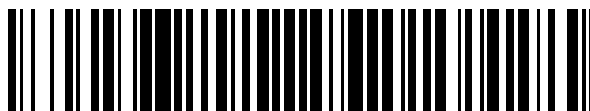


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 423 219**

51 Int. Cl.:

C07D 333/40 (2006.01)

A61P 31/12 (2006.01)

A61K 31/381 (2006.01)

C07D 409/12 (2006.01)

C07D 333/38 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **15.11.2007 E 07845534 (2)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **01.05.2013 EP 2104674**

54 Título: **Análogos de tiofeno para el tratamiento o prevención de infecciones por flavivirus**

30 Prioridad:

15.11.2006 US 858939 P

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

18.09.2013

73 Titular/es:

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

72 Inventor/es:

**CHAN CHUN KONG, LAVAL;
KUMAR DAS, SANJOY;
POISSON, CARL;
YANNOPOULOS, CONSTANTIN G.;
FALARDEAU, GUY;
VAILLANCOURT, LOUIS y
DENIS, RÉAL**

74 Agente/Representante:

FÚSTER OLAGUIBEL, Gustavo Nicolás

ES 2 423 219 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

Análogos de tiofeno para el tratamiento o prevención de infecciones por flavivirus.

La presente invención se refiere a compuestos novedosos y a un procedimiento para el tratamiento o prevención de infecciones por *Flavivirus* usando compuestos novedosos.

5 La hepatitis es una enfermedad que se produce en todo el mundo. Es generalmente de naturaleza viral, aunque hay otras causas conocidas. La hepatitis viral es con creces la forma más común de hepatitis. Casi 750.000 estadounidenses son afectados por la hepatitis cada uno año, y de aquellos, más de 150.000 se infectan con el virus de la hepatitis C ("VHC").

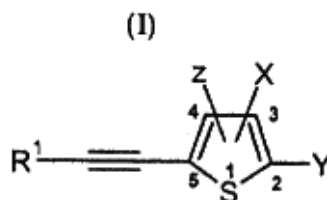
10 El VHC es un virus de ARN de cadena positiva que pertenece a la familia *Flaviviridae* y tiene una relación muy estrecha con los pestivirus que incluyen virus de la peste porcina y virus de la diarrea viral bovina (VDVB). Se cree que el VHC se replica por la producción de un molde de ARN de cadena negativa complementaria. Debido a la falta de sistema de replicación en cultivo eficiente para el virus, las partículas de VHC se aislaron de plasma humano reunido y mostraron, por microscopía electrónica, que tenían un diámetro de aproximadamente 50-60 nm. El genoma del VHC es un ARN de sentido positivo monocatenario de aproximadamente 9.600 pb que codifica una poliproteína de 3009-3030 aminoácidos, que se escinde co- y pos-traduccionally en proteínas virales maduras (núcleo, E1, E2, p7, NS2, NS3, NS4A, NS4B, NS5A, NS5B). Se cree que las glucoproteínas estructurales, E1 y E2, están incorporadas en una envoltura lipídica viral y forman heterodímeros estables. También se cree que la proteína del núcleo estructural interacciona con el genoma del ARN viral para formar la nucleocápside. Las proteínas no estructurales designadas NS2 a NS5 incluyen proteínas con funciones enzimáticas implicadas en la replicación de virus y el procesamiento de proteínas que incluye una polimerasa, proteasa y helicasa.

15 La principal fuente de contaminación con VHC es la sangre. La magnitud de la infección por el VHC como problema de salud se ilustra por la prevalencia entre grupos de alto riesgo. Por ejemplo, 60% al 90% de hemofílicos y más del 80% de drogadictos intravenosos en países occidentales están crónicamente infectados por el VHC. Para drogadictos intravenosos, la prevalencia varía de aproximadamente el 28% al 70% dependiendo de la población estudiada. La proporción de nuevas infecciones por el VHC asociadas a post-transfusión se ha reducido últimamente sustancialmente debido a avances en las herramientas de diagnóstico usadas para cribar donantes de sangre.

25 La combinación de interferón PEGilado más ribavirina es el tratamiento de elección para infección por el VHC crónica. Este tratamiento no proporciona respuesta viral sostenida (SVR) en la mayoría de los pacientes infectados con el genotipo más prevalente (1a y 1b). Además, efectos secundarios significativos evitan el cumplimiento de la presente pauta y puede requerir reducción o suspensión de la dosis en algunos pacientes.

30 Por tanto, hay una gran necesidad de desarrollo de agentes antivirales para su uso en el tratamiento de o la prevención de infecciones por *Flavivirus*.

En un aspecto, la presente invención proporciona un compuesto de fórmula I:

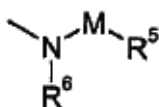


35 o sales farmacéuticamente aceptables del mismo; en la que

R¹ es alquilo C₁₋₆, cicloalquilo C₃₋₆ o arilo C₆₋₁₄ que está sustituido una o más veces con -NH(alquilo C₁₋₄), -N(alquilo C₁₋₄)₂, hidroxilo, NH₂, heterociclo de 3-12 miembros o NHSO₂-arilo C₆₋₁₈;

40 Z es H, halógeno, alquilo C₁₋₆ que está sin sustituir o sustituido una o más veces con R¹⁰, alqueno C₂₋₆ que está sin sustituir o sustituido una o más veces con R¹⁰, o alquino C₂₋₆ que está sin sustituir o sustituido una o más veces con R¹⁰;

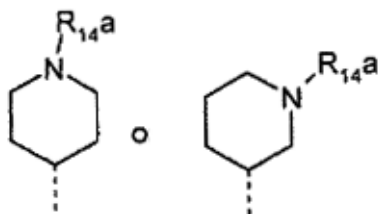
X es



M es



R⁵ es ciclohexilo que está sin sustituir o sustituido una o más veces con R¹³;



R⁶ es o ciclohexilo que está sustituido una o más veces con R¹⁴;

5 Y es COOR⁷, COCOOR⁷, P(O)OR^aOR^b, S(O)OR⁷, S(O)₂OR⁷, tetrazol, CON(R⁷)CH(R⁷)COOR⁷, CONR⁸R⁹, CON(R⁷)-SO₂-R⁷, CONR⁷OH y halógeno;

10 R⁷, R⁸ y R⁹ son cada uno independientemente H, alquilo C₁₋₁₂ que está sin sustituir o sustituido una o más veces con R¹⁰, alqueno C₂₋₁₂ que está sin sustituir o sustituido una o más veces con R¹⁰, alquino C₂₋₁₂ que está sin sustituir o sustituido una o más veces con R¹⁰, arilo C₆₋₁₄ que está sin sustituir o sustituido una o más veces con R¹¹, aralquilo C₇₋₁₆ que está sin sustituir o sustituido una o más veces con R¹¹, heteroarilo de 5-12 miembros que está sin sustituir o sustituido una o más veces con R¹¹, heteroaralquilo de 6-18 miembros que está sin sustituir o sustituido una o más veces con R¹¹, heterociclo de 3-12 miembros que está sin sustituir o sustituido una o más veces con R¹², o heterocicloalquilo de 4-18 miembros que está sin sustituir o sustituido una o más veces con R¹², o R⁸ y R⁹ se toman conjuntamente con el átomo de nitrógeno para formar un heterociclo de 3 a 10 miembros que está sin sustituir o sustituido una o más veces con R¹² o un heteroarilo de 5-12 miembros que está sin sustituir o sustituido una o más veces con R¹¹; y

20 Ra y Rb se eligen cada uno independientemente de H, alquilo C₁₋₁₂ que está sin sustituir o sustituido una o más veces con R¹⁰, alqueno C₂₋₁₂ que está sin sustituir o sustituido una o más veces con R¹⁰, alquino C₂₋₁₂ que está sin sustituir o sustituido una o más veces con R¹⁰, arilo C₆₋₁₄ que está sin sustituir o sustituido una o más veces con R¹¹, aralquilo C₇₋₁₆ que está sin sustituir o sustituido una o más veces con R¹¹, heteroarilo de 5-12 miembros que está sin sustituir o sustituido una o más veces con R¹¹, heteroaralquilo de 6-18 miembros que está sin sustituir o sustituido una o más veces con R¹¹, heterociclo de 3-12 miembros que está sin sustituir o sustituido una o más veces con R¹², o heterocicloalquilo de 4-18 miembros que está sin sustituir o sustituido una o más veces con R¹², o R^a y R^b se toman conjuntamente con los átomos de oxígeno para formar un heterociclo de 5 a 10 miembros que está sin sustituir o sustituido una o más veces con R¹⁰ o un heteroarilo de 5-12 miembros que está sin sustituir o sustituido una o más veces con R¹¹;

30 R¹⁰ es halógeno, oxo, -NH₂, -NH(alquilo C₁₋₄), -N(alquilo C₁₋₄)₂, -CONH₂, -CONH(alquilo C₁₋₄), -CON(alquilo C₁₋₄)₂, -NHCOH, -N(alquilo C₁₋₄)COH, -N(alquilo C₁₋₄)CO-alquilo C₁₋₄, -NHCO-alquilo C₁₋₄, -C(O)H, -C(O)alquilo C₁₋₄, carboxi, -C(O)O-alquilo C₁₋₄, hidroxilo, alcoxi C₁₋₄, nitro, nitroso, azido, ciano, -S(O)₀₋₂H, -S(O)₀₋₂alquilo C₁₋₄, -SO₂NH₂, -SO₂NH(alquilo C₁₋₄), -SO₂N(alquilo C₁₋₄)₂, -NHSO₂H, -N(alquilo C₁₋₄)SO₂H, -N(alquilo C₁₋₄)SO₂-alquilo C₁₋₄ o -NHSO₂-alquilo C₁₋₄;

35 R¹¹ es halógeno, alquilo C₁₋₆, alquilo C₁₋₆ halogenado, alqueno C₂₋₆, alquino C₂₋₆, alcoxi C₁₋₆, -NH₂, -NH(alquilo C₁₋₄), -N(alquilo C₁₋₄)₂, -CONH₂, -CONH(alquilo C₁₋₄), -CON(alquilo C₁₋₄)₂, -NHCOH, -N(alquilo C₁₋₄)COH, -N(alquilo C₁₋₄)CO-alquilo C₁₋₄, -NHCO-alquilo C₁₋₄, -C(O)H, -C(O)alquilo C₁₋₄, carboxi, -C(O)O-alquilo C₁₋₄, hidroxilo, alcoxi C₁₋₆, nitro, nitroso, azido, ciano, -S(O)₀₋₂H, -S(O)₀₋₂alquilo C₁₋₄, -SO₂NH₂, -SO₂NH(alquilo C₁₋₄), -SO₂N(alquilo C₁₋₄)₂, -NHSO₂H, -N(alquilo C₁₋₄)SO₂H, -N(alquilo C₁₋₄)SO₂-alquilo C₁₋₄ o -NHSO₂-alquilo C₁₋₄;

40 R¹² es halógeno, oxo, alquilo C₁₋₆, alquilo C₁₋₆ halogenado, alqueno C₂₋₆, alquino C₂₋₆, -NH₂, -NH(alquilo C₁₋₄), -N(alquilo C₁₋₄)₂, -CONH₂, -CONH(alquilo C₁₋₄), -CON(alquilo C₁₋₄)₂, -NHCOH, -N(alquilo C₁₋₄)COH, -N(alquilo C₁₋₄)CO-alquilo C₁₋₄, -NHCO-alquilo C₁₋₄, -C(O)H, -C(O)alquilo C₁₋₄, carboxi, -C(O)O-alquilo C₁₋₄, hidroxilo, alcoxi C₁₋₆, nitro, nitroso, azido, ciano, -S(O)₀₋₂H, -S(O)₀₋₂alquilo C₁₋₄, -SO₂NH₂, -SO₂NH(alquilo C₁₋₄), -SO₂N(alquilo C₁₋₄)₂, -NHSO₂H, -N(alquilo C₁₋₄)SO₂H, -N(alquilo C₁₋₄)SO₂-alquilo C₁₋₄ o -NHSO₂-alquilo C₁₋₄;

45 50 R¹³ es OH, halógeno, alquilo C₁₋₆, alquilo C₁₋₆ halogenado, alcoxi C₁₋₆, alcoxi C₁₋₆ halogenado, ciano, nitro, -NH₂, -NH(alquilo C₁₋₄), -N(alquilo C₁₋₄)₂, -CONH₂, -CONH(alquilo C₁₋₄), -CON(alquilo C₁₋₄)₂, -NHCOH, -N(alquilo C₁₋₄)COH, -N(alquilo C₁₋₄)CO-alquilo C₁₋₄, -NHCO-alquilo C₁₋₄, -C(O)H, -C(O)alquilo C₁₋₄, carboxi, -C(O)O-alquilo C₁₋₄, -S(O)₀₋₂alquilo C₁₋₄, -SO₂NH₂, -SO₂NH(alquilo C₁₋₄), -SO₂N(alquilo C₁₋₄)₂, -N(alquilo C₁₋₄)SO₂H, -N(alquilo C₁₋₄)SO₂-alquilo C₁₋₄, -NHSO₂-alquilo C₁₋₄, arilo C₆₋₄, ariloxi C₆₋₄ o ariloxi C₆₋₁₄-alquilo C₁₋₆;

R¹⁴ es OH, halógeno, alcoxi C₁₋₆, alquilo C₁₋₆, alquil C₁₋₆-CO-NH-, alquil C₁₋₆-CO-N(alquilo C₁₋₆)- o heteroarilo de 5 a 10 miembros; y

R^{14a} es alquilo C₁₋₆, cicloalquilo C₃₋₇, alquilo C₁₋₆ halogenado, alquil C₁₋₆-CO-, -S(O)₀₋₂-alquilo C₁₋₄, heteroarilo de 5 a 10 miembros o arilo C₆₋₁₄.

una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

5 Los compuestos de la presente invención son inhibidores de la polimerasa del VHC. Se ha encontrado sorprendentemente que los compuestos según la presente invención y que tienen un patrón de sustitución específico presentan propiedades mejoradas con respecto a otros inhibidores de la polimerasa del VHC de tiofeno. Por tanto, se cree que los compuestos de la presente invención tienen excelentes posibilidades de tratamiento y prevención de infecciones por hepatitis C.

10 En otro aspecto se proporciona un procedimiento para tratar o prevenir una infección viral por *Flaviviridae* en un paciente que comprende administrar al paciente una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto, composición o combinación de la invención.

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

15 En otro aspecto se proporciona una combinación que comprende un compuesto de la invención y uno o más agentes adicionales elegidos de inhibidores de la serina proteasa viral, inhibidores de la polimerasa viral, inhibidores de la helicasa viral, agentes inmunomoduladores, agentes antioxidantes, agentes antibacterianos, vacunas terapéuticas, agentes hepatoprotectores, agente antisentido, inhibidores de NS2/3 proteasa del VHC e inhibidores de sitio interno de entrada al ribosoma (IRES).

20 En otro aspecto se proporciona el uso de un compuesto, composición o combinación de la invención para tratar o prevenir una infección viral por *Flaviviridae* en un paciente.

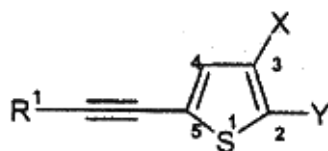
En otro aspecto adicional se proporciona el uso de un compuesto, composición o combinación de la invención para inhibir o reducir la actividad de polimerasa viral en un paciente.

25 En otro aspecto adicional se proporciona el uso de un compuesto, composición o combinación de la invención para la fabricación de un medicamento para tratar o prevenir una infección por *Flaviviridae* viral en un paciente.

En una realización, los compuestos de la presente invención comprenden aquellos en los que las siguientes realizaciones están presentes, tanto independientemente como en combinación.

Según un compuesto preferido o aspecto de procedimiento, los compuestos de la presente invención se representan por la fórmula IA:

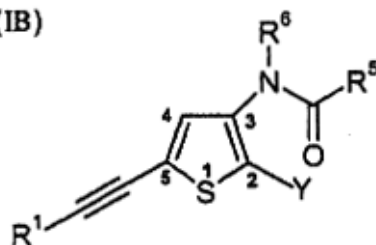
(IA)



30 o sales farmacéuticamente aceptables de los mismos; en la que cada uno de X, Y y R¹ son como se han definido anteriormente.

Según otro compuesto preferido o aspecto de procedimiento, los compuestos de la presente invención se representan por la fórmula IB:

(IB)



35 o sales farmacéuticamente aceptables de los mismos; en la que cada uno de X, Y, R¹, R⁵ y R⁶ son como se han definido anteriormente.

Según otra realización, R¹ en las fórmulas I, IA y IB es alquilo C₁₋₆ o cicloalquilo C₃₋₆ que están sin sustituir o sustituidos una o más veces con -NH₂, NHCH₃, N(CH₃)₂ o hidroxilo.

40 Según otra realización, R¹ en las fórmulas I, IA y IB es alquilo C₁₋₆ que está sin sustituir o sustituido una o

más veces con -NH_2 , NHCH_3 , $\text{N(CH}_3)_2$ o hidroxilo.

Según otra realización, R^1 en las fórmulas I, IA y IB es alquilo C_{1-6} .

Según otra realización, R^1 en las fórmulas I, IA y IB es R^1 es metilo, etilo, propilo, isopropilo, butilo, sec-butilo o terc-butilo.

5 Según otra realización, R^1 en las fórmulas I, IA y IB es ciclopropilo, ciclobutilo, ciclopentilo o ciclohexilo.

Según otra realización, R^1 en las fórmulas I, IA y IB es fenilo.

Según otra realización, Z en fórmula I es H, halógeno, o alquilo C_{1-6} que está sin sustituir o sustituido una o más veces con R^{10} .

10 Según otra realización, Z en fórmula I es H, halógeno, o alquilo C_{1-4} que está sin sustituir o sustituido una o más veces con R^{10} .

Según otra realización, Z en fórmula I es H o alquilo C_{1-4} .

Según otra realización, Z en fórmula I es H o metilo.

15 Según otra realización, Y en las fórmulas I, IA y IB es COOR^7 , y R^7 es H, alquilo C_{1-12} que está sin sustituir o sustituido una o más veces con R^{10} , alqueno C_{2-12} que está sin sustituir o sustituido una o más veces con R^{10} , alquino C_{2-12} que está sin sustituir o sustituido una o más veces con R^{10} , o arilo C_{6-14} que está sin sustituir o sustituido una o más veces con R^{11} .

Según otra realización, Y en las fórmulas I, IA y IB es COOR^7 , y R^7 es H, alquilo C_{1-6} que está sin sustituir o sustituido una o más veces con R^{10} , o arilo C_{6-14} que está sin sustituir o sustituido una o más veces con R^{11} .

20 Según otra realización, Y en las fórmulas I, IA y IB es COOR^7 , y R^7 es H, alquilo C_{1-4} que está sin sustituir o sustituido una o más veces con R^{10} , o fenilo que está sin sustituir o sustituido una o más veces con R^{11} .

Según otra realización, Y en las fórmulas I, IA y IB es COOR^7 y R^7 es H, alquilo C_{1-4} o fenilo.

