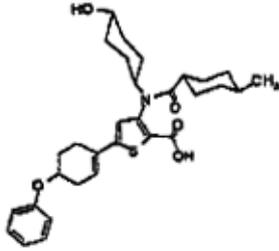
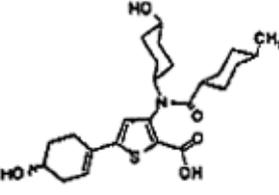
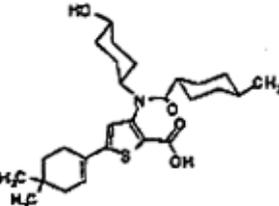
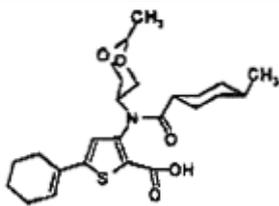
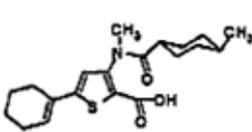
Compuesto#	Estructura	m/z* (M+H) <sup>+</sup>	Cl <sub>50</sub>
1		446,1	A
2		448,1	A
3			A
4		460,2	A
5		460,2	A

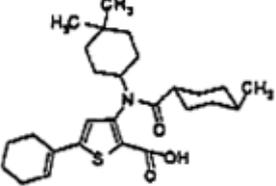
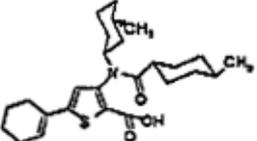
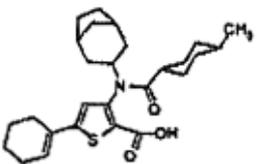
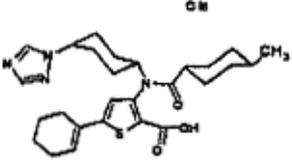
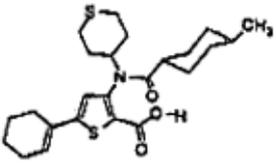
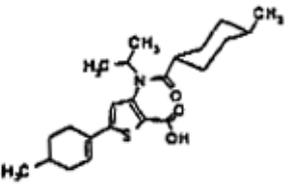
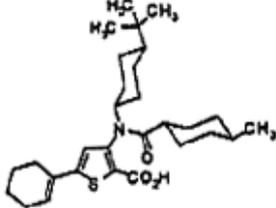
6		462,3	A
7		390,1	A
8		444,2	A
9		446,2	A
10		424,1	A
11		430,2	A

12		460,4	A
13		502,3	A
14		504,2	A
15		425,4	C
16		432,2	A
17			

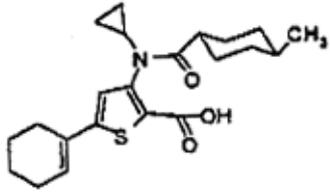
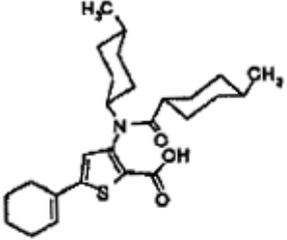
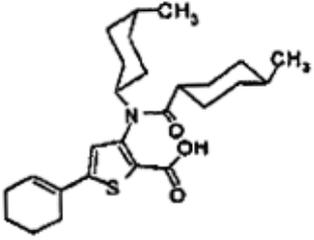
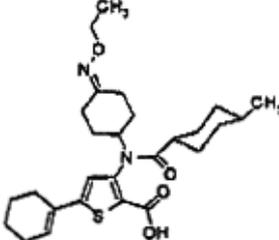
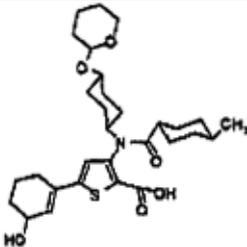
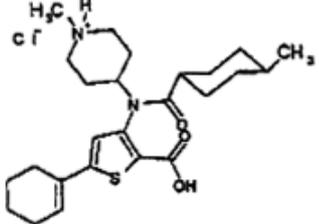
18		559,5	A
19		603,5	A
20		488,4	A
21		490,5	A
22		474,4	A
23		460,3	A
24		490,4	A

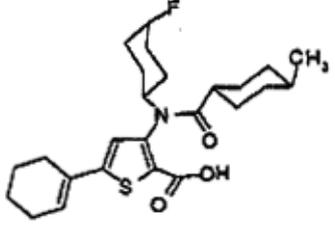
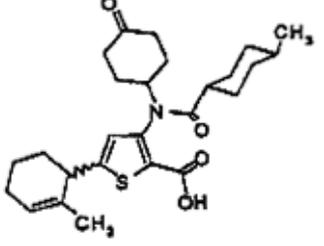
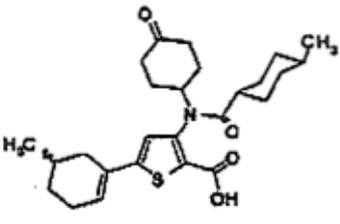
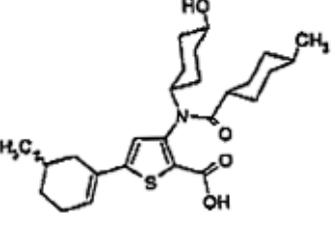
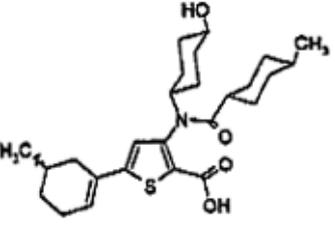
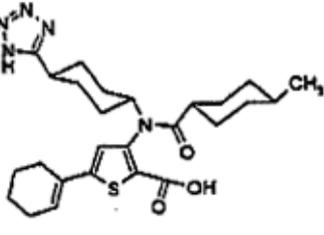
25		460,2	B
26		565,3	A
27		503,3	A
28		458,1	C
29		432,4	A
30		434,1	A
31		439,1	B

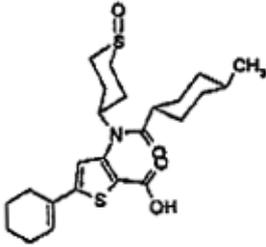
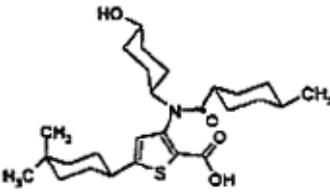
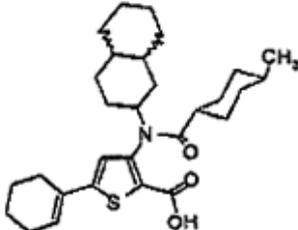
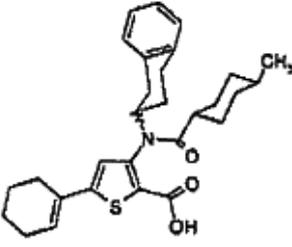
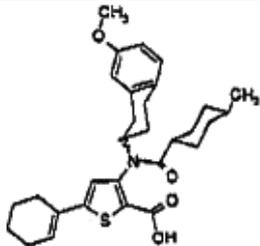
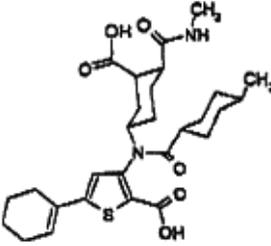
32			A
33		538,4	A
34		462,3	A
35		474,4	A
36		448,4	A
37		362,3	B

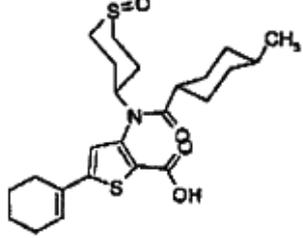
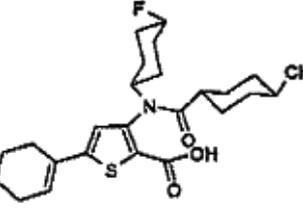
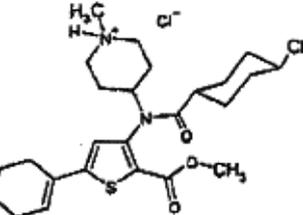
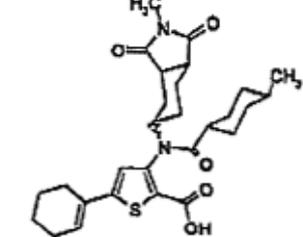
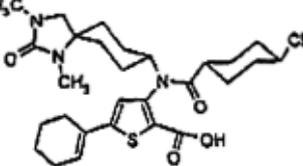
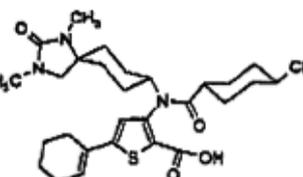
38		458,4	A
39		444,4	A
40		456,4	A
41		497,4	A
42		448,3	A
43		404,3	A
44		486,4	B

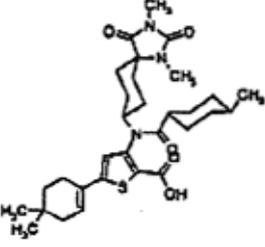
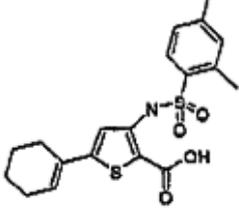
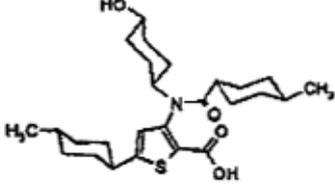
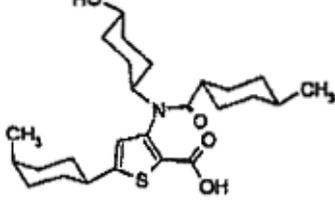
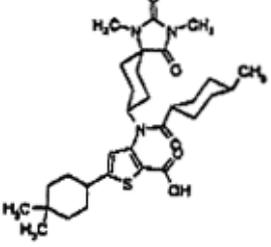
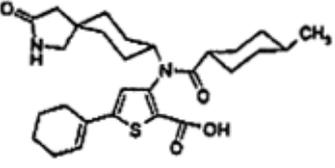
45		486,5	A
46		444,4	A
47		444,3	A
48		497,4	A
49		455,3	A
50		455,4	A

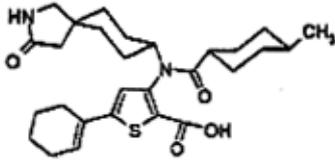
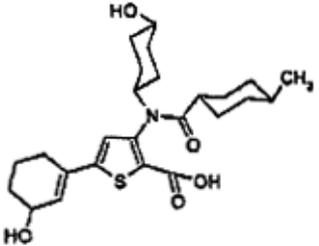
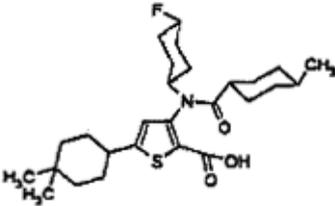
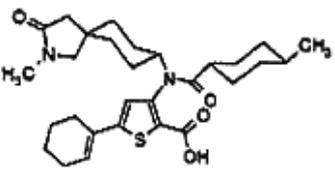
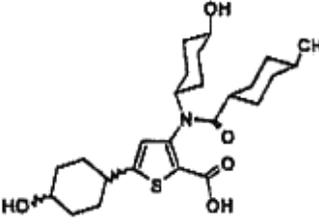
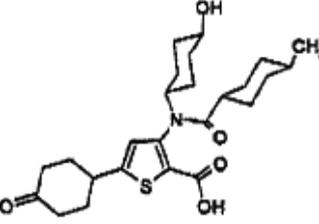
51		388,3	B
52		444,4	A
53		444,4	A
54		487,7	A
55		546,4	A
56		445,4 (M+)	A