Según otra realización, Y en las fórmulas I, IA y IB es COOR^7 y R^7 es H, metilo o etilo.

Según otra realización, Y en las fórmulas I, IA y IB es COOR^7 y R^7 es H.

25 Según otra realización, R^5 en las fórmulas I, IA y IB es ciclohexilo que está sin sustituir o sustituido una o más veces con OH, halógeno, alquilo C_{1-6} , alquilo C_{1-6} halogenado, alcoxi C_{1-6} , alcoxi C_{1-6} halogenado, ciano, nitro, -NH_2 , -NH (alquilo C_{1-4}) o -N (alquilo C_{1-4})₂.

Según otra realización, R^5 en las fórmulas I, IA y IB es ciclohexilo que está sustituido en la posición 4.

Según otra realización, en las fórmulas I, IA y IB, X es $\text{-NR}^6\text{-CO-R}^5$ y R^5 es ciclohexilo que está sustituido en la posición 4 y el sustituyente en la posición 4 está en la posición *trans* con respecto al carbonilo.

30 Según otra realización, R^5 en las fórmulas I, IA y IB es ciclohexilo que está sin sustituir o sustituido en la posición 4 con OH, halógeno, alquilo C_{1-6} , alquilo C_{1-6} halogenado, alcoxi C_{1-6} , alcoxi C_{1-6} halogenado, ciano, nitro, -NH_2 , -NH (alquilo C_{1-4}) o -N (alquilo C_{1-4})₂.

35 Según otra realización, en las fórmulas I, IA y IB, X es $\text{-NR}^6\text{-CO-R}^5$ y R^5 es ciclohexilo que está sin sustituir o sustituido en la posición 4 con OH, halógeno, alquilo C_{1-6} , alquilo C_{1-6} halogenado, alcoxi C_{1-6} , alcoxi C_{1-6} halogenado, ciano, nitro, -NH_2 , -NH (alquilo C_{1-4}) o -N (alquilo C_{1-4})₂, en las que el sustituyente en la posición 4 está en la posición *trans* con respecto al grupo carbonilo.

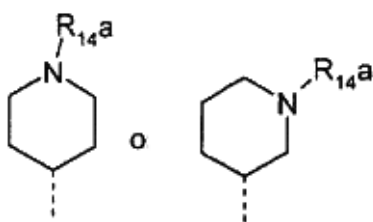
Según otra realización, R^6 en las fórmulas I, IA y IB es R^6 es ciclohexilo que está sustituido una o más veces con OH, halógeno, alquilo C_{1-6} o alcoxi C_{1-6} .

Según otra realización, R^6 en las fórmulas I, IA y IB es ciclohexilo que está sustituido en la posición 4.

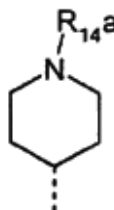
40 Según otra realización, R^6 en las fórmulas I, IA y IB es ciclohexilo que está sustituido en la posición 4 y el sustituyente en la posición 4 está en la posición *trans* con respecto al grupo amino.

Según otra realización, R^6 en las fórmulas I, IA y IB es ciclohexilo que está sustituido en la posición 4 con OH o alcoxi C_{1-6} .

Según otra realización, R^6 en las fórmulas I, IA y IB es

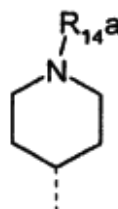


y R^{14a} es alquilo C₁₋₆, alquilo C₁₋₆ halogenado, alquil C₁₋₆-CO-, -S(O)₀₋₂-alquilo C₁₋₄, heteroarilo o arilo C₆₋₁₄.



Según otra realización, R⁶ en las fórmulas I, IA y IB es halogenado, alquil C₁₋₆-CO-, -S(O)₀₋₂-alquilo C₁₋₄, heteroarilo o arilo C₆₋₄.

y R^{14a} es alquilo C₁₋₆, alquilo C₁₋₆



5 Según otra realización, R⁶ en las fórmulas I, IA y IB es isopropilo.

y R^{14a} es metilo, etilo, propilo o

Según otra realización, en las fórmulas I o IB, R⁶ es ciclohexilo que está sustituido en la posición 4 con OH, alquilo C₁₋₆ o alcoxi C₁₋₆, en las que el sustituyente en la posición 4 está en la posición *trans* con respecto al grupo amino.

10 Según otra realización, en las fórmulas I o IB, R⁶ es ciclohexilo que está sustituido en la posición 4 con OH, alquilo C₁₋₆ o alcoxi C₁₋₆, en las que el sustituyente en la posición 4 está en la posición *trans* con respecto al grupo amino, y R⁵ es ciclohexilo que está sin sustituir o sustituido en la posición 4 con OH, halógeno, alquilo C₁₋₆, alquilo C₁₋₆ halogenado, alcoxi C₁₋₆, alcoxi C₁₋₆ halogenado, ciano, nitro, -NH₂, -NH(alquilo C₁₋₄) o -N(alquilo C₁₋₄)₂, en las que el sustituyente en la posición 4 está en la posición *trans* con respecto al grupo carbonilo.

15 Según una realización preferida de la invención, los compuestos de la presente invención están seleccionados de los compuestos de fórmula (IB) y sales farmacéuticamente aceptables de los mismos, en la que:

R¹ es alquilo C₁₋₆ o cicloalquilo C₃₋₆ que en cada caso está sin sustituir o sustituido una o más veces con -NH₂, NHCH₃, N(CH₃)₂ o hidroxilo;

R⁵ es ciclohexilo que está sin sustituir o sustituido una o más veces con OH, alquilo C₁₋₄ y/o alcoxi C₁₋₄;

20 R⁶ es ciclohexilo que está sustituido una o más veces con OH, Hal (por ejemplo, F), alcoxi C₁₋₄, alquilo C₁₋₄, alquil C₁₋₄-CO-NH-, alquil C₁₋₄-CO-N(alquilo C₁₋₄) o triazolilo;

Y es COOR⁷; y

R⁷ es H, alquilo C₁₋₁₂ o arilo C₆₋₁₄.

25 Según una realización preferida de la invención, los compuestos de la presente invención están seleccionados de los compuestos de fórmula (IB) y sales farmacéuticamente aceptables de los mismos, en la que:

R¹ es alquilo C₁₋₆ o cicloalquilo C₃₋₆;

R⁵ es ciclohexilo que está sin sustituir o sustituido una o más veces con OH, alquilo C₁₋₄ y/o alcoxi C₁₋₄;

R⁶ es ciclohexilo que está sustituido una o más veces con OH, Hal (por ejemplo, F), alcoxi C₁₋₄, alquilo C₁₋₄, alquil C₁₋₄-CO-NH-, alquil C₁₋₄-CO-N(alquilo C₁₋₄) o triazolilo;

30 Y es COOR⁷; y

R⁷ es H, alquilo C₁₋₁₂ o arilo C₆₋₁₄.

Según otra realización preferida de la invención, los compuestos de la presente invención están seleccionados de los compuestos de fórmula (IB) y sales farmacéuticamente aceptables de los mismos, en la que:

R¹ es alquilo C₁₋₆ que está sin sustituir o sustituido una o más veces con -NH₂, NHCH₃, N(CH₃)₂ o hidroxilo;

R⁵ es ciclohexilo que está sin sustituir o sustituido en la posición 4 con OH, alquilo C₁₋₄ y/o alcoxi C₁₋₄;

5 R⁶ es ciclohexilo que está sustituido en la posición 4 con OH, Hal (por ejemplo, F), alcoxi C₁₋₄, alquilo C₁₋₄, alquil C₁₋₄-CO-NH-, alquil C₁₋₄-CO-N(alquilo C₁₋₄) o triazolilo;

Y es COOR⁷; y

R⁷ es H, alquilo C₁₋₁₂ o arilo C₆₋₁₄.

10 Según otra realización preferida de la invención, los compuestos de la presente invención están seleccionados de los compuestos de fórmula (IB) y sales farmacéuticamente aceptables de los mismos, en la que:

R¹ es alquilo C₁₋₆ que está sin sustituir o sustituido una o más veces con -NH₂, NHCH₃, N(CH₃)₂ o hidroxilo;

R⁵ es ciclohexilo que está sin sustituir o sustituido en la posición 4 con OH, alquilo C₁₋₄ y/o alcoxi C₁₋₄;

R⁶ es ciclohexilo que está sustituido en la posición 4 con OH, Hal (por ejemplo, F), alcoxi C₁₋₄, alquilo C₁₋₄, alquil C₁₋₄-CO-NH-, alquil C₁₋₄-CO-N(alquilo C₁₋₄) o triazolilo;

15 Y es COOR⁷; y

R⁷ es H, alquilo C₁₋₁₂ o arilo C₆₋₁₄.

Según otra realización preferida de la invención, los compuestos de la presente invención están seleccionados de los compuestos de fórmula (IB) y sales farmacéuticamente aceptables de los mismos, en la que:

R¹ es alquilo C₁₋₆ que está sin sustituir o sustituido una o más veces con -NH₂, NHCH₃, N(CH₃)₂ o hidroxilo;

20 R⁵ es ciclohexilo que está sin sustituir o sustituido una o más veces con OH, alquilo C₁₋₄ o alcoxi C₁₋₄;

R⁶ es ciclohexilo que está sustituido una o más veces con OH, F, alcoxi C₁₋₄, alquilo C₁₋₄ o alquilo C₁₋₄ halogenado;

Y es COOR⁷; y

R⁷ es H o alquilo C₁₋₄.

25 Según otra realización preferida de la invención, los compuestos de la presente invención están seleccionados de los compuestos de fórmula (IB) y sales farmacéuticamente aceptables de los mismos, en la que:

R¹ es alquilo C₁₋₆;

R⁵ es ciclohexilo que está sin sustituir o sustituido una o más veces con OH, alquilo C₁₋₄ o alcoxi C₁₋₄;

R⁶ es ciclohexilo que está sustituido una o más veces con OH, F, alcoxi C₁₋₄ o alquilo C₁₋₄;

30 Y es COOR⁷; y

R⁷ es H o alquilo C₁₋₄.

Según otra realización preferida de la invención, los compuestos de la presente invención están seleccionados de los compuestos de fórmula (IB) y sales farmacéuticamente aceptables de los mismos, en la que:

35 R¹ es alquilo C₁₋₆ o cicloalquilo C₃₋₆ que en cada caso está sin sustituir o sustituido una o más veces con -NH₂, NHCH₃, N(CH₃)₂ o hidroxilo;

R⁵ es ciclohexilo que está sin sustituir o sustituido una o más veces con OH, alquilo C₁₋₄ o alcoxi C₁₋₄;

R⁶ es ciclohexilo que está sustituido una o más veces con OH, F, alcoxi C₁₋₄ o alquilo C₁₋₄;

Y es COOR⁷; y

R⁷ es H o alquilo C₁₋₄.

40 Según otra realización preferida de la invención, los compuestos de la presente invención están seleccionados de los compuestos de fórmula (IB) y sales farmacéuticamente aceptables de los mismos, en la que:

R¹ es alquilo C₁₋₆ o cicloalquilo C₃₋₆;

R⁵ es ciclohexilo que está sin sustituir o sustituido una o más veces con OH, alquilo C₁₋₄ o alcoxi C₁₋₄;

R⁶ es ciclohexilo que está sustituido una o más veces con OH, F, alcoxi C₁₋₄ o alquilo C₁₋₄;

Y es COOR⁷; y

R⁷ es H o alquilo C₁₋₄.

Según otra realización preferida de la invención, los compuestos de la presente invención están seleccionados de los compuestos de fórmula (IB) y sales farmacéuticamente aceptables de los mismos, en la que:

5 R¹ es metilo, etilo, propilo, isopropilo, butilo, sec-butilo, terc-butilo, ciclopropilo, ciclobutilo, ciclopentilo o ciclohexilo que en cada caso está sin sustituir o sustituido una o más veces con -NH₂, NHCH₃, N(CH₃)₂ o hidroxilo;

R⁵ es ciclohexilo que está sin sustituir o sustituido una o más veces con OH, alquilo C₁₋₄ o alcoxi C₁₋₄;

10 R⁶ es ciclohexilo que está sustituido una o más veces con OH, F, alcoxi C₁₋₄, alquilo C₁₋₄ o alquilo C₁₋₄ halogenado;

Y es COOR⁷; y

R⁷ es H o alquilo C₁₋₄.

Según otra realización preferida de la invención, los compuestos de la presente invención están seleccionados de los compuestos de fórmula (IB) y sales farmacéuticamente aceptables de los mismos, en la que:

15 R¹ es metilo, etilo, propilo, isopropilo, butilo, sec-butilo, terc-butilo, ciclopropilo, ciclobutilo, ciclopentilo o ciclohexilo;

R⁵ es ciclohexilo que está sin sustituir o sustituido una o más veces con OH, alquilo C₁₋₄ o alcoxi C₁₋₄;

R⁶ es ciclohexilo que está sustituido una o más veces con OH, F, alcoxi C₁₋₄, alquilo C₁₋₄ o alquilo C₁₋₄ halogenado;

20 Y es COOR⁷; y

R⁷ es H o alquilo C₁₋₄.

Según otra realización preferida de la invención, los compuestos de la presente invención están seleccionados de los compuestos de fórmula (IB) y sales farmacéuticamente aceptables de los mismos, en la que:

25 R¹ es metilo, etilo, propilo, isopropilo, butilo, sec-butilo, terc-butilo, ciclopropilo, ciclobutilo, ciclopentilo o ciclohexilo que en cada caso está sin sustituir o sustituido una o más veces con -NH₂, NHCH₃, N(CH₃)₂ o hidroxilo -NH₂, NHCH₃, N(CH₃)₂ o hidroxilo;

R⁵ es ciclohexilo que está sin sustituir o sustituido una o más veces con OH, alquilo C₁₋₄ o alcoxi C₁₋₄;

R⁶ es ciclohexilo que está sustituido una o más veces con OH, F, alcoxi C₁₋₄, alquilo C₁₋₄ o alquilo C₁₋₄ halogenado;

30 Y es COOH.

Según otra realización preferida de la invención, los compuestos de la presente invención están seleccionados de los compuestos de fórmula (IB) y sales farmacéuticamente aceptables de los mismos, en la que:

R¹ es metilo, etilo, propilo, isopropilo, butilo, sec-butilo, terc-butilo, ciclopropilo, ciclobutilo, ciclopentilo o ciclohexilo;

35 R⁵ es ciclohexilo que está sin sustituir o sustituido una o más veces con OH, alquilo C₁₋₄ o alcoxi C₁₋₄;

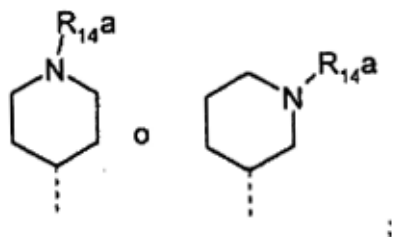
R⁶ es ciclohexilo que está sustituido una o más veces con OH, F, alcoxi C₁₋₄, alquilo C₁₋₄ o alquilo C₁₋₄ halogenado;

Y es COOH.

40 Según otra realización preferida de la invención, los compuestos de la presente invención están seleccionados de los compuestos de fórmula (IB) y sales farmacéuticamente aceptables de los mismos, en la que:

R¹ es alquilo C₁₋₆ o cicloalquilo C₃₋₆ que en cada caso está sin sustituir o sustituido una o más veces con -NH₂, NHCH₃, N(CH₃)₂ o hidroxilo;

R⁵ es ciclohexilo que está sin sustituir o sustituido una o más veces con OH, alquilo C₁₋₄ y/o alcoxi C₁₋₄;



R⁶ es

R^{14a} es alquilo C₁₋₆, alquilo C₁₋₆ halogenado, alquil C₁₋₆-CO-, -S(O)₀₋₂-alquilo C₁₋₄, heteroarilo o arilo C₆₋₁₄;

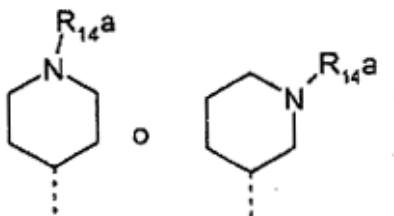
Y es COOR⁷; y

R⁷ es H, alquilo C₁₋₁₂ o arilo C₆₋₁₄.

- 5 Según otra realización preferida de la invención, los compuestos de la presente invención están seleccionados de los compuestos de fórmula (IB) y sales farmacéuticamente aceptables de los mismos, en la que:

R¹ es alquilo C₁₋₆ o cicloalquilo C₃₋₆;

R⁵ es ciclohexilo que está sin sustituir o sustituido una o más veces con OH, alquilo C₁₋₄ y/o alcoxi C₁₋₄;



R⁶ es

- 10 R^{14a} es alquilo C₁₋₆, alquilo C₁₋₆ halogenado, alquil C₁₋₆-CO-, -S(O)₀₋₂-alquilo C₁₋₄, heteroarilo o arilo C₆₋₁₄;

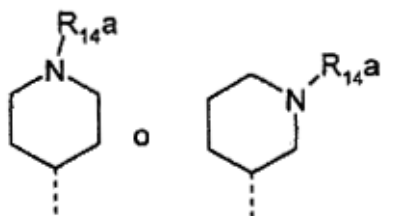
Y es COOR⁷; y

R⁷ es H, alquilo C₁₋₁₂ o arilo C₆₋₁₄.

Según otra realización preferida de la invención, los compuestos de la presente invención están seleccionados de los compuestos de fórmula (IB) y sales farmacéuticamente aceptables de los mismos, en la que:

- 15 R¹ es alquilo C₁₋₆ o cicloalquilo C₃₋₆ que en cada caso está sin sustituir o sustituido una o más veces con -NH₂, NHCH₃, N(CH₃)₂ o hidroxilo;

R⁵ es ciclohexilo que está sin sustituir o sustituido una o más veces con OH, alquilo C₁₋₄ y/o alcoxi C₁₋₄;



R⁶ es

R^{14a} es alquilo C₁₋₆ o alquilo C₁₋₆ halogenado;

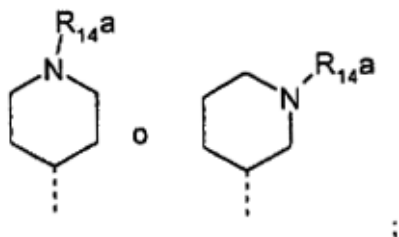
- 20 Y es COOR⁷; y

R⁷ es H, alquilo C₁₋₁₂ o arilo C₆₋₁₄.

Según otra realización preferida de la invención, los compuestos de la presente invención están seleccionados de los compuestos de fórmula (IB) y sales farmacéuticamente aceptables de los mismos, en la que:

R¹ es alquilo C₁₋₆ o cicloalquilo C₃₋₆;

- 25 R⁵ es ciclohexilo que está sin sustituir o sustituido una o más veces con OH, alquilo C₁₋₄ y/o alcoxi C₁₋₄;



R⁶ es

R^{14a} es alquilo C₁₋₆ o alquilo C₁₋₆ halogenado;

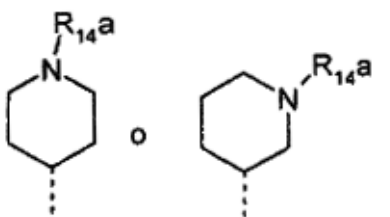
Y es COOR⁷; y

R⁷ es H, alquilo C₁₋₁₂ o arilo C₆₋₁₄.