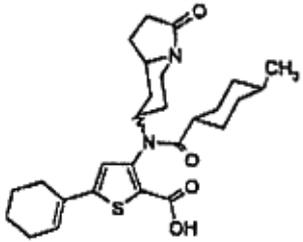
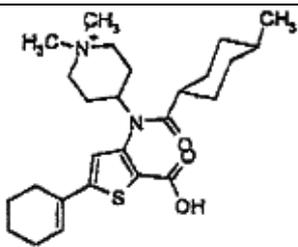
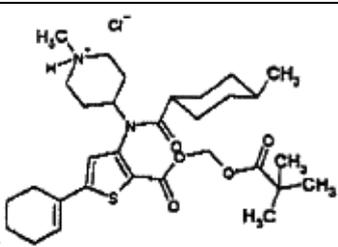
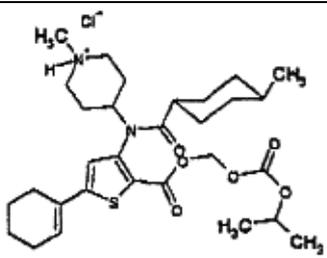
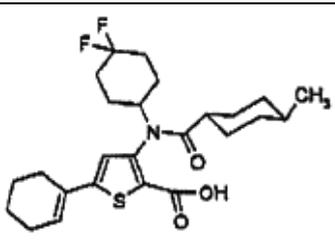
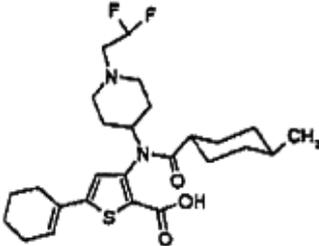
57		448,3	A
58		458,4	B
59		458,4	A
60		460,4	A
61		460,4	A
62		498,4	A

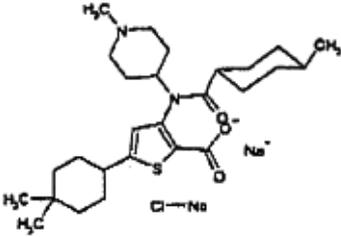
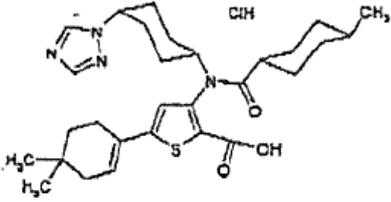
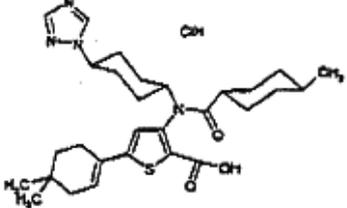
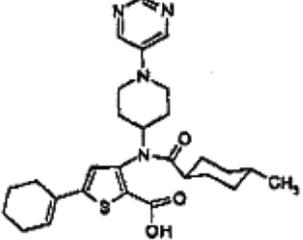
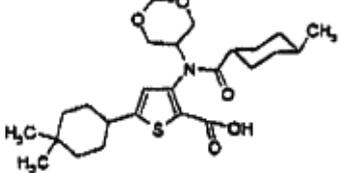
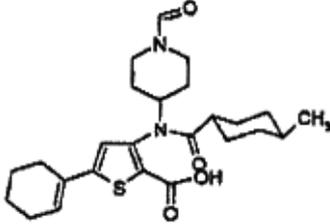
63		464,3	A
64		476,4	A
65		484,4	A
66		478,4	A
67		508,4	A
68		531,4	A

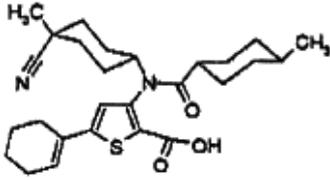
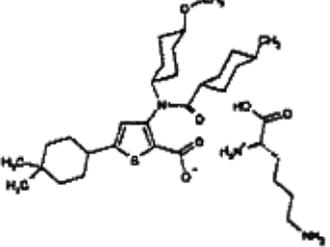
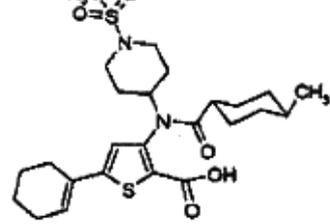
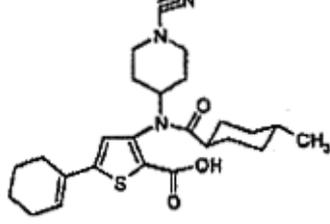
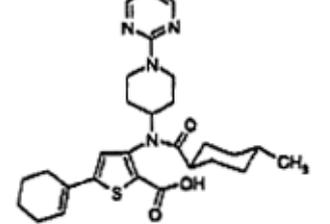
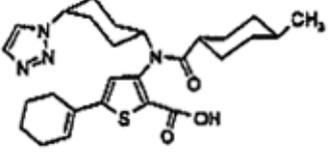
69		464,3	A
70		448,3	A
71		460,4 (M <sup>+</sup> )	A
72		513,4	A
73		528,4	A
74		528,4	A

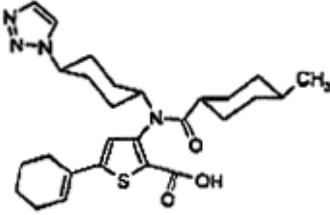
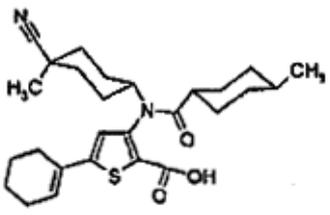
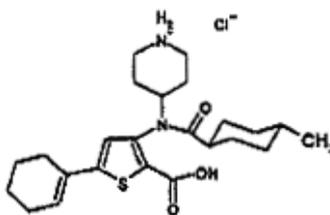
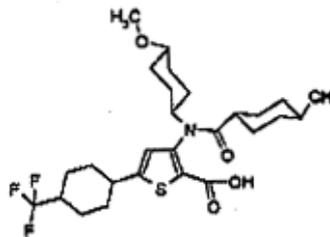
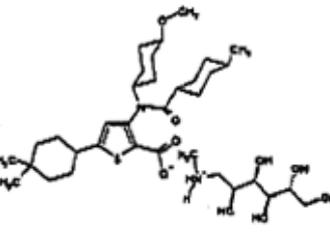
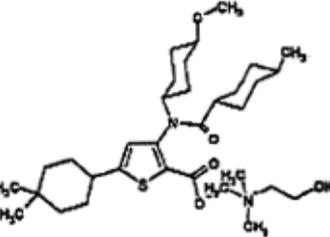
75		570,3	A
76			
77		462,3	A
78		462,3	A
79		572,5	A
80		499,4	A

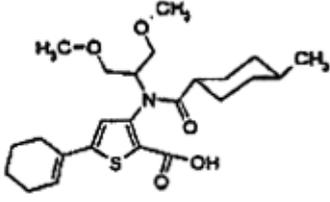
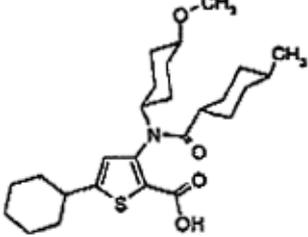
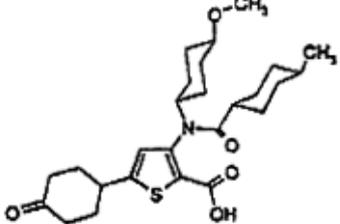
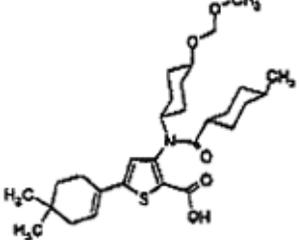
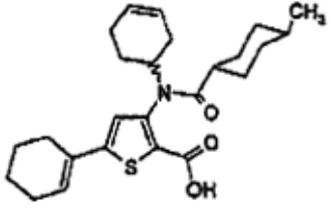
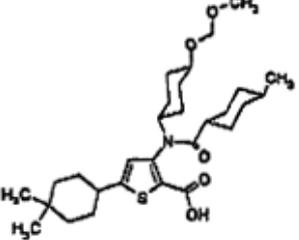
81		499,4	A
82		462,3	B
83		478,4	A
84		513,4	A
85		464,4	B
86		462,4	B

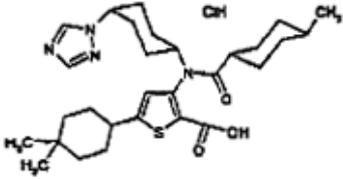
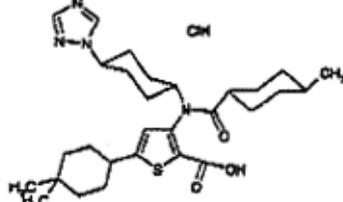
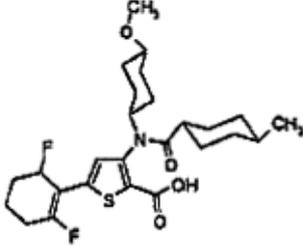
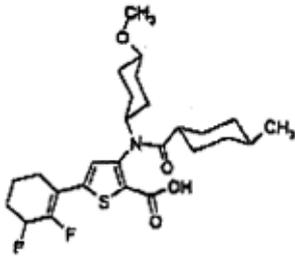
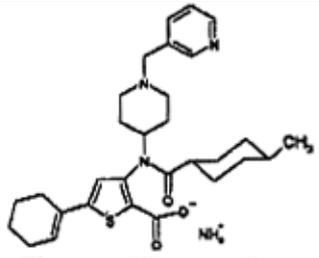
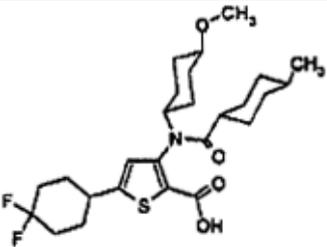
87		485,3	A
88		459,2 (M+)	A
89		559,5 (M+)	
90		561,5 (M+)	
91		466,3	
92		495,4	

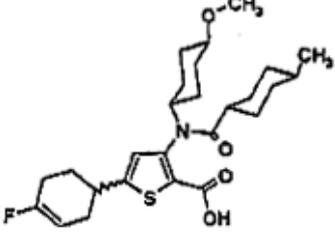
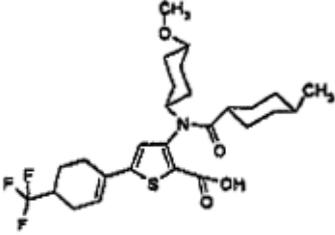
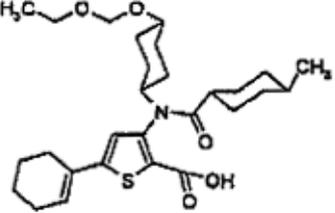
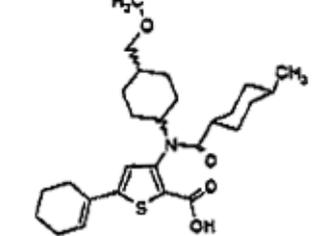
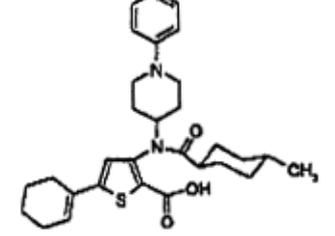
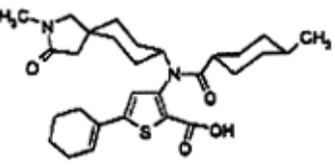
93			A
94		525,5	A
95		525,5	A
96		509,4	A
97		464,4	A
98			A

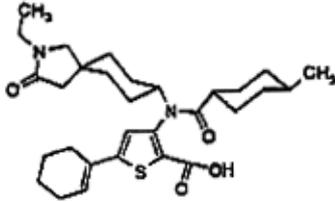
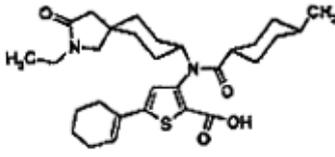
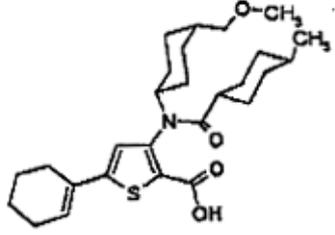
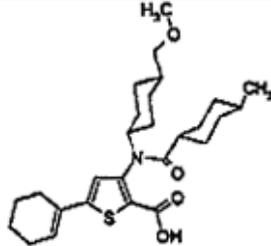
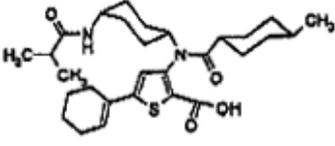
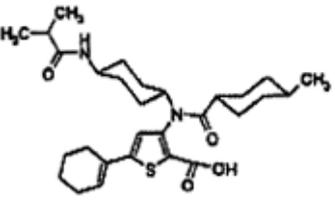
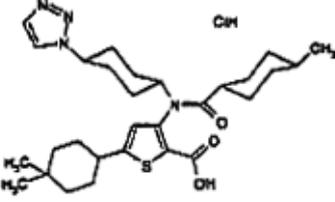
99		469,4	A
100			
101		509,4	A
102			A
103		509,4	A
104		497,4	A