- 5 Según otra realización preferida de la invención, los compuestos de la presente invención están seleccionados de los compuestos de fórmula (IB) y sales farmacéuticamente aceptables de los mismos, en la que:

R¹ es alquilo C₁₋₆ o cicloalquilo C₃₋₆ que en cada caso está sin sustituir o sustituido una o más veces con -NH₂, NHCH₃, N(CH₃)₂ o hidroxilo;

R⁵ es ciclohexilo que está sin sustituir o sustituido una o más veces con OH, alquilo C₁₋₄ y/o alcoxi C₁₋₄;



- 10 R⁶ es

R^{14a} es alquilo C₁₋₆;

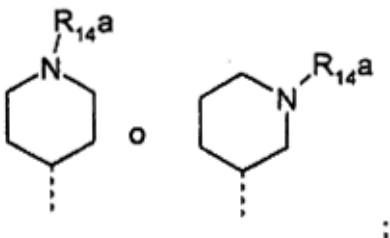
Y es COOR⁷; y

R⁷ es H, alquilo C₁₋₁₂ o arilo C₆₋₁₄.

- 15 Según otra realización preferida de la invención, los compuestos de la presente invención están seleccionados de los compuestos de fórmula (IB) y sales farmacéuticamente aceptables de los mismos, en la que:

R¹ es alquilo C₁₋₆ o cicloalquilo C₃₋₆;

R⁵ es ciclohexilo que está sin sustituir o sustituido una o más veces con OH, alquilo C₁₋₄ y/o alcoxi C₁₋₄;



- 20 R⁶ es

R^{14a} es alquilo C₁₋₆;

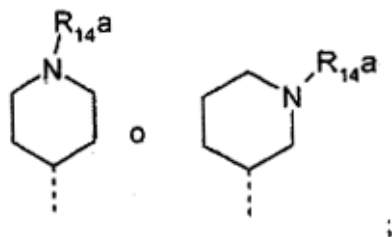
Y es COOR⁷; y

R⁷ es H, alquilo C₁₋₁₂ o arilo C₆₋₁₄.

- Según otra realización preferida de la invención, los compuestos de la presente invención están seleccionados de los compuestos de fórmula (IB) y sales farmacéuticamente aceptables de los mismos, en la que:

- 25 R¹ es alquilo C₁₋₆ o cicloalquilo C₃₋₆ que en cada caso está sin sustituir o sustituido una o más veces con -NH₂, NHCH₃, N(CH₃)₂ o hidroxilo;

R⁵ es ciclohexilo que está sin sustituir o sustituido una o más veces con OH, alquilo C₁₋₄ y/o alcoxi C₁₋₄;



R⁶ es

R^{14a} es metilo, etilo, propilo, isopropilo, butilo, sec-butilo, terc-butilo;

Y es COOR⁷; y

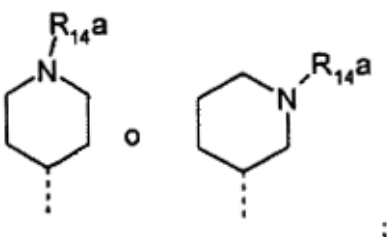
5

R⁷ es H, alquilo C₁₋₁₂ o arilo C₆₋₁₄.

Según otra realización preferida de la invención, los compuestos de la presente invención están seleccionados de los compuestos de fórmula (IB) y sales farmacéuticamente aceptables de los mismos, en la que:

R¹ es alquilo C₁₋₆ o cicloalquilo C₃₋₆;

R⁵ es ciclohexilo que está sin sustituir o sustituido una o más veces con OH, alquilo C₁₋₄ y/o alcoxi C₁₋₄;



10

R⁶ es

R^{14a} es metilo, etilo, propilo, isopropilo, butilo, sec-butilo, terc-butilo;

Y es COOR⁷; y

R⁷ es H, alquilo C₁₋₁₂ o arilo C₆₋₁₄.

Según un aspecto de la invención, los compuestos de la invención están seleccionados de:

15 ÁCIDO 5-(3,3-DIMETIL-BUT-1-IL)-3-[(TRANS-4-HIDROXI-CICLOHEXIL)-(TRANS-4-METIL-CICLOHEXANOCARBONIL)-AMINO]-TIOFENO-2-CARBOXÍLICO;

ÁCIDO 5-(3,3-DIMETIL-BUT-1-IL)-3-[(TRANS-4-METOXI-CICLOHEXIL)-(TRANS-4-METIL-CICLOHEXANOCARBONIL)-AMINO]-TIOFENO-2-CARBOXÍLICO;

20 ÁCIDO 5-(3,3-DIMETIL-BUT-1-IL)-3-[(TRANS-4-METIL-CICLOHEXANOCARBONIL)-(CIS-4-[1,2,4]TRIAZOL-1-IL-CICLOHEXIL)-AMINO]-TIOFENO-2-CARBOXÍLICO;

ÁCIDO 5-(3,3-DIMETIL-BUT-1-IL)-3-[(TRANS-4-METIL-CICLOHEXANOCARBONIL)-(TRANS-4-[1,2,4]TRIAZOL-1-IL-CICLOHEXIL)-AMINO]-TIOFENO-2-CARBOXÍLICO;

ÁCIDO 5-(3,3-DIMETIL-BUT-1-IL)-3-[(CIS-4-HIDROXI-CICLOHEXIL)-(TRANS-4-METIL-CICLOHEXANOCARBONIL)-AMINO]-TIOFENO-2-CARBOXÍLICO;

25 ÁCIDO 5-(3,3-DIMETIL-BUT-1-IL)-3-[(TRANS-4-METIL-CICLOHEXANOCARBONIL)-(1-METIL-PIPERIDIN-4-IL)-AMINO]-TIOFENO-2-CARBOXÍLICO; CLORHIDRATO;

ÁCIDO 5-(3,3-DIMETIL-BUT-1-IL)-3-[(TRANS-4-METIL-CICLOHEXANOCARBONIL)-(4-CIS-[1,2,3]TRIAZOL-1-IL-CICLOHEXIL)-AMINO]-TIOFENO-2-CARBOXÍLICO;

30 ÁCIDO 5-(3,3-DIMETIL-BUT-1-IL)-3-[(TRANS-4-METIL-CICLOHEXANOCARBONIL)-(TRANS-4-[1,2,3]TRIAZOL-1-IL-CICLOHEXIL)-AMINO]-TIOFENO-2-CARBOXÍLICO; y

ÁCIDO 5-(3,3-DIMETIL-BUT-1-IL)-3-[(TRANS-4-FLUORO-CICLOHEXIL)-(TRANS-4-METIL-CICLOHEXANOCARBONIL)-AMINO]-TIOFENO-2-CARBOXÍLICO.

En una realización, la presente invención proporciona una composición farmacéutica que comprende al menos un compuesto según la invención descrito en el presente documento y al menos un vehículo o excipiente

farmacéuticamente aceptable.

En una realización, la presente invención proporciona una composición farmacéutica que comprende al menos un compuesto según la invención descrito en el presente documento y al menos un compuesto según la invención descrito en el presente documento, y que comprende además administrar al menos un agente adicional elegido de inhibidores de la serina proteasa viral, inhibidores de la polimerasa viral, inhibidores de la helicasa viral, agentes inmunomoduladores, agentes antioxidantes, agentes antibacterianos, vacunas terapéuticas, agentes hepatoprotectores, agentes antisentido, inhibidores de NS2/3 proteasa del VHC e inhibidores de sitio interno de entrada al ribosoma (IRES).

En otra realización se proporciona una combinación que comprende al menos un compuesto según la invención descrito en el presente documento y uno o más agentes adicionales elegidos de inhibidores de la serina proteasa viral, inhibidores de la polimerasa viral, inhibidores de la helicasa viral, agentes inmunomoduladores, agentes antioxidantes, agentes antibacterianos, vacunas terapéuticas, agentes hepatoprotectores, agente antisentido, inhibidores de NS2/3 proteasa del VHC e inhibidores de sitio interno de entrada al ribosoma (IRES).

En una realización de combinación, el compuesto y agente adicional se administran secuencialmente.

En otra realización de combinación, el compuesto y agente adicional se administran simultáneamente.

Las combinaciones citadas anteriormente pueden presentarse convenientemente para su uso en forma de una formulación farmacéutica y así formulaciones farmacéuticas que comprenden una combinación como se ha definido anteriormente junto con un vehículo farmacéuticamente aceptable comprenden por tanto otro aspecto de la invención.

Los agentes adicionales para las composiciones y combinaciones incluyen, por ejemplo, ribavirina, amantadina, merimepodib, levovirina, viramidina y maxamina.

El término "inhibidor de serina proteasa viral" como se usa en el presente documento significa un agente que es eficaz para inhibir la función de la serina proteasa viral que incluye serina proteasa del VHC en un mamífero. Los inhibidores de la serina proteasa del VHC incluyen, por ejemplo, aquellos compuestos descritos en los documentos WO 99/07733 (Boehringer Ingelheim), WO 99/07734 (Boehringer Ingelheim), WO 00/09558 (Boehringer Ingelheim), WO 00/09543 (Boehringer Ingelheim), WO 00/59929 (Boehringer Ingelheim), WO 02/060926 (BMS), WO 2006039488 (Vertex), WO 2005077969 (Vertex), WO 2005035525 (Vertex), WO 2005028502 (Vertex), WO 2005007681 (Vertex), WO 2004092162 (Vertex), WO 2004092161 (Vertex), WO 2003035060 (Vertex), WO 03/087092 (Vertex), WO 02/18369 (Vertex) o WO98/17679 (Vertex).

El término "inhibidores de la polimerasa viral" como se usa en el presente documento significa un agente que es eficaz para inhibir la función de una polimerasa viral que incluye una polimerasa del VHC en un mamífero. Inhibidores de la polimerasa del VHC incluyen no nucleósidos, por ejemplo, aquellos compuestos descritos en:

los documentos WO 03/010140 (Boehringer Ingelheim), WO 03/026587 (Bristol Myers Squibb); WO 02/100846 A1, WO 02/100851 A2, WO 01/85172 A1(GSK), WO 02/098424 A1 (GSK), WO 00/06529 (Merck), WO 02/06246 A1 (Merck), WO 01/47883 (Japan Tobacco), WO 03/000254 (Japan Tobacco) y EP 1 256 628 A2 (Agouron).

Además, otros inhibidores de VHC polimerasa también incluyen análogos de nucleósido, por ejemplo, aquellos compuestos descritos en: los documentos WO 01/90121 A2 (Idenix), WO 02/069903 A2 (Biocryst Pharmaceuticals Inc.) y WO 02/057287 A2 (Merck/Isis) y WO 02/057425 A2 (Merck/Isis).

Ejemplos específicos de inhibidores de nucleósido de una polimerasa del VHC incluyen R1626/R1479 (Roche), R7128 (Roche), MK-0608 (Merck), R1656 (Roche-Pharmasset) y valopicitabina (Idenix).

Ejemplos específicos de inhibidores de una polimerasa del VHC incluyen JTK-002/003 y JTK-109 (Japan Tobacco), VHC-796 (Viropharma), GS-9190 (Gilead) y PF-868,554 (Pfizer).

El término "inhibidores de la helicasa viral" como se usa en el presente documento significa un agente que es eficaz para inhibir la función de una helicasa viral que incluye una helicasa de *Flaviviridae* en un mamífero.

"Agente inmunomodulador" como se usa en el presente documento significa aquellos agentes que son eficaces para mejorar o potenciar la respuesta del sistema inmunitario en un mamífero. Agentes inmunomoduladores incluyen, por ejemplo, interferones de clase I (tales como interferones α , β , δ y Ω , interferones τ , interferones consenso y asialo-interferones), interferones de clase II (tales como γ -interferones) e interferones PEGilados.

El término "interferón de clase I" como se usa en el presente documento significa un interferón seleccionado de un grupo de interferones que se unen todos al tipo 1 de receptor. Éste incluye tanto interferones de clase I producidos naturalmente como sintéticamente. Ejemplos de interferón de clase I incluyen interferones α , β , δ y Ω , interferones τ , interferones consenso y asialo-interferones. El término "interferón de clase II" como se usa en el presente documento significa un interferón seleccionado de un grupo de interferones que se unen todos al tipo II de receptor. Ejemplos de interferones de clase II incluyen interferones γ .

Agentes antisentido incluyen, por ejemplo, ISIS-14803.

Ejemplos específicos de inhibidores de NS3 proteasa de VHC incluyen BILN-2061 (Boehringer Ingelheim) SCH-6 y SCH-503034/Boceprevir (Schering-Plough), VX-950/telaprevir (Vertex) y ITMN-B (InterMune), GS9132 (Gilead), TMC-435350 (Tibotec/Medivir), ITMN-191 (InterMune), MK-7009 (Merck).

Inhibidores del sitio interno de entrada al ribosoma (IRES) incluyen ISIS-14803 (ISIS Pharmaceuticals) y aquellos compuestos descritos en el documento WO 2006019831 (PTC therapeutics).

En una realización, el agente adicional es interferón α , ribavirina, *Silybum marianum*, interleucina-12, amantadina, ribozima, timosina, N-acetilcisteína o ciclosporina.

5 En una realización, el agente adicional es interferón α 1A, interferón α 1B, interferón α 2A o interferón α 2B.

El interferón está disponible en formas PEGiladas y no PEGiladas. Interferones PEGilados incluyen PEGASYS™ y Peg-intron™.

10 La dosis recomendada de monoterapia con PEGASYS™ para hepatitis C crónica es 180 mg (vial de 1,0 ml o jeringuilla precargada de 0,5 ml) una vez a la semana durante 48 semanas por administración subcutánea en el abdomen o muslo.

La dosis recomendada de PEGASYS™ cuando se usa en combinación con ribavirina para hepatitis C crónica es 180 mg (vial de 1,0 ml o jeringuilla precargada de 0,5 ml) una vez a la semana.

15 La dosis diaria de ribavirina es 800 mg a 1200 mg administrada por vía oral en dos dosis divididas. La dosis debe individualizarse al paciente dependiendo de las características de la enfermedad inicial (por ejemplo, genotipo), respuesta a terapia y tolerabilidad de la pauta.

La dosis diaria de la pauta de PEG-Intron™ es 1,0 mg/kg/semana subcutáneamente durante un año. La dosis debe administrarse el mismo día de la semana.

Cuando se administra en combinación con ribavirina, la dosis recomendada de PEG-intrón es 1,5 microgramos/kg/semana.

20 En una realización, el inhibidor de serina proteasa viral es un inhibidor de serina proteasa de *Flaviviridae*.

En una realización, el inhibidor de la polimerasa viral es un inhibidor de la polimerasa de *Flaviviridae*.

En una realización, el inhibidor de helicasa viral es un inhibidor de la helicasa de *Flaviviridae*.

En otras realizaciones:

el inhibidor de la serina proteasa viral es inhibidor de la serina proteasa del VHC;

25 el inhibidor de la polimerasa viral es inhibidor de la polimerasa del VHC;

el inhibidor de la helicasa viral es inhibidor de la helicasa del VHC.

En una realización, la presente invención proporciona un procedimiento para tratar o prevenir una infección viral por *Flaviviridae* en un huésped que comprende administrar al huésped una cantidad terapéuticamente eficaz de al menos un compuesto según la fórmula I.

30 En una realización, la infección viral se elige de infecciones por *Flavivirus*.

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

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

35 En una realización, la presente invención proporciona un procedimiento para tratar o prevenir una infección viral por *Flaviviridae* en un huésped que comprende administrar al huésped una cantidad terapéuticamente eficaz de al menos un compuesto según la invención descrito en el presente documento, y que comprende además administrar al menos un agente adicional elegido de inhibidores de la serina proteasa viral, inhibidores de la polimerasa viral, inhibidores de la helicasa viral, agentes inmunomoduladores, agentes antioxidantes, agentes antibacterianos, vacunas terapéuticas, agentes hepatoprotectores, agentes antisentido, inhibidores de NS2/3 proteasa del VHC e inhibidores de sitio interno de entrada al ribosoma (IRES).

40 En una realización se proporciona un procedimiento para inhibir o reducir la actividad de la polimerasa viral en un huésped que comprende administrar una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto según la invención descrito en el presente documento.

45 En una realización se proporciona un procedimiento para inhibir o reducir la actividad de la polimerasa viral en un huésped que comprende administrar una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto según la invención descrito en el presente documento y que comprende además administrar uno o más inhibidores de la polimerasa viral.

En una realización, la polimerasa viral es un polimerasa viral por *Flaviviridae*.

50 En una realización, la polimerasa viral es una ARN-polimerasa dependiente de ARN.

En una realización, la polimerasa viral es polimerasa del VHC.

Las combinaciones citadas anteriormente pueden presentarse convenientemente para su uso en forma de una formulación farmacéutica y así formulaciones farmacéuticas que comprenden una combinación como se ha definido anteriormente junto con un vehículo farmacéuticamente aceptable comprenden, por tanto, otro aspecto de la invención.

5 Los componentes individuales para su uso en el procedimiento de la presente invención o combinaciones de la presente invención pueden administrarse tanto secuencialmente como simultáneamente en formulaciones farmacéuticas separadas o combinadas.

En una realización, la presente invención proporciona el uso de un compuesto según la invención descrito en el presente documento para tratar o prevenir infección viral por *Flaviviridae* en un huésped.

10 En una realización, la presente invención proporciona el uso de un compuesto según la invención descrito en el presente documento para la fabricación de un medicamento para tratar o prevenir una infección por *Flaviviridae* viral en un huésped.

En una realización, la presente invención proporciona el uso de un compuesto según la invención descrito en el presente documento para inhibir o reducir la actividad de polimerasa viral en un huésped.

15 Se apreciará por aquellos expertos en la materia que los compuestos según la presente invención pueden existir como estereoisómeros (por ejemplo, isómeros ópticos (+ y -), geométricos (*cis* y *trans*) y conformacionales (axiales y ecuatoriales). Todos aquellos estereoisómeros están incluidos en el alcance de la presente invención.

20 Se apreciará por aquellos expertos en la materia que los compuestos según la presente invención pueden contener un centro quiral. Los compuestos de fórmula pueden así existir en forma de dos isómeros ópticos diferentes (es decir, enantiómeros (+) o (-)). Todos aquellos enantiómeros y mezclas de los mismos que incluyen mezclas racémicas están incluidos dentro del alcance de la invención. El único isómero o enantiómero óptico puede obtenerse por procedimientos muy conocidos en la técnica tales como HPLC quiral, resolución enzimática y auxiliar quiral.

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

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

En otra realización, los compuestos de la presente invención están en forma del enantiómero (+) libre al menos el 97% del enantiómero (-) correspondiente.

30 En otra realización, los compuestos de la presente invención están en forma del enantiómero (+) libre al menos el 99% del (-) enantiómero correspondiente.

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

35 En otra realización, los compuestos de la presente invención están en forma del enantiómero (-) libre al menos el 97% del enantiómero (+) correspondiente.