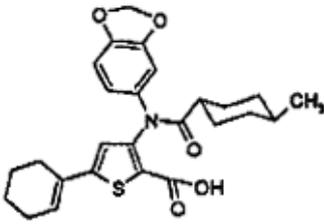
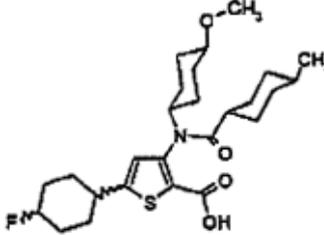
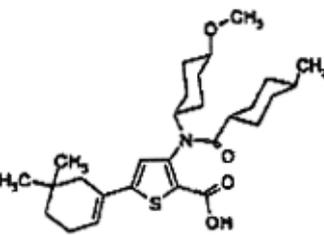
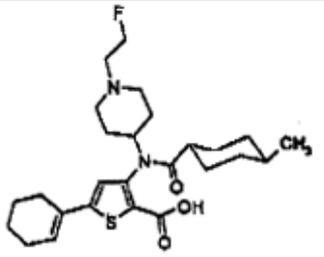
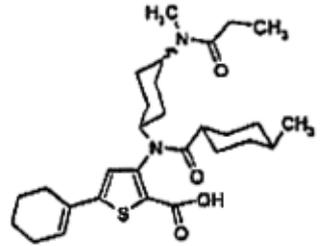
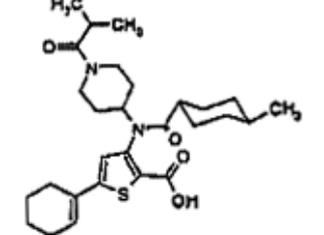
105		497,4	A
106		469,4	A
107		430,4 (M <sup>+</sup> )	A
108		530,4	A
109			
110			

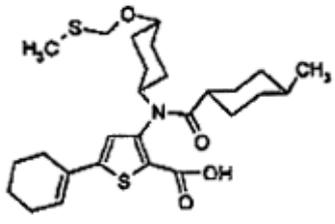
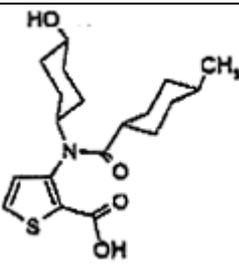
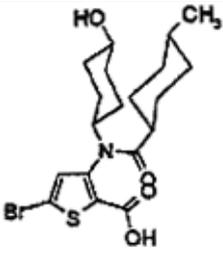
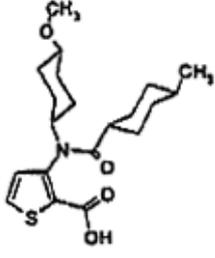
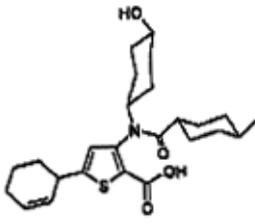
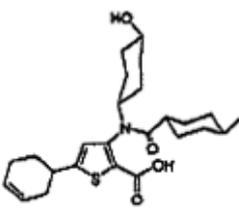
111		450,3	A
112		462,4	A
113		476,4	A
114		518,5	A
115		428,3	A
116		520,4	A

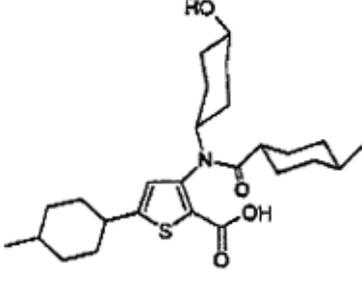
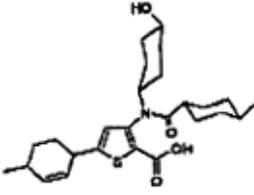
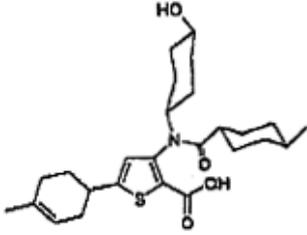
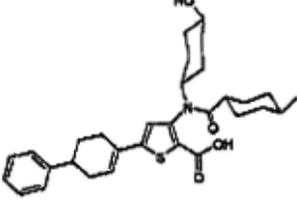
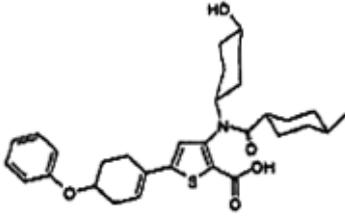
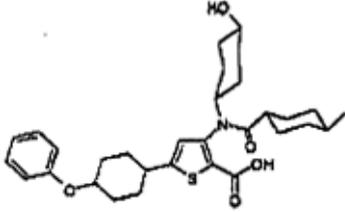
117		527,4	A
118		527,4	A
119		496,4	A
120		496,4	A
121		522,4	A
122		498,4	A

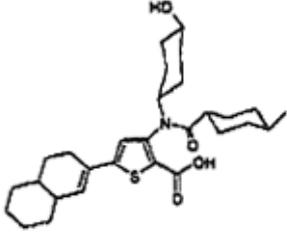
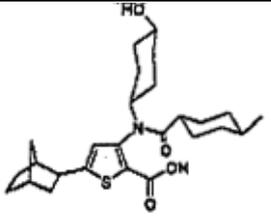
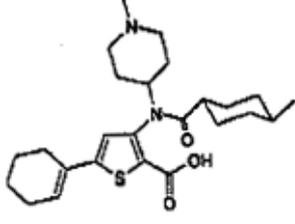
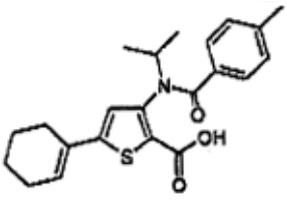
123		478,4	A
124		528,4	A
125		504,4	A
126		474,4	A
127		507,4	A
128		513,4	A

129		527,4	A
130		527,4	A
131		474,4	A
132		474,4	A
133		515,4	A
134		515,4	A
135			A

136		468,0	A
137		480,3	A
138		488,3	A
139		477,3	A
140		515,4	A
141		501,3	A

142		506,3	A
143		366,1	
144			
145		380,1	
146			
147			

148			
149			
150			
151			
152			
153			

154			
155			
156			
157			

\* los análisis espectrales de masa se registran usando espectrometría de masas de electropulverización. Salvo que se especifique lo contrario, los datos espectrales de masa son  $(M+H)^+$ .