En otra realización, los compuestos de la presente invención están en forma del enantiómero (-) libre al menos el 99% del enantiómero (+) correspondiente.

40 También se proporcionan sales farmacéuticamente aceptables de los compuestos de la presente invención. Por el término sales farmacéuticamente aceptables de compuestos se indican aquellos derivados de ácidos y bases inorgánicos y orgánicos farmacéuticamente aceptables. Ejemplos de ácidos adecuados incluyen ácidos clorhídrico, bromhídrico, sulfúrico, nítrico, perclórico, fumárico, maleico, fosfórico, glicólico, láctico, salicílico, succínico, tolueno-p-sulfónico, tartárico, acético, trifluoroacético, cítrico, metanosulfónico, fórmico, benzoico, malónico, naftaleno-2-sulfónico y bencenosulfónico. Otros ácidos tales como oxálico, aunque no son por sí mismos farmacéuticamente aceptables, pueden ser útiles como productos intermedios en obtener los compuestos de la invención y sus sales de adición de ácido farmacéuticamente aceptables.

También están incluidas sales derivadas de aminoácidos (por ejemplo, L-arginina, L-Lisina).

Sales derivadas de bases apropiadas incluyen sales de metales alcalinos (por ejemplo, sodio, litio, potasio), metales alcalinotérreos (por ejemplo, calcio, magnesio), amonio, NR_4^+ (en la que R es alquilo C_{1-4}), colina y trometamina.

50 Una referencia en lo sucesivo a un compuesto según la invención incluye ese compuesto y sus sales farmacéuticamente aceptables.

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

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

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

55 En una realización de la invención, la sal farmacéuticamente aceptable es una sal de trometamina.

En una realización de la invención, la sal farmacéuticamente aceptable es una sal de L-arginina.

Se apreciará por aquellos expertos en la materia que los compuestos según la presente invención pueden existir en diferentes formas polimórficas. Como se conoce en la técnica, el polimorfismo es una capacidad de un compuesto para cristalizar como más de una especie cristalina o "polimórfica" distinta. Un polimorfo es una fase cristalina sólida de un compuesto con al menos dos disposiciones diferentes o formas polimórficas de esa molécula de compuesto en el estado sólido. Formas polimórficas de cualquier compuesto dado se definen por la misma fórmula o composición química y son tan distintas en estructura química como en estructuras cristalinas de dos compuestos químicos diferentes.

Se apreciará adicionalmente por aquellos expertos en la materia que los compuestos según la presente invención pueden existir en diferentes formas de solvato, por ejemplo, hidratos. Los solvatos de los compuestos de la invención también pueden formarse cuando las moléculas de disolvente se incorporan en la estructura de red cristalina de la molécula del compuesto durante el procedimiento de cristalización.

A menos que se defina de otro modo, todos los términos técnicos y científicos usados en el presente documento tienen el mismo significado que comúnmente es entendido por un experto habitual en la materia a la que pertenece la presente invención. En caso de conflicto, la presente memoria descriptiva, que incluye definiciones, controlará. Además, los materiales, procedimientos y ejemplos son solo ilustrativos y no está previsto que sean limitantes.

El término "alquilo" representa un resto de hidrocarburo lineal, ramificado o cíclico. Los términos "alquenilo" y "alquinilo" representan un resto de hidrocarburo lineal, ramificado o cíclico que tiene uno o más dobles enlaces o triples enlaces en la cadena. Ejemplos de grupos alquilo, alquenilo y alquinilo incluyen, pero no se limitan a, metilo, etilo, propilo, isopropilo, butilo, isobutilo, sec-butilo, terc-butilo, pentilo, isopentilo, neopentilo, terc-pentilo, hexilo, isohexilo, neohexilo, alilo, vinilo, acetilenilo, etilenilo, propenilo, isopropenilo, butenilo, isobutenilo, hexenilo, butadienilo, pentenilo, pentadienilo, hexenilo, hexadienilo, hexatrienilo, heptenilo, heptadienilo, heptatrienilo, octenilo, octadienilo, octatrienilo, octatetraenilo, propinilo, butinilo, pentinilo, hexinilo, ciclopropilo, ciclobutilo, ciclohexenilo, ciclohexadienilo y ciclohexilo. Cuando se indica "alquilo", "alquenilo" y "alquinilo" pueden estar opcionalmente sustituidos tal como en el caso de haloalquilos en los que uno o más átomos de hidrógeno están sustituidos con un halógeno, por ejemplo, un haluro de alquilo. Ejemplos de haloalquilos incluyen, pero no se limitan a, trifluorometilo, difluorometilo, fluorometilo, triclorometilo, diclorometilo, clorometilo, trifluoroetilo, difluoroetilo, fluoroetilo, tricloroetilo, dicloroetilo, cloroetilo, clorofluorometilo, clorodifluorometilo, clorofluoroetilo. Aparte de los halógenos, cuando se indique, los grupos alquilo, alquenilo o alquinilo también pueden estar opcionalmente sustituidos con, por ejemplo, oxo, $-NR_dR_e$, $-CONR_dR_e$, $=NO-R_e$, NR_dCOR_e , carboxi, $-C(=NR_d)NR_eR_f$, azido, ciano, alquiloxi C_{1-6} , alqueniloxi C_{2-6} , alquiniloxi C_{2-6} , $-N(R_d)C(=NR_e)NR_fR_g$, hidroxilo, nitro, nitroso, $-N(R_h)CONR_iR_j$, $S(O)_{0-2}R_a$, $C(O)R_a$, $C(O)OR_a$, $NR_aC(O)R_b$, $SO_2NR_aR_b$, $NR_aSO_2R_b$, $NR_aSO_2NR_bR_c$, $CR_aN=OR_b$ y/o NR_aCOOR_b en las que R_a-R_j son cada uno independientemente H, alquilo C_{1-4} , alquenilo C_{2-4} o alquinilo C_{2-4} .

Los términos "cicloalquilo" y "cicloalquenilo" representan un hidrocarburo cíclico de alquilo o alquenilo, respectivamente, y se indica que incluyen restos de hidrocarburo monocíclico (por ejemplo, ciclohexilo), espiro (por ejemplo, espiro[2.3]hexanilo), condensado (por ejemplo, biciclo[4.4.0]decanilo) y unido por puentes (por ejemplo, biciclo[2.2.1]heptanilo).

Los términos "alcoxi", "alqueniloxi" y "alquiniloxi" representan un resto alquilo, alquenilo o alquinilo, respectivamente, que está covalentemente unido al átomo adyacente mediante un átomo de oxígeno. Al igual que los grupos alquilo, alquenilo y alquinilo, cuando se indique, los grupos alcoxi, alqueniloxi y alquiniloxi también pueden estar opcionalmente sustituidos. Ejemplos incluyen, pero no se limitan a, metoxi, etoxi, propoxi, isopropoxi, butoxi, isobutoxi, sec-butoxi, terc-butoxi, pentiloxi, isopentiloxi, neopentiloxi, terc-pentiloxi, hexiloxi, isohexiloxi, trifluorometoxi y neohexiloxi. Los grupos alcoxi, alqueniloxi y alquiniloxi pueden estar opcionalmente sustituidos con, por ejemplo, halógenos, oxo, $-NR_dR_e$, $-CONR_dR_e$, $-NR_dCOR_e$, carboxi, $-C(=NR_d)NR_eR_f$, azido, ciano, $-N(R_d)C(=NR_e)NR_fR_g$, hidroxilo, nitro, nitroso, alquilo C_{1-6} , alquenilo C_{2-6} , alquinilo C_{2-6} , $-N(R_h)CONR_iR_j$, $S(O)_{0-2}R_a$, $C(O)R_a$, $C(O)OR_a$, $=NO-R_e$, $NR_aC(O)R_b$, $SO_2NR_aR_b$, $NR_aSO_2R_b$, $NR_aSO_2NR_bR_c$, $CR_aN=OR_b$ y/o NR_aCOOR_b en las que R_a-R_j son cada uno independientemente H, alquilo C_{1-4} , alquenilo C_{2-4} o alquinilo C_{2-4} .

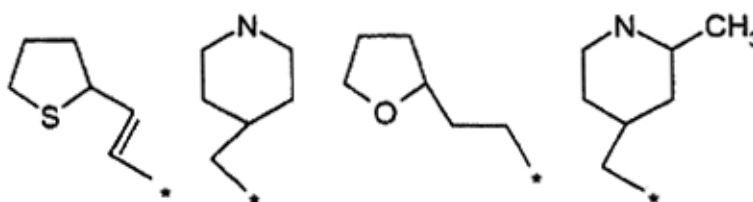
El término "arilo" representa un resto carbocíclico que contiene al menos un anillo tipo bencenoide (es decir, puede ser monocíclico o policíclico), y que cuando se indique puede estar opcionalmente sustituido con uno o más sustituyentes. Ejemplos incluyen, pero no se limitan a, fenilo, toliilo, dimetilfenilo, aminofenilo, anilino, naftilo, antrilo, fenantrilo o bifenilo. Los grupos arilo pueden estar opcionalmente sustituidos con, por ejemplo, halógenos, $-NR_dR_e$, $-CONR_dR_e$, $-NR_dCOR_e$, carboxi, $-C(=NR_d)NR_eR_f$, azido, ciano, $-N(R_d)C(=NR_e)NR_fR_g$, hidroxilo, nitro, nitroso, $-N(R_h)CONR_iR_j$, alquilo C_{1-6} , alquenilo C_{2-6} , alquinilo C_{2-6} , alquiloxi C_{1-6} , alqueniloxi C_{2-6} , alquiniloxi C_{2-6} , $S(O)_{0-2}R_a$, heteroarilo de 5-12 miembros opcionalmente sustituido o heteroaralquilo de 6-18 miembros opcionalmente sustituido o, heterociclo de 3-12 miembros opcionalmente sustituido, heterocicloalquilo de 4-18 miembros opcionalmente sustituido, $C(O)R_a$, $C(O)OR_a$, $NR_aC(O)R_b$, $SO_2NR_aR_b$, $NR_aSO_2R_b$, $NR_aSO_2NR_bR_c$, $CR_aN=OR_b$ y/o NR_aCOOR_b en las que R_a-R_j son cada uno independientemente H, alquilo C_{1-4} , alquenilo C_{2-4} o alquinilo C_{2-4} .

El término "aralquilo" representa un grupo arilo unido al átomo adyacente por un alquilo, alquenilo o alquinilo. Al igual que los grupos arilo, cuando se indique, los grupos aralquilo también pueden estar opcionalmente sustituidos. Ejemplos incluyen, pero no se limitan a, bencilo, benzhidrilo, trilito, fenetilo, 3-fenilpropilo, 2-fenilpropilo, 4-fenilbutilo y naftilmetilo. Cuando se indique, los grupos aralquilo pueden estar opcionalmente sustituidos con, por ejemplo, halógenos, $-NR_dR_e$, $-CONR_dR_e$, $-NR_dCOR_e$, carboxi, $-C(=NR_d)NR_eR_f$, azido, ciano, $-N(R_d)C(=NR_e)NR_fR_g$, hidroxilo, nitro, nitroso, $-N(R_h)CONR_iR_j$, alquilo C_{1-6} , alquenilo C_{1-6} , alquinilo C_{2-6} , alquiloxi C_{1-6} , alqueniloxi C_{2-6} , alquiniloxi C_{2-6} , $S(O)_{0-2}R_a$, heteroarilo de 5-12 miembros opcionalmente sustituido o, heteroaralquilo de 6-18 miembros opcionalmente sustituido o heterociclo de 3-12 miembros opcionalmente sustituido, heterocicloalquilo de 4-18 miembros opcionalmente sustituido, $C(O)R_a$, $C(O)OR_a$, $NR_aC(O)R_b$, $SO_2NR_aR_b$, $NR_aSO_2R_b$, $NR_aSO_2NR_bR_c$, $CR_aN=OR_b$ y/o NR_aCOOR_b en las que R_a-R_j son cada uno independientemente H, alquilo C_{1-4} , alquenilo C_{2-4} o alquinilo C_{2-4} .

alquinilo C₂₋₄.

5 El término "heterociclo" representa un resto opcionalmente sustituido, no aromático, saturado o
parcialmente saturado en el que dicho resto cíclico está interrumpido por al menos un heteroátomo seleccionado de
oxígeno (O), azufre (S) o nitrógeno (N). Los heterociclos pueden ser anillos monocíclicos o policíclicos. Ejemplos
incluyen, pero no se limitan a, azetidino, dioxolano, morfolino, morfolino, oxetano, piperazino, piperidino,
10 piperidino, ciclopentapirazolilo, ciclopentaoxazino, ciclopentafurano. Cuando se indique, los grupos heterocíclicos
pueden estar opcionalmente sustituido con, por ejemplo, halógenos, oxo, -NR_dR_e, -CONR_dR_e, =NO-R_e, -NR_dCOR_e,
carboxi, -C(=NR_d)NR_eR_f, azido, ciano, -N(R_d)C(=NR_e)NR_fR_g, hidroxilo, nitro, nitroso, -N(R_h)CONR_iR_j, alquilo C₁₋₆,
alquenilo C₂₋₆, alquinilo C₂₋₆, aralquilo C₇₋₁₂, arilo C₆₋₁₂, alquiloxi C₁₋₆, alqueniloxi C₂₋₆, alquiniloxi C₂₋₆, S(O)₀₋₂R_a, arilo
15 C₆₋₁₀, ariloxi C₆₋₁₀, aril C₇₋₁₀-alquilo, aril C₆₋₁₀-alquiloxi C₁₋₁₀, C(O)R_a, C(O)OR_a, NR_aC(O)R_b, SO₂NR_aR_b, NR_aSO₂R_b,
NR_aSO₂NR_bR_c, CR_aN=OR_b y/o NR_aCOOR_b en las que R_a-R_j son cada uno independientemente H, alquilo C₁₋₄,
alquenilo C₂₋₄ o alquinilo C₂₋₄.

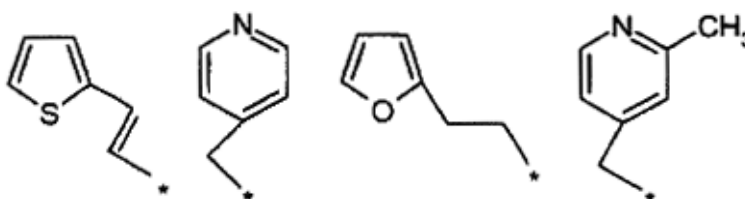
15 El término "heterociclo-alquilo" representa un grupo heterociclo opcionalmente sustituido unido al átomo
adyacente por un grupo alquilo, alquenilo o alquinilo. Se entiende que en un resto heterociclo-alquilo de 5-18
miembros, 5-18 miembros representan los átomos que están presentes en tanto el resto de heterociclo como el
grupo alquilo, alquenilo o alquinilo. Por ejemplo, los siguientes grupos están englobados por un heterociclo-alquilo de
7 miembros (* representa el punto de unión):



20 Cuando se indique, los grupos heterociclo-alquilo pueden estar opcionalmente sustituidos con, por ejemplo,
halógenos, oxo, -NR_dR_e, -CONR_dR_e, -NR_dCOR_e, carboxi, -C(=NR_d)NR_eR_f, azido, ciano, -N(R_d)C(=NR_e)NR_fR_g,
hidroxilo, nitro, nitroso, -N(R_h)CONR_iR_j, alquilo C₁₋₆, alquenilo C₂₋₆, alquinilo C₂₋₆, alquiloxi C₁₋₆, alqueniloxi C₂₋₆,
alquiniloxi C₂₋₆, S(O)₀₋₂R_a, arilo C₆₋₁₀, ariloxi C₆₋₁₀, aril C₇₋₁₀-alquilo, aril C₆₋₁₀-alquiloxi C₁₋₁₀, C(O)R_a, C(O)OR_a,
NR_aC(O)R_b, =NO-R_e, SO₂NR_aR_b, NR_aSO₂R_b, NR_aSO₂NR_bR_c, CR_aN=OR_b y/o NR_aCOOR_b en las que R_a-R_j son cada
uno independientemente H, alquilo C₁₋₄, alquenilo C₂₋₄ o alquinilo C₂₋₄.

25 El término "heteroarilo" representa un resto cíclico aromático opcionalmente sustituido en el que dicho resto
cíclico está interrumpido por al menos un heteroátomo seleccionado de oxígeno (O), azufre (S) o nitrógeno (N). Los
heteroarilos pueden ser anillos monocíclicos o policíclicos. Ejemplos incluyen, pero no se limitan a, azepino,
aziridinilo, azetilo, diazepinilo, ditiadiazinilo, dioxazepinilo, ditiazolilo, furano, isooxazolilo, isotiazolilo, imidazolilo,
30 oxadiazolilo, oxirano, oxazinilo, oxazolilo, pirazinilo, piridazinilo, pirimidinilo, piridilo, pirano, pirazolilo, pirrolilo,
pirrolidinilo, tiatriazolilo, tetrazolilo, tiadiazolilo, triazolilo, tiazolilo, tienilo, tetrazinilo, tiadiazinilo, triazinilo, tiazinilo,
tiopirano, furoisoxazolilo, imidazotiazolilo, tienoisotiazolilo, tienotiazolilo, imidazopirazolilo, pirrolopirrolilo,
tienotienilo, tiadiazolopirimidinilo, tiazolotiazinilo, tiazolopirimidinilo, tiazolopiridinilo, oxazolopirimidinilo,
oxazolopiridilo, benzoxazolilo, bencisotiazolilo, benzotiazolilo, imidazopirazinilo, purinilo, pirazolopirimidinilo,
35 imidazopiridinilo, bencimidazolilo, indazolilo, benzoxatolilo, benzodioxolilo, benzoditolilo, indolizino, indolino,
isoindolino, furopirimidinilo, furopiridilo, benzofurano, isobenzofurano, tienopirimidinilo, tienopiridilo, benzotienilo,
benzoxazinilo, benzotiazinilo, quinazolinilo, naftiridinilo, quinolinilo, isoquinotino, benzopirano, piridopiridazinilo y
piridopirimidinilo. Cuando se indique, los grupos heteroarilo pueden estar opcionalmente sustituidos con, por
ejemplo, halógenos, -NR_dR_e, -CONR_dR_e, -NR_dCOR_e, carboxi, -C(=NR_d)NR_eR_f, azido, ciano, -N(R_d)C(=NR_e)NR_fR_g,
40 hidroxilo, nitro, nitroso, -N(R_h)CONR_iR_j, alquilo C₁₋₆, alquenilo C₂₋₆, alquinilo C₂₋₆, alquiloxi C₁₋₆, alqueniloxi C₂₋₆,
alquiniloxi C₁₋₆, S(O)₀₋₂R_a, arilo C₆₋₁₀, ariloxi C₆₋₁₀, aril C₇₋₁₀-alquilo, aril C₆₋₁₀-alquiloxi C₁₋₁₀, C(O)R_a, C(O)OR_a,
NR_aC(O)R_b, SO₂NR_aR_b, NR_aSO₂R_b, NR_aSO₂NR_bR_c, CR_aN=OR_b y/o NR_aCOOR_b en la que R_a-R_j son cada uno
independientemente H, alquilo C₁₋₄, alquenilo C₂₋₄ o alquinilo C₂₋₄.