5 Ejemplo 51: Evaluación de compuestos en el ensayo de la polimerasa de ARN dependiente de ARN de VHC

Las siguientes referencias se incorporan como referencia:

1. Behrens, S., Tomei, I., De Francesco, R. (1996) EMBO 15, 12-22
2. Harlow, E, y Lane, D. (1988) *Antibodies: A Laboratory Manual*. Cold Spring Harbor Laboratory. Cold Spring Harbor. NY.
3. Lohmann, V., Körner, F., Herian, U., y Bartenschlager, R. (1997) *J. Virol.* 71, 8416-8428
4. Tomei, I., Failla, C., Santolini, E., De Francesco, R., y La Monica, N. (1993) *J. Virol.* 67, 1017-4026

Los compuestos se evaluaron usando un ensayo de la polimerasa *in vitro* que contenía polimerasa de ARN dependiente de ARN de VHC (proteína NS5B). NS5B de VHC se expresó en células de insectos usando un baculovirus recombinante como vector. A continuación se describen los procedimientos experimentales usados para la clonación, expresión y purificación de la proteína NS5B de VHC. Después se ofrecen detalles de los ensayos de la polimerasa de ARN dependiente de ARN usados para probar los compuestos.

10 Expresión de la proteína NS5B de VHC en células de insectos:

El ADNc que codifica toda la proteína NS5B de la cepa VHC-Bk, genotipo 1b, se amplificó por PCR usando los cebadores NS5Nhe5' (5'-GCTAGCGCTAGCTCAATGTCCTACACATGG-3') y XhoNS53' (5'-CTCGAGCTCGAGCGTCCATCGGTTGGGGAG-3') y el plásmido pCD 3,8-9,4 como plantilla (Tomei y col., 1993). NS5Nhe5' y XhoNS53' contienen dos sitios *NheI* y *XhoI* (secuencias subrayadas), respectivamente, en su extremo 5'. El fragmento de ADN amplificado fue clonado en el plásmido de expresión bacteriana pET-21b (Novagen) entre los sitios de restricción *NheI* y *XhoI*, para generar el plásmido pET/NS5B. Este plásmido se usó posteriormente como

20 plantilla para amplificación por PCR de la región de codificación NS5B, usando los cebadores NS5B-H9 (5'-ATACATATGGCTAGCATGTCAATGTCCTACACATGG-3') y NS5B-R4 (5'-GGATCCGGATCCCGTTCATCGGTTGGGGAG-3'). NS5B-H9 se extiende a una región de 15 nucleótidos en el plásmido pET-21b seguido por el codón de

25 inicio de traducción (ATG) y 8 nucleótidos correspondientes al extremo 5' de la región de codificación NS5B (nt. 7590-7607 en la secuencia de VHC con el número de acceso M58335). NS5B-R4 contiene dos sitios *Bam*HI (subrayados) seguidos por 18 nucleótidos que corresponden a la región situada alrededor del codón de terminación en el genoma del VHC (nt. 9365-9347). La secuencia

30 amplificada, de 1,8 kb, fue digerida con *NheI* y *Bam*HI y se ligó a plásmido pBlueBacII predigerido (Invitrogen). El plásmido recombinante resultante se designó como pBac/NS5B. Las células Sf9 fueron cotransfectadas con 3 µg de pBac/NS5B, junto con 1 µg de ADN de baculovirus linealizado (Invitrogen), según se describe en el protocolo del fabricante. Después de dos tandas de

35 purificación de placa, se aisló un baculovirus recombinante de NS5B,

BacNS5B. La presencia de la proteína NS5B recombinante se determinó por análisis de inmunotransferencia Western (Harlow y Lane, 1988) de células Sf9 infectadas con BacNS5B, usando un antisuero policlonal de conejo (anti-NS5B) producido contra una versión marcada en His de la proteína NS5B expresada en *E. coli*. Las infecciones de células Sf9 con este virus purificado en placa se realizaron en matraces de agitación de un litro a una densidad celular de  $1,2 \times 10^6$  células/ml y una multiplicidad de infección de 5.

#### Preparación de una proteína NS5B recombinante soluble:

10 Las células Sf9 se infectaron según se describe anteriormente. Sesenta horas después de la infección, se recogieron las células y a continuación se lavaron dos veces con solución salina de tampón de fosfato (PBS). Las proteínas totales se solubilizaron según se describe en Lohmann y col. (1997) con algunas modificaciones. En suma, las proteínas se extrajeron en tres etapas, S1, S2, S3, usando tampones de lisis (LB) I, LB II y LB III (Lohmann y col., 1997). La composición de LBII fue modificada para contener Tritón X-100 al 0,1% y NaCl 150 mM para reducir la cantidad de proteína NS5B solubilizada en esta etapa. Además, se evitó la sonicación de extractos celulares en todo el protocolo para preservar la integridad de la estructura de la proteína.

20

#### Purificación de NS5B recombinante usando cromatografía líquida rápida de proteínas (FPLC):

Se diluyó la proteína NS5B soluble en la fracción S3 para reducir la concentración de NaCl a 300 mM, y a continuación se incubó por lotes con perlas de Sefarosa DEAE (Amersham-Pharmacia) durante 2 horas a 4°C, según se describe en Behrens y col. (1996). El material no ligado se limpió por centrifugación durante 15 min a 4°C, a 25.000 rpm usando un rotor SW41 (Beckman). Se diluyó adicionalmente el sobrenadante para reducir la concentración de NaCl a 200 mM y posteriormente se cargó, con una velocidad de flujo de 1 ml/min, en una columna de heparina HiTrap® de 5 ml (Amersham-Pharmacia) conectada con un sistema FPLC® (Amersham-Pharmacia). Las proteínas ligadas se eluyeron en fracciones de 1 ml, usando un gradiente continuo de NaCl de 0,2 a 1 M, en un volumen de 25 ml. Se identificaron fracciones que contenían NS5B mediante electroforesis en gel de poliacrilamida con dodecilsulfato de sodio (SDS-PAGE), seguido por

35

inmunotransferencia Western usando el antisuero anti-NS5B a una dilución de 1:2.000. Se conservaron fracciones positivas y se intercambió el tampón de elución frente a  $\text{NaPO}_4$  50 mM pH 7,0, glicerol al 20%, Tritón X-100 al 0,5% y DTT 10 mM, usando una columna PD-10 (Amersham-Pharmacia). A

5 continuación se cargó la muestra en una columna SP HiTrap<sup>®</sup> de 1 ml (Amersham-Pharmacia), con una velocidad de flujo de 0,1 ml/min. Las proteínas ligadas se eluyeron usando un gradiente continuo de NaCl de 0 a 1 M en un volumen de 15 ml. Se analizaron las fracciones eluidas por SDS-PAGE e

10 inmunotransferencia Western. Alternativamente, las proteínas se visualizaron, después de SDS-PAGE, por tinción de plata usando el kit Silver Stain Plus (BioRad) según lo describe el fabricante. Se sometieron a ensayo las fracciones positivas sobre actividad RdRp (véase más adelante) y las más activas se reunieron, y se guardaron con una solución de glicerol al 40% a -70°C.

15

Ensayo de proximidad por centelleo en placa de centelleo RdRp de VHC *in vitro* (ENSAYO STREP-FLASH) usado para evaluar los productos análogos:

Este ensayo consiste en medir la incorporación de UTP radiomarcado por [<sup>3</sup>H] en una plantilla-cebador poli(rA)/oligo dT biotinilado, capturado en la

20 superficie de Flashplates<sup>™</sup> de microvaloración integradas de centelleo recubiertas con estreptavidina (NEN Life Science Products inc, MA, EE.UU., SMP 103A). En suma, se mezclaron 400 ng/ $\mu\text{l}$  de una solución de poli(rA) (Amersham Pharmacia Biotech) en volumen-volumen con 5' biotin-oligo dT<sub>15</sub> a 20 pmol/ $\mu\text{l}$ . La plantilla y los cebadores se desnaturalizaron a 95°C durante 5

25 minutos y a continuación se incubaron a 37°C durante 10 minutos. Posteriormente se diluyó la plantilla-cebadores hibridada en un tampón que contenía Tris-HCl y se dejó que se unieran a placas de centelleo recubiertas con estreptavidina durante toda la noche. El material no ligado se desechó, se añadieron los compuestos en 10  $\mu\text{l}$  de solución seguido por 10  $\mu\text{l}$  de una

30 solución que contenía  $\text{MgCl}_2$  50 mM, Tris-HCl 100 mM pH 7,5, NaCl 250 mM y DTT 5 mM. La reacción enzimática se inició con la adición de 30  $\mu\text{l}$  de solución que contenía la enzima y el sustrato para obtener las siguientes concentraciones: 25  $\mu\text{M}$  de UTP, 1  $\mu\text{Ci}$  de [<sup>3</sup>H] UTP y 100 nM de NS5B de VHC recombinante. Se dejó que las reacciones RdRp prosiguieran durante 2 horas a

35 temperatura ambiente después de lo cual se lavaron los pocillos tres veces con

250 µl de solución de NaCl 0,15 M, se secó con aire a 37°C y se contó usando un contador de centelleo líquido (Wallac Microbeta Trilex, Perkin-Elmer, MA, EE.UU.).

## 5 Ejemplo 52

### Cultivo celular de ensayo de replicación de ARN de VHC indicador de luciferasa de base celular

Se mantuvieron en cultivo líneas celulares de replicón Huh-7, 5.2 y ET que se obtienen de la línea celular de hepatocarcinoma Huh-7 tal como se describe en general en Krieger, N; Lohmann, V; Bartenschlager, R. Enhancement of hepatitis C virus RNA replication by cell culture-adaptive mutations. *J. Virol.* 2001, 75, 4614-4624. Las células Huh-7, 5.2 contienen la construcción I<sub>389</sub>luc-ubi-neo/NS3-3'/5.1 del replicón altamente adaptada a cultivo celular una construcción que porta, además del gen de neomicina, una copia integrada del gen de luciferasa de luciérnaga (Krieger, N; Lohmann, V; Bartenschlager, R. Enhancement of hepatitis C virus RNA replication by cell culture-adaptive mutations. *J. Virol.* 2001, 75, 4614-4624). Esta línea celular permite la medida de la replicación y traducción de ARN de VHC midiendo la actividad de la luciferasa. Se ha mostrado anteriormente que la actividad de la luciferasa sigue estrechamente el nivel de ARN del replicón en estas células (Krieger, N; Lohmann, V; Bartenschlager, R. Enhancement of hepatitis C virus RNA replication by cell culture-adaptive mutations. *J. Virol.* 2001, 75, 4614-4624). La línea celular Huh-7, ET tiene las mismas características que las mencionadas para la línea celular Huh-7, 5.2, con la salvedad de que las células ET son más robustas y contienen una mutación adaptativa en el gen NS4B de VHC en lugar de NS5A. Las dos líneas celulares se mantuvieron en cultivos en un nivel subconfluyente (<85%) ya que el nivel de ARN de replicón es el más alto en células en proliferación activa. Los medios de cultivo usados para el paso celular consisten en DMEM (Gibco BRL Laboratories, Mississauga, ON, Canadá) suplementado con suero bovino fetal al 10% con penicilina/estreptomicina al 1%, glutamina al 1%, piruvato de sodio al 1%, aminoácidos no esenciales al 1% y 350 µg/ml de concentración final de G418. Las células se incubaron a 37°C, en una atmósfera de CO<sub>2</sub> al 5% y se hicieron pasar dos veces por semana para mantener la sub-confluencia.

Se sometieron a ensayo en placa aproximadamente 3.000 células Huh-

7, 5.2 o ET viables (100  $\mu$ l) por pocillo en una placa de microvaloración de 96 pocillos opaca blanca. Los medios de cultivo celular usados para el ensayo fueron los mismos que se describen anteriormente con la salvedad de que no contienen G418 ni rojo de fenol. Después de un periodo de incubación de 3-4  
5 horas a 37°C en un incubador de CO<sub>2</sub> al 5%, se añadieron compuestos (100  $\mu$ l) a varias concentraciones. A continuación se incubaron las células adicionalmente durante 4 días a 37°C en un incubador de CO<sub>2</sub> al 5%. Posteriormente, se eliminó el medio de cultivo y se lisaron las células mediante la adición de 95  $\mu$ l del tampón de luciferasa (sustrato de luciferina en  
10 detergente tamponado). Los lisados celulares se incubaron a temperatura ambiente y se protegieron de la luz directa durante al menos 10 minutos. Se leyeron las placas para conocer los recuentos de luciferasa usando un luminómetro (Wallac MicroBeta Trilux, Perkin Elmer™, MA, EE.UU.).