45 El término "heteroaralquilo" representa un grupo heteroarilo opcionalmente sustituido unido al átomo
adyacente por un grupo alquilo, alquenilo o alquinilo. Cuando se indique, los grupos heteroaralquilo pueden estar
opcionalmente sustituidos con, por ejemplo, halógenos, -NR_dR_e, -CONR_dR_e, -NR_dCOR_e, carboxi, -C(=NR_d)NR_eR_f,
azido, ciano, -N(R_d)C(=NR_e)NR_fR_g, hidroxilo, nitro, nitroso, -N(R_h)CONR_iR_j, alquilo C₁₋₆, alquenilo C₂₋₆, alquinilo C₂₋₆,
alquiloxi C₁₋₆, alqueniloxi C₂₋₆, alquiniloxi C₁₋₆, S(O)₀₋₂R_a, arilo C₆₋₁₀, ariloxi C₆₋₁₀, aril C₇₋₁₀-alquilo, aril C₆₋₁₀-alquiloxi C₁₋₁₀,
C(O)R_a, C(O)OR_a, NR_aC(O)R_b, SO₂NR_aR_b, NR_aSO₂R_b, NR_aSO₂NR_bR_c, CR_aN=OR_b y/o NR_aCOOR_b en las que R_a-
50 R_j son cada uno independientemente H, alquilo C₁₋₄, alquenilo C₂₋₄ o alquinilo C₂₋₄. Se entiende que en un resto
heteroaralquilo de 6-18 miembros, 6-18 miembros representa los átomos que están presentes en tanto el resto de
heterociclo como los grupos alquilo, alquenilo o alquinilo. Por ejemplo, los siguientes grupos están englobados por
un heteroaralquilo de 7 miembros (* representa el punto de unión):



“Átomo de halógeno” es específicamente un átomo de flúor, átomo de cloro, átomo de bromo o átomo de yodo.

5 El término “amidino” representa $-C(=NR_d)NR_eR_f$ en la que R_d , R_e y R_f están seleccionados cada uno independientemente de H, alquilo C_{1-10} , alquenilo C_{2-10} , alquinilo C_{2-10} , arilo C_{6-12} y aralquilo C_{7-12} , o R_e y R_f se toman conjuntamente con el nitrógeno al que están unidos para formar un heterociclo de 4 a 10 miembros opcionalmente sustituido o un heteroarilo de 5-12 miembros opcionalmente sustituido.

10 El término “guanidino” representa $-N(R_d)C(=NR_e)NR_fR_g$ en la que R_d , R_e , R_f y R_g están seleccionados cada uno independientemente de H, alquilo C_{1-10} , alquenilo C_{2-10} , alquinilo C_{2-10} , arilo C_{6-12} y aralquilo C_{7-12} , o R_f y R_g se toman conjuntamente con el nitrógeno al que están unidos para formar un heterociclo de 4 a 10 miembros opcionalmente sustituido o un heteroarilo de 5-12 miembros opcionalmente sustituido.

15 El término “amido” representa $-CONR_dR_e$ y $-NR_dCOR_e$ en las que R_d y R_e están seleccionados cada uno independientemente de H, alquilo C_{1-10} , alquenilo C_{2-10} , alquinilo C_{2-10} , arilo C_{6-12} y aralquilo C_{7-12} , o R_d y R_e se toman conjuntamente con el nitrógeno al que están unidos (o el átomo de nitrógeno y grupo CO en el caso de $-NR_dCOR_e$) para formar un heterociclo de 4 a 10 miembros opcionalmente sustituido o un heteroarilo de 5-12 miembros opcionalmente sustituido.

20 El término “amino” representa un derivado de amoníaco obtenido sustituyendo uno o más átomos de hidrógeno e incluye $-NR_dR_e$ en la que R_d y R_e están seleccionados cada uno independientemente de H, alquilo C_{1-10} , alquenilo C_{2-10} , alquinilo C_{2-10} , arilo C_{6-12} y aralquilo C_{7-12} , o R_d y R_e se toman conjuntamente con el nitrógeno al que están unidos para formar un heterociclo de 4 a 10 miembros opcionalmente sustituido o un heteroarilo de 5-12 miembros opcionalmente sustituido.

25 El término “sulfonamido” representa $SO_2NR_dR_e$ y $-NR_dSO_2R_e$ en las que R_d y R_e están seleccionados cada uno independientemente de H, alquilo C_{1-10} , alquenilo C_{2-10} , alquinilo C_{2-10} , arilo C_{6-12} y aralquilo C_{7-12} , o R_d y R_e se toman conjuntamente con el nitrógeno al que están unidos para formar un heterociclo de 4 a 10 miembros opcionalmente sustituido o un heteroarilo de 5-12 miembros opcionalmente sustituido.

Cuando haya un átomo de azufre presente, el átomo de azufre puede estar en diferentes niveles de oxidación, es decir, S, SO o SO_2 . Todos aquellos niveles de oxidación están dentro del alcance de la presente invención.

30 El término “independientemente” significa que un sustituyente puede ser el mismo o una definición diferente para cada artículo.

Los términos “huésped” o “paciente” significan hombre o mujer humano, por ejemplo, niño, adolescente o adulto.

35 Se apreciará que la cantidad de un compuesto de la invención requerida para su uso en el tratamiento variará no solo con el compuesto particular seleccionado, sino también con la vía de administración, la naturaleza de la afección para la que se requiere tratamiento y la edad y condición del paciente y será por último lugar a criterio del médico adjunto o veterinario. En general, sin embargo, una dosis adecuada estará en el intervalo de aproximadamente 0,1 a aproximadamente 750 mg/kg de peso corporal por 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.

40 La dosis deseada puede presentarse convenientemente en una dosis única o como dosis divididas administradas a intervalos apropiados, por ejemplo, como dos, tres, cuatro o más dosis por día.

El compuesto se administra convenientemente en forma de dosificación unitaria; por ejemplo, que contiene 10 a 1500 mg, convenientemente 20 a 1000 mg, lo más convenientemente 50 a 700 mg de principio activo por forma de dosificación unitaria.

45 Idealmente, el principio activo debe administrarse para lograr concentraciones en plasma pico del compuesto activo de aproximadamente 1 a aproximadamente 75 μM , aproximadamente 2 a 50 μM , aproximadamente 3 a aproximadamente 30 μM . Esto puede lograrse, por ejemplo, por la inyección intravenosa de una disolución al 0,1 al 5% del principio activo, opcionalmente en solución salina, o por vía oral administrada como un bolo que contiene aproximadamente 1 a aproximadamente 500 mg del principio activo. Pueden mantenerse niveles en sangre deseables por una infusión continua proporcionando aproximadamente 0,01 a aproximadamente 5,0 mg/kg/hora o por infusiones intermitentes que contienen aproximadamente 0,4 a aproximadamente 15 mg/kg del principio activo.

50 Si los compuestos de la presente invención o sales farmacéuticamente aceptables de los mismos se usan en combinación con un segundo agente terapéutico activo contra el mismo virus, la dosis de cada compuesto puede ser tanto la misma como diferenciarse de la de cuando el compuesto se usa solo. Dosis apropiadas serán fácilmente

apreciadas por aquellos expertos en la materia.

Aunque es posible que, para su uso en terapia, un compuesto de la invención pueda administrarse como el producto químico en bruto, es preferible presentar el principio activo como una composición farmacéutica. Así, la invención proporciona además una composición farmacéutica que comprende compuestos de la presente invención o un derivado farmacéuticamente aceptable de los mismos junto con uno o más vehículos farmacéuticamente aceptables y, por tanto, opcionalmente, otros componentes terapéuticos y/o profilácticos. El (Los) vehículo(s) debe(n) ser "aceptable(s)" en el sentido de ser compatibles con los otros componentes de formulación y no perjudicial(es) para el receptor de los mismos.

Composiciones farmacéuticas incluyen aquellas adecuadas para administración oral, rectal, nasal, tópica (incluyendo bucal y sub-lingual), transdérmica, vaginal o parenteral (incluyendo intramuscular, sub-cutánea y intravenosa) o en una forma adecuada para administración por inhalación o insuflación. Las formulaciones pueden presentarse convenientemente, cuando corresponda, en unidades de dosificación discretas y pueden prepararse por cualquiera de los procedimientos muy conocidos en la técnica de la farmacia. Todos los procedimientos incluyen la etapa de poner en asociación el compuesto activo con vehículos líquidos o vehículos sólidos finamente divididos o ambos y luego, si fuera necesario, moldear el producto en la formulación deseada.

Las composiciones farmacéuticas adecuadas para administración por vía oral pueden presentarse convenientemente como unidades discretas tales como cápsulas, sellos o comprimidos, cada uno de los cuales contiene una cantidad predeterminada del principio activo; como un polvo o gránulos; como una disolución, una suspensión o como una emulsión. El principio activo también puede presentarse como un bolo, electuario o pasta. Los comprimidos y cápsulas para administración por vía oral pueden contener excipientes convencionales tales como aglutinantes, cargas, lubricantes, disgregantes o agentes humectantes. Los comprimidos pueden recubrirse según procedimientos muy conocidos en la técnica. Preparaciones líquidas orales pueden estar en forma de, por ejemplo, suspensiones, disoluciones, emulsiones, jarabes o elixires acuosos o aceitosos, o pueden presentarse como un producto seco para constitución con agua u otro vehículo adecuado antes de uso. Tales preparaciones líquidas pueden contener aditivos convencionales tales como agentes de suspensión, agentes emulsionantes, vehículos no acuosos (que pueden incluir aceites comestibles), o conservantes.

Los compuestos según la invención también pueden formularse para administración parenteral (por ejemplo, mediante inyección, por ejemplo inyección en bolo o infusión continua) y pueden presentarse en forma de dosis unitaria en ampollas, jeringuillas precargadas, infusión de volumen pequeño o en recipientes de múltiples dosis con un conservante añadido. Las composiciones pueden tomar formas tales como suspensiones, disoluciones o emulsiones en vehículos aceitosos o acuosos, y pueden contener agentes de formulación tales como agentes de suspensión, estabilizantes y/o dispersantes. Alternativamente, el principio activo puede estar en forma de polvo, obtenido por aislamiento aséptico de sólido estéril o por liofilización a partir de disolución, para constitución con un vehículo adecuado, por ejemplo, agua libre de pirógenos estéril, antes de uso.

Para administración tópica a la epidermis, los compuestos según la invención pueden formularse como pomadas, cremas o lociones, o como un parche transdérmico. Tales parches transdérmicos pueden contener promotores de la penetración tales como linalol, carvacrol, timol, citral, mentol y t-anetol. Las pomadas y cremas pueden formularse, por ejemplo, con una base acuosa o aceitosa con la adición de agentes espesantes y/o gelificantes adecuados. Las lociones pueden formularse con una base acuosa o aceitosa y en general también contendrán uno o más emulsionantes, estabilizantes, dispersantes, agentes de suspensión, espesantes o colorantes.

Composiciones adecuadas para administración tópica en la boca incluyen pastillas para chupar que comprenden principio activo en una base aromatizada, normalmente sacarosa y goma arábiga o tragacanto; pastillas que comprenden el principio activo en una base inerte tal como gelatina y glicerina o sacarosa y goma arábiga; y enjuagues bucales que comprenden el principio activo en un vehículo líquido adecuado.

Composiciones farmacéuticas adecuadas para administración rectal en las que el vehículo es un sólido se presentan, por ejemplo, como supositorios de dosis unitaria. Vehículos adecuados incluyen manteca de cacao y otros materiales comúnmente usados en la materia y los supositorios pueden formarse convenientemente por la mezcla del compuesto activo con el (los) vehículo(s) ablandado(s) o fundido(s), seguido de enfriamiento y moldeo en moldes.

Composiciones adecuadas para administración vaginal pueden presentarse como pesarios, tampones, cremas, geles, pastas, espumas o esprays que contienen además del principio activo tales vehículos como se conocen en la técnica por ser apropiados.

Para administración intranasal, los compuestos de la invención pueden usarse como un spray líquido o polvo dispersable o en forma de gotas. Las gotas pueden formularse con una base acuosa o no acuosa que comprende también uno o más dispersantes, solubilizantes o agentes de suspensión. Los esprays líquidos se administran convenientemente de envases presurizados.

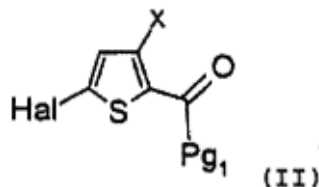
Para administración por inhalación, los compuestos según la invención se administran convenientemente de un insuflador, nebulizador o un envase presurizado u otro medio conveniente de administración de un spray de aerosol. Los envases presurizados pueden comprender un propulsor adecuado tal como diclorodifluorometano, triclorofluorometano, diclorotetrafluoroetano, dióxido de carbono u otro gas adecuado. En el caso de un aerosol presurizado, la unidad de dosificación puede determinarse proporcionando una válvula para administrar 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

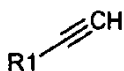
base de polvo adecuada tal como lactosa o almidón. La composición en polvo puede presentarse en forma de dosificación unitaria en, por ejemplo, cápsulas o cartuchos o, por ejemplo, gelatina o envases alveolados de los que puede administrarse el polvo con la ayuda de un inhalador o insuflador.

- 5 Si se desea pueden emplearse las formulaciones anteriormente descritas adaptadas para dar la liberación sostenida del principio activo.

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



con un compuesto de fórmula:



- 10 bajo condiciones de acoplamiento de Sonogashira convencionales;

en la que:

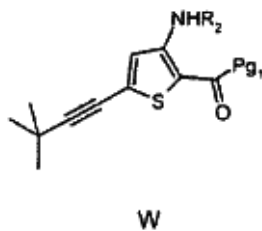
X es como se ha definido anteriormente, por ejemplo, -NR₆-CO-R₅, R₁, R₆ y R₅ son como se definen en el presente documento, Pg₁ es OH o un grupo protector de carboxilo, Hal es Cl, Br o I (por ejemplo, Br),

En otra realización, Pg₁ es metoxi o terc-butoxi.

- 15 En otra realización, Pg₁ es metoxi.

La reacción de acoplamiento de Sonogashira es un procedimiento bien establecido para producir compuestos que contienen acetileno. Condiciones para tal acoplamiento son muy conocidas en la técnica y pueden encontrarse, por ejemplo, en los ejemplos de la presente solicitud en Yamaguchi y col. (Synlett 1999, nº 5, 549-550) o en Tykwinski y col., Angew. Chem. Int. Ed. 2003, 42, 1566-1568.

- 20 La presente invención también incluye productos intermedios que pueden ser útiles en la síntesis de los compuestos de fórmula (I). Ciertos productos intermedios se representan por la fórmula W



en la que:

- 25 R₂, H o grupo protector de amino (por ejemplo, Boc (terc-butoxicarbonilo), Cbz (benciloxicarbonilo)) y Pg₁ es OH o un grupo protector de carboxilo.

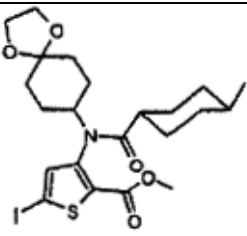
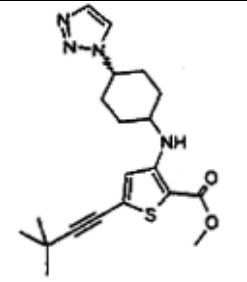
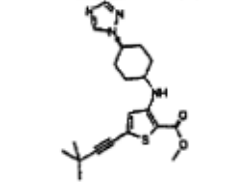
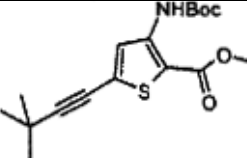
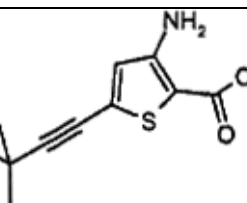
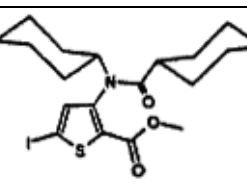
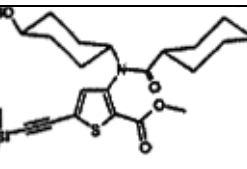
En otra realización, Pg₁ es metoxi o terc-butoxi.

En otra realización, Pg₁ es metoxi.

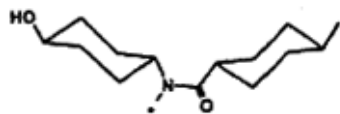
En otra realización, R₂ es H.

En otra realización, R₂ es Boc.

- 30 A: Productos intermedios específicos incluyen, pero no se limitan a, los compuestos enumerados en la Tabla

Tabla A		
Estructura	Nombre	Nº
	éster metílico de ácido 3-[(1,4-dioxa-espiro[4.5]dec-8-il)-(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-amino]-5-yodo-tiofeno-2-carboxílico	3a
	éster metílico de ácido 5-(3,3-dimetil-but-1-inil)-3-(4-[1,2,3]triazol-1-il-ciclohexilamino)-tiofeno-2-carboxílico	4a
	éster metílico de ácido 5-(3,3-dimetil-but-1-inil)-3-(4-[1,2,4]triazol-1-il-ciclohexilamino)-tiofeno-2-carboxílico	5a
	éster metílico de ácido 5-(3,3-dimetil-but-1-inil)-3-(terc-butoxicarbonil)amino-tiofeno-2-carboxílico	9a
	éster metílico de ácido 5-(3,3-dimetil-but-1-inil)-3-amino-tiofeno-2-carboxílico	9b
	éster metílico de ácido 3-[(trans-4-hidroxiciclohexil)-(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-amino]-5-yodo-tiofeno-2-carboxílico	10a
	éster metílico de ácido 3-[(trans-4-hidroxiciclohexil)-(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-amino]-5-trimetil-silaniletinil-tiofeno-2-carboxílico	10b

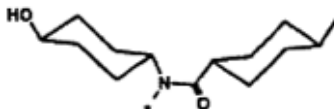
Según otro aspecto de la presente invención se proporciona un procedimiento para la preparación de compuestos



de fórmula I en la que X
o 10a o 10b.

que comprende usar un producto intermedio de fórmula 3a

Según otro aspecto de la presente invención se proporciona un procedimiento para la preparación de



5 compuestos de fórmula I en la que X es
intermedio de fórmula 3a o 10a o 10b.

que comprende usar un producto

Según otro aspecto de la presente invención se proporciona un procedimiento para la preparación de compuestos de fórmula I en la que R1 es 3,3-dimetil-but-1-inilo que comprende usar un producto intermedio de fórmula 9a o 9b.

10 Según otro aspecto de la presente invención se proporciona un procedimiento para la preparación de compuestos de fórmula I en la que R1 es 3,3-dimetil-but-1-inilo y R6 es 4-[1,2,3]triazol-1-il-ciclohexilo que comprende usar un producto intermedio de fórmula 4a.

15 Según otro aspecto de la presente invención se proporciona un procedimiento para la preparación de compuestos de fórmula I en la que R1 es 3,3-dimetil-but-1-inilo y R6 es 4-[1,2,4]triazol-1-il-ciclohexilo que comprende usar un producto intermedio de fórmula 5a.