Las concentraciones inhibitorias al 50% (CI<sub>50</sub>) para un efecto inhibitor se  
15 determinaron a partir de curvas dosis-respuesta usando once concentraciones por compuesto en duplicado. Las curvas se ajustaron a puntos de datos usando análisis de regresión no lineal, y las CI<sub>50</sub> se interpolaron a partir de la curva resultante usando el software GraphPad Prism, versión 2.0 (GraphPad Software Inc., San Diego, CA, EE.UU.).

20 La Tabla 1 enumera los compuestos representativos de la invención así como otros compuestos de ejemplo. La mayoría de los compuestos enumerados en la tabla 1 se sometieron a ensayo en cuanto al Cultivo Celular de Ensayo de Replicación de ARN Indicador de Luciferasa de Base Celular y la actividad se incluye en la tabla del modo siguiente:

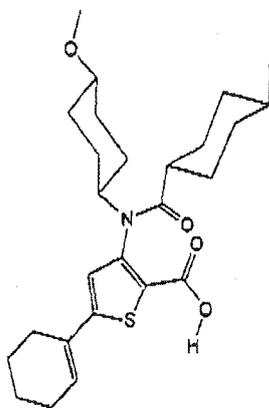
- 25 A: CI<sub>50</sub> inferior a 5  $\mu$ M  
B: CI<sub>50</sub> entre 5  $\mu$ M y 25  $\mu$ M  
C: CI<sub>50</sub> superior a 25  $\mu$ M

Los ejemplos precedentes pueden repetirse con éxito similar  
sustituyendo los reactivos y/o las condiciones operativas descritos genérica o  
30 específicamente de la presente invención por los usados en los ejemplos precedentes.

A partir de la descripción anterior, un experto en la materia puede elucidar con facilidad las características esenciales de la presente invención y, sin separarse del espíritu y el ámbito de la misma, puede realizar varios  
35 cambios y modificaciones de la invención dentro del ámbito de las

reivindicaciones adjuntas para adaptarla a los diversos usos y condiciones.

**REIVINDICACIONES**



1. Un compuesto o una sal farmacéuticamente  
aceptable del mismo, un solvato farmacéuticamente aceptable del mismo o un  
5 solvato de una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.
  
2. Una composición farmacéutica que comprende al menos un compuesto  
según la reivindicación 1 y al menos un soporte o excipiente  
farmacéuticamente aceptable.  
10
  
3. Una combinación farmacéutica que comprende al menos un compuesto  
según la reivindicación 1 y al menos un agente adicional.
  
4. Una combinación farmacéutica según la reivindicación 3, en la que dicho  
15 al menos un agente adicional se selecciona entre inhibidores de la serina-  
proteasa vírica, inhibidores de la polimerasa vírica, inhibidores de la helicasa  
vírica, agentes de inmunomodulación, agentes antioxidantes, agentes  
antibacterianos, vacunas terapéuticas, agentes hepatoprotectores, agentes  
antisentido, inhibidores de proteasa NS2/3 del VHC e inhibidores de sitio de  
20 entrada interna del ribosoma (IRES).
  
5. Una combinación farmacéutica según la reivindicación 4, en la que dicho  
al menos otro agente antivírico es interferón  $\alpha$ , ribavirina, Silybum marianum,  
interleucina-12, amantadina, ribozima, timosina, N-acetilcisteína o ciclosporina.  
25
  
6. El compuesto según la reivindicación 1 para su uso en un procedimiento  
de tratamiento o prevención de una infección vírica por Flaviviridae en un

hospedador.

7. El compuesto para su uso según la reivindicación 6, en el que dicha infección vírica es virus de la hepatitis C (VHC), virus de la diarrea vírica bovina (VDVB), virus de la peste porcina, virus del dengue, virus de la encefalitis japonesa o virus de la fiebre amarilla.

8. El compuesto para su uso según la reivindicación 6, en el que dicha infección vírica es una infección vírica de hepatitis C.

10

9. El compuesto para su uso según la reivindicación 6, comprendiendo además el procedimiento la administración de al menos un agente adicional.

10. Un compuesto para su uso según la reivindicación 9, en el que dicho al menos un agente adicional se selecciona entre inhibidores de la serina-proteasa vírica, inhibidores de la polimerasa vírica, inhibidores de la helicasa vírica, agentes de inmunomodulación, agentes antioxidantes, agentes antibacterianos, vacunas terapéuticas, agentes hepatoprotectores, agentes antisentido, inhibidores de proteasa NS2/3 del VHC e inhibidores de sitio de entrada interna del ribosoma (IRES).

20

11. Un compuesto para su uso según la reivindicación 10, en el que dicho al menos otro agente antivírico es interferón  $\alpha$ , ribavirina, Silybum marianum, interleucina-12, amantadina, ribozima, timosina, N-acetilcisteína o ciclosporina.

25

12. El compuesto para su uso según la reivindicación 10, en el que dicho compuesto y dicho al menos otro agente antivírico son administrados secuencialmente.

13. El compuesto para su uso según la reivindicación 10, en el que dicho compuesto y dicho al menos otro agente antivírico son administrados simultáneamente.

30

14. El compuesto según la reivindicación 1 para su uso en un procedimiento de inhibición o reducción de la actividad de polimerasa vírica en un

35

hospedador.

15. El compuesto para su uso según la reivindicación 14, que comprende además la administración de uno o más inhibidores de polimerasa vírica.

5

16. El compuesto para su uso según la reivindicación 14, en el que dicha polimerasa vírica es una polimerasa vírica de Flaviviridae.

17. El compuesto para su uso según la reivindicación 14, en el que dicha  
10 polimerasa vírica es una polimerasa de ARN dependiente de ARN.

18. El compuesto para su uso según la reivindicación 14, en el que dicha polimerasa vírica es polimerasa de VHC.

15 19. El compuesto según la reivindicación 1 para su uso en un procedimiento de inhibición o reducción de la actividad de helicasa vírica en un hospedador.