20 Los siguientes esquemas generales y ejemplos se proporcionan para ilustrar diversas realizaciones de la presente invención y no deben considerarse limitantes en el alcance. Se apreciará por aquellos expertos en la materia que otros compuestos de la presente invención pueden obtenerse sustituyendo los reactantes y/o condiciones de operación genéricamente o específicamente descritos usados en los siguientes ejemplos. Los procedimientos de síntesis para obtener compuestos de tiofeno también se describen en las solicitudes de patente patentes de EE.UU. n° 6.881.741, USSN 10/730.272 presentada el 9 de diciembre de 2003, USSN 11/042.442 presentada el 26 de enero de 2005, USSN 11/433.749 presentada el 15 de mayo de 2006, WO02/100851, US 2004-0116509, WO2004/052885, US 2005-0009804, WO2004/052879 y US 2004-0192707. En los documentos WO 2006/072347 y documento WO 2006/072348 también se desvelan compuestos de tiofenoalquinilo.

25 En los ejemplos anteriores y en los siguientes ejemplos, todas las temperaturas se exponen sin corregir en grados Celsius; y, a menos que se indique lo contrario, todas las partes y porcentajes son en peso.

Las siguientes abreviaturas pueden usarse del siguiente modo:

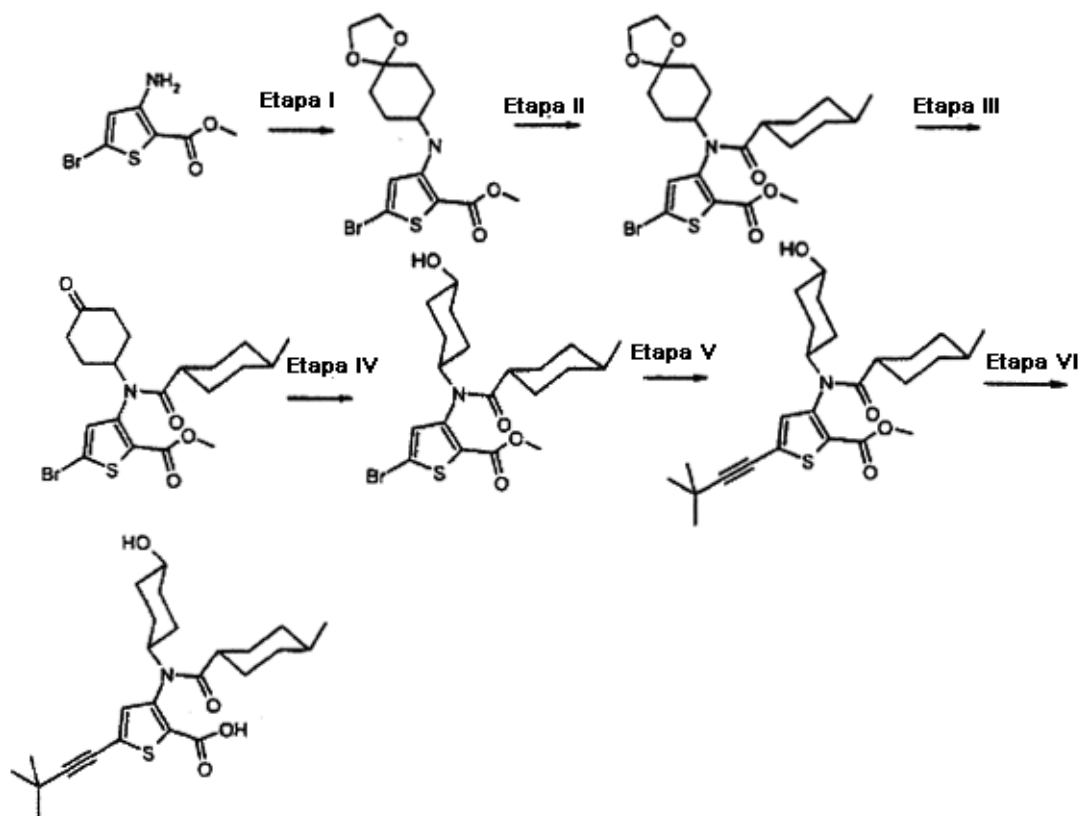
	Boc	<i>tert</i> -butoxicarbonilo
	DCC	1,3-diciclohexilcarbodiimida
30	DCE	1,2-dicloroetano
	DCM	diclorometano
	DIPEA	<i>N,N</i> -diisopropiletilamina
	DMF	<i>N,N</i> -dimetilformamida
	EtOAc	acetato de etilo
35	Hal	halógeno
	LAH	hidruro de litio y aluminio
	MeOH	metanol
	TFA	ácido trifluoroacético
	THF	tetrahidrofurano
40	LDA	diisopropilamida de litio
	CCF	cromatografía en capa fina
	MR	matraz redondo

Las purificaciones por HPLC se realizaron todas usando una columna C18 de fase inversa empaquetada con partículas de 5 µm. El diámetro de columna fue 19 mm y la longitud fue 100 mm. El eluyente fue un gradiente

apropiado de acetonitrilo y agua con una concentración de HCl 3 mM.

Ejemplo 1:

Preparación de ácido 5-(3,3-dimetil-but-1-ynil)-3-[(*trans*-4-hidroxi-ciclohexil)-(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-amino]-tiofeno-2-carboxílico



5

Etapa I

Una suspensión de éster metílico de ácido 3-amino-5-bromo-tiofeno-2-carboxílico (17,0 g, 72,0 mmoles) en THF seco (21 ml) se trata con 1,4-ciclohexanodionamonoetilencetal (11,3 mg, 72,0 mmoles), seguido de dicloruro de dibutil-litio (1,098 g, 3,6 mmoles). Después de 5 min se añade fenilsilano (9,74 ml, 79,2 mmoles) y la mezcla de reacción se agita durante la noche a temperatura ambiente. Después de la concentración, el residuo se disuelve en EtOAc, se lava con NaHCO₃, luego salmuera. La fase orgánica se separa, se seca sobre Na₂SO₄, se filtra y se concentra. El material en bruto se diluye en hexano (500 ml). Después de la filtración, las aguas madres se evaporan a sequedad dando éster metílico de ácido 5-bromo-3-(1,4-dioxa-espiro[4.5]dec-8-ilamino)-tiofeno-2-carboxílico (24,79 g, rendimiento del 92%). Ref: documento WO2004/052885

10

15 Etapa II

A- Preparación de cloruro de ácido *trans*-4-metilciclohexilcarboxílico:

Se añade gota a gota cloruro de oxalilo (2 M en DCM, 117 ml) a una suspensión de ácido *trans*-4-metilciclohexilcarboxílico (16,6 g, 117 mmoles) en DCM (33 ml) y DMF (0,1 ml), y la mezcla de reacción se agita 3 h a temperatura ambiente. Se elimina el DCM a presión reducida y el residuo se co-evapora con DCM. El residuo se disuelve en tolueno para preparar una disolución 1 M.

20

B- Preparación del compuesto diana:

La disolución 1 M de cloruro de ácido *trans*-4-metilciclohexilcarboxílico se añade a una disolución de éster metílico de ácido 5-bromo-3-(1,4-dioxa-espiro[4.5]dec-8-ilamino)-tiofeno-2-carboxílico (24,79 g, 65 mmoles) en tolueno (25 ml) seguido de piridina (5,78 ml, 71,5 mmoles). La mezcla resultante se agita entonces durante 16 h a reflujo. La mezcla de reacción se diluye con tolueno (60 ml) y se enfría a 5 °C. Después de la adición de piridina (12 ml) y MeOH (5,6 ml), la mezcla se agita 2 h a 5 °C. La suspensión blanca se separa por filtración y el tolueno se añade a las aguas madres. La fase orgánica se lava con 10% de ácido cítrico, NaHCO₃ sat ac., se seca (Na₂SO₄) y se concentra. El residuo se tritura en hexanol hirviendo (1500 ml). La mezcla de reacción se deja enfriar hasta temperatura ambiente. El matraz de reacción se sumerge en baño de hielo y se agita durante 30 min; se separa sólido blanco por filtración y se lava con hexano frío (225 ml). El sólido se purifica por cromatografía en columna de gel de sílice usando 20% de EtOAc:hexano como eluyente para proveer el compuesto final éster metílico de ácido 5-bromo-3-[(1,4-dioxa-espiro[4.5]dec-8-il)-(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-amino]-tiofeno-2-carboxílico (10,5 g,

25

30

32%).

Etapa III

- 5 Se disuelve éster metílico de ácido 5-bromo-3-[(1,4-dioxa-espiro[4.5]dec-8-il)-(trans-4-metilciclohexano-carbonil)-amino]-tiofeno-2-carboxílico (8,6 g, 17 mmoles) en tetrahidrofurano (100 ml) y se trata con disolución de HCl 3 N (50 ml). La reacción se agita a 40 °C durante 3 h. La mezcla de reacción se evapora a presión reducida. El residuo se disuelve en EtOAc y se lava con disolución sat. ac. de NaHCO₃. La fase orgánica se separa, se seca sobre Na₂SO₄, se filtra y se concentra dando éster metílico de ácido 5-bromo-3-[(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-(4-oxo-ciclohexil)-amino]-tiofeno-2-carboxílico como un sólido (7,4 g, 95%).

Etapa IV

- 10 A una disolución fría (0 °C) de éster metílico de ácido 5-bromo-3-[(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-(4-oxo-ciclohexil)-amino]-tiofeno-2-carboxílico (5,9 g, 12,9 mmoles) en 50 ml de MeOH bajo una atmósfera de N₂ se añade en porciones NaBH₄ (250 mg, 6,4 mmoles) (aprox. 30 min). Después de completarse la adición y de comprobarse para la completitud de reacción por CCF (hexano:EtOAc 1:1) se añaden 10 ml de 2% de HCl y se agita durante 15 min. La mezcla de reacción se concentra a vacío a sequedad. La mezcla de reacción se recupera con agua (25 ml) y se extrae con EtOAc. Las fases orgánicas se combinan y se secan sobre MgSO₄ y se concentran a sequedad. El residuo se purifica por cromatografía en columna de gel de sílice usando EtOAc:hexano (1:1) como eluyente para obtener éster metílico de ácido 5-bromo-3-[(trans-4-hidroxi-ciclohexil)-(trans-4-metil-ciclohexano-carbonil)-amino]-tiofeno-2-carboxílico (4,5 g, rendimiento del 77%) como un sólido.

Etapa V

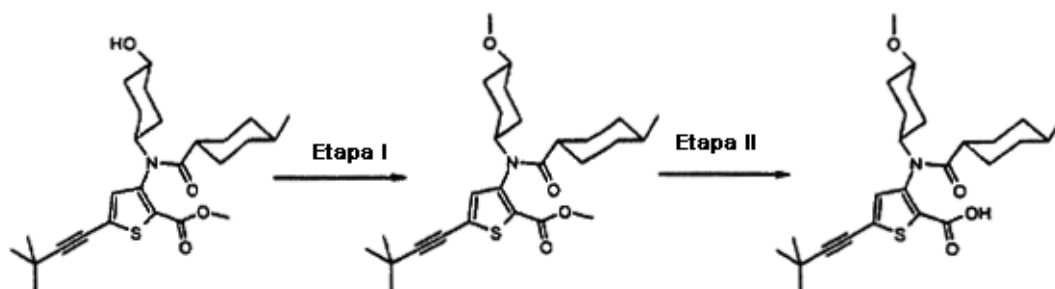
- 20 A una disolución de los compuestos éster metílico de ácido 5-bromo-3-[(trans-4-hidroxi-ciclohexil)-(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-amino]-tiofeno-2-carboxílico (500 mg, 1,09 mmoles) y 3,3-dimetil-but-1-ino (385 mg, 4,69 mmoles) en DMF (0,5 ml) se añaden trietilamina (1,06 ml) y tris(dibencilidenacetona)dipaladio (0) (70 mg, 0,08 mmoles) y la mezcla de reacción se agita a condiciones de reflujo durante 16 h bajo una atmósfera de N₂. Se eliminan DMF y trietilamina a presión reducida y el residuo se reparte entre agua y acetato de etilo. La fase orgánica se separa, se seca (Na₂SO₄), se concentra y el residuo se purifica por cromatografía en columna usando acetato de etilo y hexano (1:2) como eluyente para obtener éster metílico de ácido 5-(3,3-dimetil-but-1-inil)-3-[(trans-4-hidroxi-ciclohexil)-(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-amino]-tiofeno-2-carboxílico como un sólido, 330 mg (66%).

Etapa VI

- 30 Se disuelve éster metílico de ácido 5-(3,3-dimetil-but-1-inil)-3-[(trans-4-hidroxi-ciclohexil)-(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-amino]-tiofeno-2-carboxílico (0,10 g, 0,22 mmoles) en una mezcla 3:2:1 de THF:metanol:H₂O (5,0 ml) y se trata con una disolución 1 N de LiOH·H₂O (0,65 ml, 0,65 mmoles). Después de 2 h de agitación a 60 °C, la mezcla de reacción se concentra a presión reducida sobre un evaporador rotatorio. La mezcla se reparte entre acetato de etilo y agua. La fase de agua se acidifica usando HCl 0,1 N. La fase de EtOH se separa y se seca sobre Na₂SO₄. Filtración y eliminación del disolvente a presión reducida sobre un evaporador rotatorio seguido de purificación por cromatografía en columna usando metanol y diclorometano (1:9) como eluyente para obtener ácido 5-(3,3-dimetil-but-1-inil)-3-[(trans-4-hidroxi-ciclohexil)-(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-amino]-tiofeno-2-carboxílico como un sólido, 30 mg (30%). ESI⁻ (M-H): 444,3.

Ejemplo 2:

- 40 **Preparación de ácido 5-(3,3-dimetil-but-1-inil)-3-[(trans-4-metoxi-ciclohexil)-(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-amino]-tiofeno-2-carboxílico**



Etapa I:

- 45 A una disolución de éster metílico de ácido 5-(3,3-dimetil-but-1-inil)-3-[(trans-4-hidroxi-ciclohexil)-(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-amino]-tiofeno-2-carboxílico (0,200 g, 0,435 mmoles) en DMF seca (2,0 ml) se añade yodometano (0,136 ml, 2,18 mmoles), la mezcla se enfría a 0 °C y se añade NaH (suspensión al 60% en aceite, 35 mg, 0,87 mmoles) en porciones durante 5 min. La mezcla se agita a 0 °C durante 1 h 40 min y se inactiva mediante la adición de agua y se acidifica con HCl 2 N. La mezcla se diluye con acetato de etilo y se lava con salmuera. La fase orgánica se separa, se seca sobre Na₂SO₄, se concentra a presión reducida. El residuo se purifica por cromatografía en columna sobre gel de sílice eluyendo con 0→50% de acetato de etilo en hexano dando éster

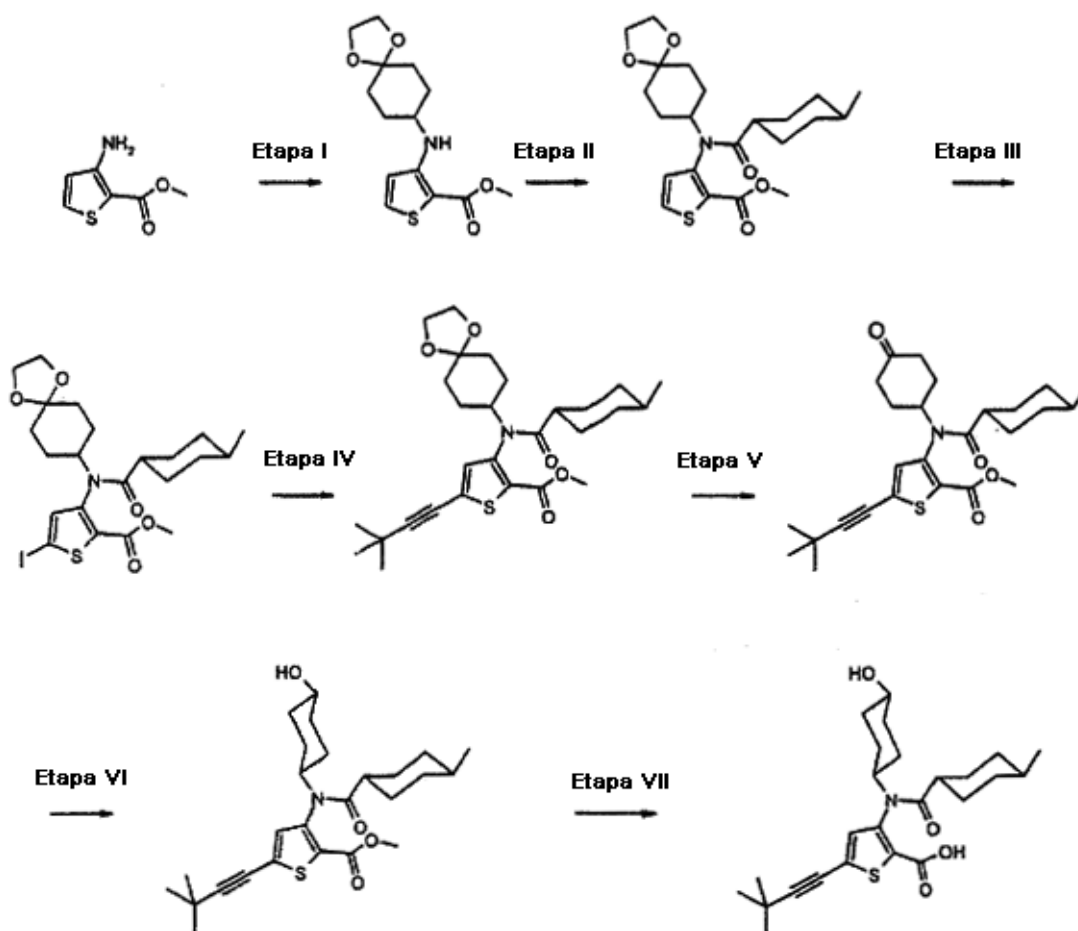
metílico de ácido 5-(3,3-dimetil-but-1-inil)-3-[(*trans*-4-metoxi-ciclohexil)-(*trans*-4-metil-ciclohexanocarbonil)-amino]-tiofeno-2-carboxílico (65 mg, 32%).

Etapa II:

- 5 Se hidroliza éster metílico de ácido 5-(3,3-dimetil-but-1-inil)-3-[(*trans*-4-metoxi-ciclohexil)-(*trans*-4-metil-ciclohexanocarbonil)-amino]-tiofeno-2-carboxílico de la Etapa I como se ha descrito previamente (Esquema 1, Etapa VI) dando ácido 5-(3,3-dimetil-but-1-inil)-3-[(*trans*-4-metoxi-ciclohexil)-(*trans*-4-metil-ciclohexanocarbonil)-amino]-tiofeno-2-carboxílico como un sólido (65 mg, 32%). ESI⁻ (M-H): 458,3.

Ejemplo 3:

- 10 **Ácido 5-(3,3-dimetil-but-1-inil)-3-[(*trans*-4-hidroxi-ciclohexil)-(*trans*-4-metil-ciclohexanocarbonil)-amino]-tiofeno-2-carboxílico**



Etapa I

- 15 Una suspensión de éster metílico de ácido 3-amino-tiofeno-2-carboxílico (5,0 g, 31,85 mmoles) en THF seco (9 ml) se trata con 1,4-ciclohexanodionamonoetilacetal (5,0 g, 32,05 mmoles), seguido de dicloruro de dibutil-litio (482 mg, 1,59 mmoles). Después de 5 min se añade fenilsilano (4,3 ml, 34,96 mmoles) y la mezcla de reacción se agita durante la noche a temperatura ambiente. Después de la concentración, el residuo se disuelve en EtOAc y se lava con NaHCO₃ seguido de salmuera. La fase orgánica se separa, se seca (Na₂SO₄), se filtra y se concentra. El residuo se purifica por cromatografía en columna usando 30% de acetato de etilo en hexano como eluyente dando éster metílico de ácido 3-(1,4-dioxa-espiro[4.5]dec-8-ilamino)-tiofeno-2-carboxílico (4,5 g, rendimiento del 47%).

- 20 Procedimiento alternativo:

- 25 Se disuelve éster metílico de ácido 3-amino-tiofeno-2-carboxílico (1 eq.) en diclorometano seguido de 1,4-ciclohexanodionamonoetilacetal (2 eq.) para obtener una disolución ligeramente amarilla. Esta disolución se añade a la suspensión de NaBH(OAc)₃ (2,2 eq.) en diclorometano. Se añade gota a gota ácido acético (2,4 eq.) durante un periodo de 15 min. La suspensión resultante se agita a 20-25 °C bajo N₂ durante 24 h. La reacción se inactiva añadiendo agua y se agita durante 1 h. La fase de diclorometano se separa, se trata de nuevo con agua y se agita durante otra 1 h. La fase de diclorometano se separa y se añade a una disolución saturada de NaHCO₃, se agita a 20-25 °C durante 20 min. Algo de los sólidos residuales blancos se filtran y luego la fase orgánica se separa,

se seca (Na_2SO_4) y se evapora. Se añade metanol al residuo y se evapora a sequedad. El residuo se recoge en metanol y se agita durante 2 h a 0 °C. La suspensión se filtra a vacío y la torta filtrada resultante se lava con metanol frío. El sólido blanco se seca a vacío a 35-40 °C durante aproximadamente 20 h proporcionando el compuesto del título.

5 Etapa II

A- Preparación de cloruro de ácido *trans*-4-metilciclohexilcarboxílico:

10 Se añade gota a gota cloruro de oxalilo (2 M en diclorometano, 17 ml) a una suspensión de ácido *trans*-4-metilciclohexilcarboxílico (2,3 g, 16,2 mmoles) en diclorometano (5 ml) y DMF (0,1 ml). La mezcla de reacción se agita durante 3 h a temperatura ambiente. Los volátiles se eliminan a presión reducida para obtener el cloruro de ácido en bruto que se usa directamente para la siguiente reacción.

15 B- Se añade cloruro de ácido *trans*-4-metilciclohexilcarboxílico a una disolución de éster metílico de ácido 3-(1,4-dioxa-espiro[4.5]dec-8-ilamino)-tiofeno-2-carboxílico (2,4 g, 8,08 mmoles) en tolueno (18 ml) seguido de piridina (0,7 ml). La mezcla resultante se agita entonces durante 16 h a reflujo. La mezcla de reacción se diluye con tolueno (7 ml) y se enfría a 5 °C. Después de la adición de piridina (1,5 ml) y MeOH (0,8 ml), la mezcla se agita 2 h a 5 °C. El sólido blanco se filtra y se lava con tolueno. El filtrado se lava con 10% de ácido cítrico, NaHCO_3 ac., se seca (Na_2SO_4) y se concentra. El sólido se purifica por cromatografía en columna de gel de sílice usando 20% de EtOAc:hexano como eluyente para obtener éster metílico de ácido 3-[(1,4-dioxa-espiro[4.5]dec-8-il)-(trans-4-metilciclohexanocarbonil)-amino]-tiofeno-2-carboxílico (2,3 g, 68%).

Procedimiento alternativo:

20 A una disolución de ácido *trans*-4-metilciclohexilcarboxílico (1,8 eq.) en tolueno bajo nitrógeno se añade DMF anhidra. La mezcla de reacción se agita y se añade cloruro de tionilo (2,16 eq.) durante 3-5 min. La mezcla se agita entonces durante 3 h a ta. Cuando se completa la reacción se añade tolueno a la mezcla de reacción. La disolución se evapora entonces bajo presión de nitrógeno reducida para reducir a la mitad su volumen. La disolución se disuelve en tolueno para obtener una disolución de cloruro de ácido 1 N.

25 Se añaden éster metílico de ácido 3-(1,4-dioxa-espiro[4.5]dec-8-ilamino)-tiofeno-2-carboxílico (1 eq.) y piridina (2 eq.) a la disolución de cloruro de ácido (1 N). La mezcla de reacción se agita a reflujo durante 15 h. Una vez se ha completado la reacción, la mezcla de reacción se enfría a temperatura ambiente y luego se añaden metanol y tolueno a la misma. La mezcla de reacción se agita durante 1 h a ta y se añade una disolución acuosa saturada de NaHCO_3 . La fase orgánica se separa, se seca (Na_2SO_4) y se evapora a aproximadamente 4 volúmenes de disolvente. A la disolución se añaden 4 volúmenes de heptano mientras se agita. El matraz de reacción se sumerge en un baño de hielo y se agita durante 120 min; se separa un sólido beis por filtración y se lava con heptano frío, luego se seca durante la noche en la estufa de vacío para obtener el compuesto del título.

30 Etapa III

35 Se añade gota a gota n-BuLi (2 eq.) durante 10 min a una disolución fría (-40 °C) de diisopropilamina (1 eq.) en THF seco. La mezcla de reacción se agita a la misma temperatura durante 30 min. Entonces se añade gota a gota una disolución de éster metílico de ácido 3-[(1,4-dioxa-espiro[4.5]dec-8-il)-(trans-4-metil-ciclohexano-carbonil)-amino]-tiofeno-2-carboxílico (1 eq.) en THF (35 min) manteniendo la temperatura interna a aproximadamente -40 °C. La mezcla de reacción se agita durante 30 min y se añade gota a gota una disolución de yodo (2 eq.) en THF, se agita durante 30 min a la misma temperatura antes de añadirse una disolución sat. de NH_4Cl . La mezcla de reacción se diluye con acetato de etilo y agua. La fase orgánica se separa y se lava con disolución al 5% de tiosulfato de sodio. La fase orgánica se separa, se seca (Na_2SO_4) y se evapora a una suspensión y luego se añade heptano. La suspensión se agita a 0 °C durante 30 min, se filtra y se lava con heptano para obtener éster metílico de ácido 3-[(1,4-dioxa-espiro[4.5]dec-8-il)-(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-amino]-5-yodo-tiofeno-2-carboxílico.

EM hallada (electropulverización): (M+H): 548,21

45 Etapa IV

50 En un MR de 25 ml bajo nitrógeno se toman éster metílico de ácido 3-[(1,4-dioxa-espiro[4.5]dec-8-il)-(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-amino]-5-yodo-tiofeno-2-carboxílico (1 eq.), yoduro de cobre (0,025 eq.) y tris(dibencilidenacetona)dipaladio (0) (0,01 eq.). Se añaden DMF, trietilamina (2,5 eq.) y 3,3-dimetil-but-1-ino (2 eq.) y la mezcla de reacción se agita a 40 °C durante 2 h bajo una atmósfera de N_2 . La mezcla de reacción se filtra sobre Celite y se lava con acetato de etilo. La disolución se diluye con agua y se extrae 2 veces con acetato de etilo. Las fases orgánicas se combinan y se lavan 3 veces con agua. La fase orgánica se separa, se seca (Na_2SO_4), se evapora a aproximadamente 2 ml y luego se añaden 8 ml de heptano. Se evapora a 2-4 ml y se enfría en un baño de hielo. El sólido blanco formado se filtra, se lava con heptano y se seca en estufa para obtener éster metílico de ácido 5-(3,3-dimetil-but-1-inil)-3-[(1,4-dioxa-espiro[4.5]dec-8-il)-(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-amino]-tiofeno-2-carboxílico.

55 Etapa V

60 Se disuelve éster metílico de ácido 5-(3,3-dimetil-but-1-inil)-3-[(1,4-dioxa-espiro[4.5]dec-8-il)-(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-amino]-tiofeno-2-carboxílico (1 eq.) en tetrahidrofurano y se trata con disolución de HCl 3,6 N. La reacción se agita a 40 °C durante 5 h. Entonces se añade agua y la mezcla de reacción se enfría a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se extrae con acetato de etilo (2 × 50 ml). Los extractos combinados se lavan con 25 ml de NaHCO_3 saturado acuoso y 2 × 50 ml de agua. La fase orgánica se concentra dando un aceite denso y se añaden 50 ml de heptano a la mezcla para precipitar el compuesto deseado que se filtra dando el éster metílico de ácido 5-(3,3-dimetil-but-1-inil)-3-[(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-(4-oxo-ciclohexil)-amino]-tiofeno-2-carboxílico.

Etapa VI

5 Se disuelve éster metílico de ácido 5-(3,3-dimetil-but-1-inil)-3-[(*trans*-4-metil-ciclohexanocarboxil)-4-oxo-ciclohexil]-amino]-tiofeno-2-carboxílico (1 eq.) en THF. Se añade agua a la mezcla de reacción y se enfría a -25 °C. Se añade en porciones NaBH₄ (0,5 eq.) manteniendo la temperatura por debajo de -20 °C. La mezcla se agita durante 2 h a -25 °C, entonces se añade HCl 2 N y la disolución se calienta hasta temperatura ambiente. Las fases se separan y la fase acuosa se lava con EtOAc. Las fases orgánicas se combinan y se lavan con salmuera y se secan sobre Na₂SO₄ y se concentran a sequedad dando éster metílico de ácido 5-(3,3-dimetil-but-1-inil)-3-[(4-hidroxi-ciclohexil)-(*trans*-4-metil-ciclohexanocarboxil)-amino]-tiofeno-2-carboxílico como una mezcla 93:7 de isómeros. La mezcla *cis/trans* en bruto se recrystaliza en metanol para obtener >99% del isómero *trans*.

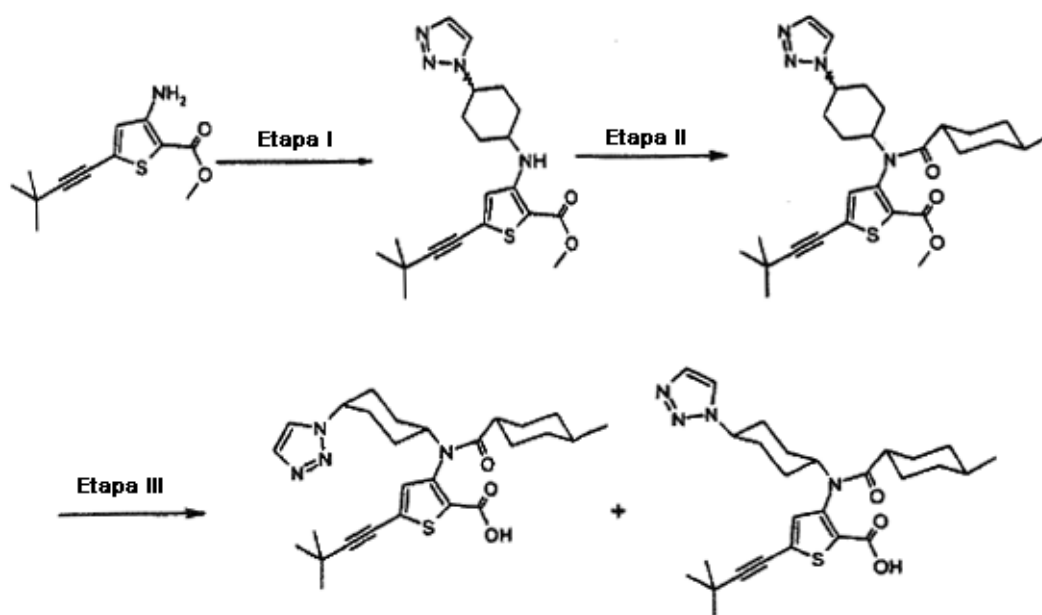
10 Etapa VII

Se sigue el mismo procedimiento que se ha informado anteriormente (Ejemplo 1, Etapa VI) para obtener ácido 5-(3,3-dimetil-but-1-inil)-3-[(*trans*-4-hidroxi-ciclohexil)-(*trans*-4-metil-ciclohexanocarboxil)-amino]-tiofeno-2-carboxílico.

EM hallada (electropulverización): (M-H): 444,3

15 **Ejemplo 4:**

Ácido 5-(3,3-dimetil-but-1-inil)-3-[(*trans*-4-metil-ciclohexanocarboxil)-(cis-4-[1,2,3]triazol-1-il-ciclohexil)-amino]-tiofeno-2-carboxílico y ácido 5-(3,3-dimetil-but-1-inil)-3-[(*trans*-4-metil-ciclohexano-carboxil)-(*trans*-4-[1,2,3]triazol-1-il-ciclohexil)-amino]-tiofeno-2-carboxílico



20 Etapa I:

25 A una disolución de éster metílico de ácido 3-amino-5-(3,3-dimetil-but-1-inil)-tiofeno-2-carboxílico (Ejemplo 9) (0,387 g, 1,6 mmoles) y 4-[1,2,3]triazol-1-il-ciclohexanona (0,27 g, 1,6 mmoles) en THF seco se añade dicloruro de dibutil-litio (0,024 g, 0,080 mmoles) seguido de fenilsilano (0,276 ml, 2,2 mmoles). La mezcla se agita durante la noche a temperatura ambiente. El disolvente se evapora a presión reducida, y el residuo se diluye con acetato de etilo. La fase orgánica se lava con agua y salmuera, se seca con sulfato de sodio, se filtra y se concentra a presión reducida. El residuo se purifica por cromatografía en columna sobre gel de sílice usando el gradiente 50-100% de acetato de etilo en hexano proporcionando éster metílico de ácido 5-(3,3-dimetil-but-1-inil)-3-(4-[1,2,3]triazol-1-il-ciclohexilamino)-tiofeno-2-carboxílico.

Etapa II:

30 A una disolución de éster metílico de ácido 5-(3,3-dimetil-but-1-inil)-3-(4-[1,2,3]triazol-1-il-ciclohexilamino)-tiofeno-2-carboxílico (0,20 g, 0,50 mmoles) en tolueno (1 ml) se añade una disolución de cloruro de ácido *trans*-4-metilciclohexilcarboxílico 1 M (1,0 ml, 1,0 mmoles) y piridina (0,046 ml, 0,58 mmoles). La mezcla se agita durante la noche a 105 °C y se diluye con acetato de etilo. La fase orgánica se lava con NaHCO₃ sat (2 X) y salmuera. La fase orgánica se seca con sulfato de sodio, se filtra y se concentra bajo presión reducida. El residuo se purifica por cromatografía en columna de gel de sílice (20% de acetato de etilo/hexano al 100% de acetato de etilo seguido de 10% de MeOH/acetato de etilo) dando éster metílico de ácido 5-(3,3-dimetil-but-1-inil)-3-[(*trans*-4-metil-ciclohexanocarboxil)-4-[1,2,3]triazol-1-il-ciclohexil)-amino]-tiofeno-2-carboxílico.

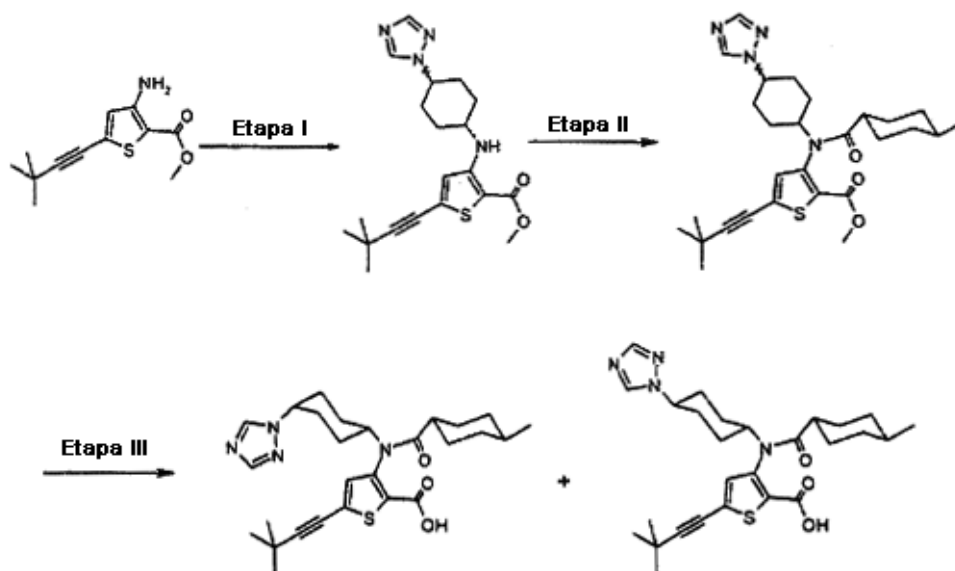
Etapa III:

- 5 Se hidroliza éster metílico de ácido 5-(3,3-dimetil-but-1-inil)-3-[(*trans*-4-metil-ciclohexanocarbonil)-(4-[1,2,3]triazol-1-il-ciclohexil)-amino]-tiofeno-2-carboxílico (0,13 g, 0,25 mmoles) con hidróxido de litio como se ha descrito previamente (Ejemplo 1, Etapa VI) dando después de purificar por HPLC el isómero puro ácido 5-(3,3-dimetil-but-1-inil)-3-[(*trans*-4-metil-ciclohexanocarbonil)-(*cis*-4-[1,2,3]triazol-1-il-ciclohexil)-amino]-tiofeno-2-carboxílico y ácido 5-(3,3-dimetil-but-1-inil)-3-[(*trans*-4-metil-ciclohexanocarbonil)-(*trans*-4-[1,2,3]triazol-1-il-ciclohexil)-amino]-tiofeno-2-carboxílico.

EM hallada (electropulverización): (M+H): 497,4

Ejemplo 5:

- 10 **Ácido 5-(3,3-dimetil-but-1-inil)-3-[(*trans*-4-metil-ciclohexanocarbonil)-(*cis*-4-[1,2,4]triazol-1-il-ciclohexil)-amino]-tiofeno-2-carboxílico y ácido 5-(3,3-dimetil-but-1-inil)-3-[(*trans*-4-metil-ciclohexanocarbonil)-(*trans*-4-[1,2,4]triazol-1-il-ciclohexil)-amino]-tiofeno-2-carboxílico**



Etapa I:

- 15 La aminación reductora de éster metílico de ácido 3-amino-5-(3,3-dimetil-but-1-inil)-tiofeno-2-carboxílico (0,237 g, 1,0 mmoles) y 4-[1,2,4]triazol-1-il-ciclohexanona (0,170 g, 1,0 mmoles) se realiza bajo las mismas condiciones previamente descritas usando dicloruro de dibutil-litio y fenilsilano dando éster metílico de ácido 5-(3,3-dimetil-but-1-inil)-3-(4-[1,2,4]triazol-1-il-ciclohexilamino)-tiofeno-2-carboxílico.

Etapa II:

- 20 Se acila éster metílico de ácido 5-(3,3-dimetil-but-1-inil)-3-(4-[1,2,4]triazol-1-il-ciclohexilamino)-tiofeno-2-carboxílico (0,27 g, 0,70 mmoles) con cloruro de ácido *trans*-4-metilciclohexilcarboxílico como se ha descrito previamente dando éster metílico de ácido 5-(3,3-dimetil-but-1-inil)-3-[(*trans*-4-metil-ciclohexanocarbonil)-(4-[1,2,4]triazol-1-il-ciclohexil)-amino]-tiofeno-2-carboxílico.

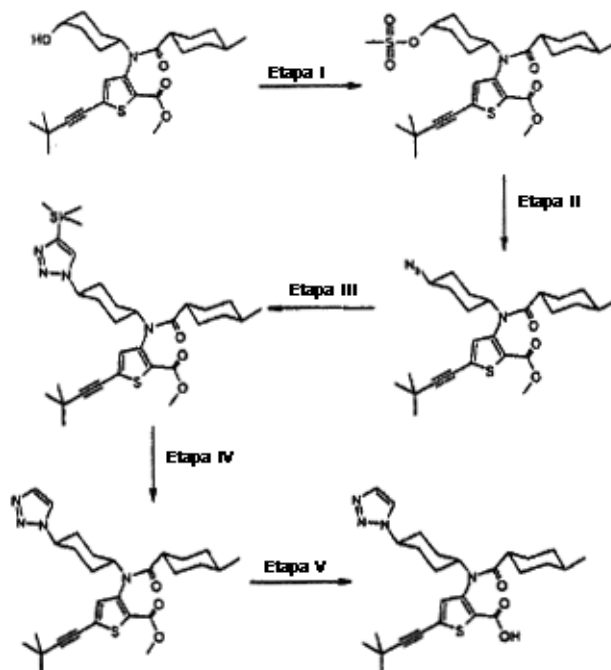
Etapa III:

- 25 Se hidroliza éster metílico de ácido 5-(3,3-dimetil-but-1-inil)-3-[(*trans*-4-metil-ciclohexanocarbonil)-(4-[1,2,4]triazol-1-il-ciclohexil)-amino]-tiofeno-2-carboxílico (0,244 g, 0,48 mmoles) con hidróxido de litio como se ha descrito previamente (Ejemplo 1, Etapa VI) dando después de purificar por HPLC el isómero puro ácido 5-(3,3-dimetil-but-1-inil)-3-[(*trans*-4-metil-ciclohexanocarbonil)-(*cis*-4-[1,2,4]triazol-1-il-ciclohexil)-amino]-tiofeno-2-carboxílico y ácido 5-(3,3-dimetil-but-1-inil)-3-[(*trans*-4-metil-ciclohexanocarbonil)-(*trans*-4-[1,2,4]triazol-1-il-ciclohexil)-amino]-tiofeno-2-carboxílico.

EM hallada (electropulverización): (M+H): 497,4

Ejemplo 6:

Ácido 5-(3,3-dimetil-but-1-inil)-3-[(*trans*-4-metil-ciclohexanocarbonil)-(*trans*-4-[1,2,3]triazol-1-il-ciclohexil)-amino]-tiofeno-2-carboxílico



Etapa I:

A una disolución de éster metílico de ácido 5-(3,3-dimetil-but-1-inil)-3-[(*cis*-4-hidroxi-ciclohexil)-(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-amino]-tiofeno-2-carboxílico (0,92 g, 2,0 mmoles) en 10 ml de CH₂Cl₂ se añade a 0 °C cloruro de metanosulfonilo (0,31 ml, 4,0 mmoles) seguido de trietilamina (0,56 ml, 4,0 mmoles). La mezcla de reacción se agita a temperatura ambiente durante 24 h y se trata con agua. La fase acuosa se extrae 2 veces con CH₂Cl₂. La fase orgánica se seca con sulfato de sodio, se filtra y se concentra a presión reducida dando éster metílico de ácido 5-(3,3-dimetil-but-1-inil)-3-[(*cis*-4-metansulfoniloxi-ciclohexil)-(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-amino]-tiofeno-2-carboxílico.

Etapa II:

A una disolución de éster metílico de ácido 5-(3,3-dimetil-but-1-inil)-3-[(*cis*-4-metansulfoniloxi-ciclohexil)-(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-amino]-tiofeno-2-carboxílico (1,16 g, 2,00 mmoles) en 10 ml de DMF se añade azida de sodio (0,65 g, 10 mmoles). La mezcla de reacción se agita durante 48 h a 50 °C. La mezcla se diluye con acetato de etilo, se lava 3 veces con agua y 1 vez con salmuera. La fase orgánica se seca con sulfato de sodio, se filtra y se concentra bajo presión reducida dando éster metílico de ácido 3-[(trans-4-azido-ciclohexil)-(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-amino]-5-(3,3-dimetil-but-1-inil)-tiofeno-2-carboxílico.

Etapa III:

Una disolución de éster metílico de ácido 3-[(trans-4-azido-ciclohexil)-(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-amino]-5-(3,3-dimetil-but-1-inil)-tiofeno-2-carboxílico (1,0 g, 2,0 mmoles) en trimetilsililacetileno (1,4 ml, 10 mmoles) se trata en microondas a 120 °C durante 2 h. La mezcla se concentra a presión reducida y el residuo se purifica por cromatografía en columna de gel de sílice (5% de acetato de etilo/hexano al 100% de acetato de etilo) proporcionando éster metílico de ácido 5-(3,3-dimetil-but-1-inil)-3-[(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-[trans-4-(4-trimetilsilanil-[1,2,3]triazol-1-il)-ciclohexil]-amino]-tiofeno-2-carboxílico.

Etapa IV:

A una disolución de éster metílico de ácido 5-(3,3-dimetil-but-1-inil)-3-[(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-[trans-4-(4-trimetilsilanil-[1,2,3]triazol-1-il)-ciclohexil]-amino]-tiofeno-2-carboxílico (0,48 g, 0,82 mmoles) en THF (2,0 ml) se añade TBAF 1,0 M en THF (1,23 ml, 1,23 mmoles). La mezcla de reacción se agita durante 24 h y se trata con agua y disolución saturada de cloruro de amonio. La fase acuosa se extrae con acetato de etilo. La fase orgánica se lava con salmuera, se seca con sulfato de sodio, se filtra y se concentra a presión reducida. El residuo se purifica por cromatografía en columna de gel de sílice (50% de acetato de etilo/hexano al 100% de acetato de etilo) dando éster metílico de ácido 5-(3,3-dimetil-but-1-inil)-3-[(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-(trans-4-[1,2,3]triazol-1-il-ciclohexil)-amino]-tiofeno-2-carboxílico.

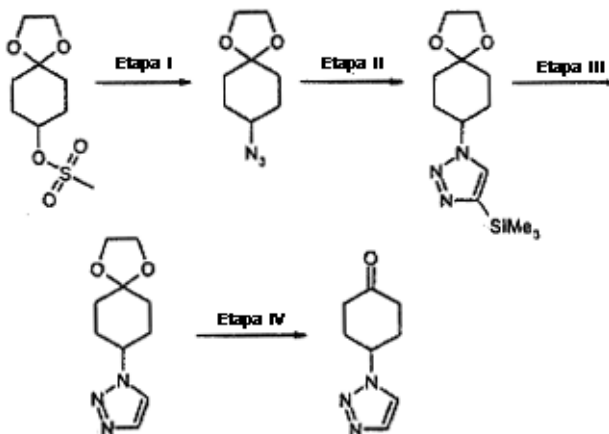
Etapa V:

Se hidroliza éster metílico de ácido 5-(3,3-dimetil-but-1-inil)-3-[(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-(trans-4-[1,2,3]triazol-1-il-ciclohexil)-amino]-tiofeno-2-carboxílico (0,27 g, 0,52 mmoles) con hidróxido de litio como se ha descrito previamente (Ejemplo 1, Etapa VI) dando después de la purificación por HPLC ácido 5-(3,3-dimetil-but-1-

inil)-3-[(*trans*-4-metil-ciclohexanocarbonil)-(trans-4-[1,2,3]triazol-1-il-ciclohexil)-amino]-tiofeno-2-carboxílico.

EM hallada (electropulverización): (M+H): 497,4

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



5 Etapa I:

10 Una mezcla de éster 1,4-dioxa-espiro[4.5]dec-8-ílico de ácido metanosulfónico (2,80 g, 11,9 mmoles) y azida de sodio (3,86 g, 59,3 mmoles) en 50 ml de DMF seca se agita durante 20 h a 100 °C bajo nitrógeno. La mezcla final se enfría a temperatura ambiente diluida con salmuera y se extrae con tres porciones de éter. Las porciones orgánicas se combinan, se secan sobre Na₂SO₄ y se concentran dando 8-azido-1,4-dioxa-espiro[4.5]decano.

Etapa II:

Una mezcla de 8-azido-1,4-dioxa-espiro[4.5]decano (1,00 g, 5,43 mmoles) y 1-(trimetilsilil)propino (3,76 ml, 27,1 mmoles) se somete a microondas a 120 °C durante 2 h. La mezcla se concentra a vacío para eliminar el exceso de 1-(trimetilsilil)propino y se obtiene 1-(1,4-dioxa-espiro[4.5]dec-8-il)-4-trimetilsilanil-1H-[1,2,3]triazol en bruto.

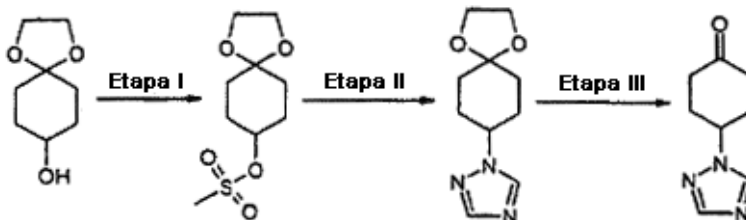
15 Etapa III:

20 Una disolución 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 seco se trata mediante una disolución 1 M de fluoruro de tetrabutilamonio en THF (9,0 ml, 9,0 mmoles). La mezcla resultante se agita durante 48 h a temperatura ambiente bajo nitrógeno. Se diluye con EtOAc, se lava con cloruro de amonio acuoso saturado, agua y salmuera, se seca sobre Na₂SO₄ y se concentra dando 1-(1,4-dioxa-espiro[4.5]dec-8-il)-1H-[1,2,3]triazol.

Etapa IV:

Se somete 1-(1,4-dioxa-espiro[4.5]dec-8-il)-1H-[1,2,3]triazol (1,06 g, 5,06 mmoles) al mismo procedimiento que para el producto intermedio 1 Etapa III proporcionando 4-[1,2,3]triazol-1-il-ciclohexanona como un sólido blanco.

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



25 Etapa I:

Etapa I:

Se prepara éster 1,4-dioxa-espiro[4.5]dec-8-ílico de ácido metanosulfónico según: Cheng, Chen Yu; Wu, Shou Chien; Hsin, Ling Wei; Tam, S. William. Coll. Med., Natl. Taiwan Univ., Taipei, Taiwan. Journal of Medicinal Chemistry (1992), 35(12), 2243-7.

Etapa II:

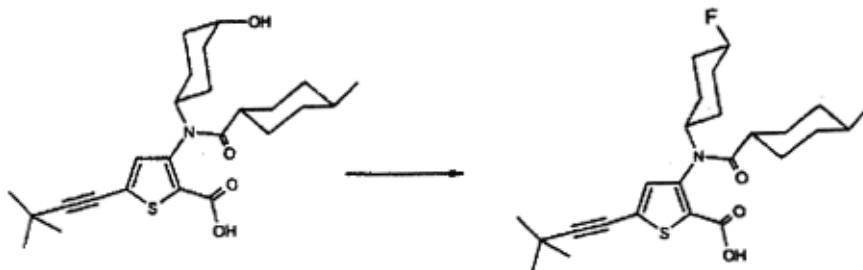
- 5 Una disolución de éster 1,4-dioxa-espiro[4.5]dec-8-ílico de ácido metanosulfónico (567 mg, 2,40 mmoles) y 1,2,4-triazol (232 mg, 3,36 mmoles) en DMF seca (5,00 ml) se trata con hidruro de sodio al 60% (125 mg, 3,12 mmoles) a temperatura ambiente bajo nitrógeno. La mezcla resultante se agita a 65 °C durante 72 h. Se vierte en agua con hielo (75 ml), se extrae con 3 porciones de 75 ml de EtOAc. Las porciones orgánicas se combinan, se secan sobre Na₂SO₄ anhidro y se concentran. El sólido se purifica por cromatografía en columna de gel de sílice usando un gradiente de 100% de EtOAc al 5% de MeOH:EtOAc como eluyente para proveer el compuesto final 1-(1,4-dioxa-espiro[4.5]dec-8-il)-1H-[1,2,4]triazol como un sólido blanco.

Etapa III:

- 10 Se disuelve 1-(1,4-dioxa-espiro[4.5]dec-8-il)-1H-[1,2,4]triazol (379 mg, 1,81 mmoles) en una mezcla 1:1 de THF y disolución acuosa de HCl 3 N (9 ml). La mezcla resultante se agita a 40 °C durante 5 h. La mayoría del THF se elimina a vacío, la mezcla restante se neutraliza entonces usando una disolución acuosa de NaOH 3 N hasta que se alcanza un pH básico. Se extrae con 3 porciones de 10 ml de diclorometano. Las porciones orgánicas se combinan, se secan sobre Na₂SO₄ anhidro y se concentran proporcionando 4-[1,2,4]triazol-1-il-ciclohexanona como un sólido ceroso blanco.

15 **Ejemplo 7:**

Preparación de ácido 5-(3,3-dimetil-but-1-inil)-3-[(trans-4-fluoro-ciclohexil)-(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-amino]-tiofeno-2-carboxílico

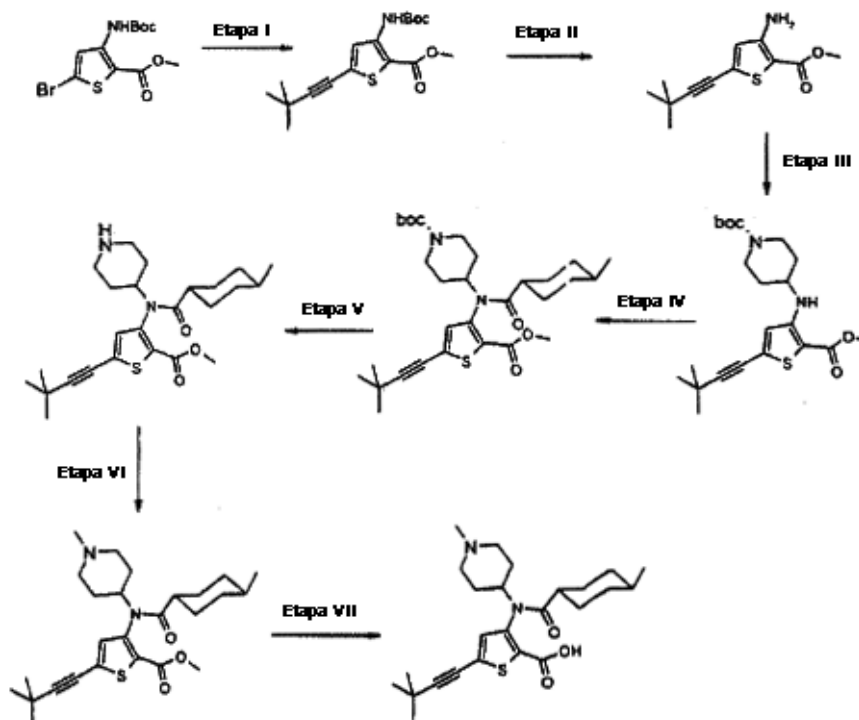


- 20 A una suspensión de ácido 5-(3,3-dimetil-but-1-inil)-3-[(cis-4-hidroxi-ciclohexil)-(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-amino]-tiofeno-2-carboxílico (102 mg, 0,23 mmoles) en CH₂Cl₂ seco (2 ml) se añade DAST (trifluoruro de dietilaminoazufre) (90 µl, 0,69 mmoles), y la mezcla se agita durante 4 h a temperatura ambiente. Entonces se diluye con CH₂Cl₂, se añade agua a la mezcla y se agita vigorosamente durante 20 min. La fracción orgánica se separa, se seca sobre Na₂SO₄, se concentra y el residuo se purifica por HPLC preparativa dando ácido 5-(3,3-dimetil-but-1-inil)-3-[(trans-4-fluoro-ciclohexil)-(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-amino]-tiofeno-2-carboxílico.

- 25 EM hallada (electropulverización): [M+H]: 448,30

Ejemplo 8:

Preparación de clorhidrato de ácido 5-(3,3-dimetil-but-1-inil)-3-[(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-(1-metil-piperidin-4-il)-amino]-tiofeno-2-carboxílico:



Etapa I:

5 A una disolución de éster metílico de ácido 3-(*tert*-butoxicarbonil)amino-5-bromo-tiofeno-2-carboxílico (4,566 g, 13,58 mmoles) en DMF seca (40 ml) se añaden yoduro de cobre (I) (52 mg, 0,27 mmoles), Pd₂dba₃ (622 mg, 0,68 mmoles) y trietilamina (9,46 ml, 67,9 mmoles), y la mezcla se desoxigena burbujando nitrógeno a través de la disolución durante 10 min. Entonces se añaden *tert*-butilacetileno (6,62 ml, 54,32 mmoles) y BINAP (676 mg, 1,09 mmoles) a la mezcla, y se calienta a 60 °C durante la noche bajo nitrógeno. La mezcla se diluye con CH₂Cl₂ y se filtra a través de Celite lavando con CH₂Cl₂. El filtrado se lava con salmuera, se separa la fracción orgánica, se seca sobre Na₂SO₄, se concentra y el residuo se purifica por cromatografía en columna sobre gel de sílice eluyendo con gradiente de EtOAc en hexano dando éster metílico de ácido 5-(3,3-dimetil-but-1-inil)-3-(*tert*-butoxicarbonil)amino-tiofeno-2-carboxílico.

RMN ¹H (CDCl₃) δ, ppm: 1,27 (s, 9H), 1,51 (s, 9H), 3,84 (s, 3H), 7,87 (s, 1H), 9,24 (s a, 1H)

EM hallada (electropulverización): [M+H] 338,17

Etapa II:

15 A una disolución de éster metílico de ácido 5-(3,3-dimetil-but-1-inil)-3-(*tert*-butoxicarbonil)amino-tiofeno-2-carboxílico (4,344 g, 9,58 mmoles) en CH₂Cl₂ (30 ml) se añade ácido trifluoroacético (30 ml), y la mezcla se agita a temperatura ambiente durante la noche. Entonces se evapora a sequedad, el residuo obtenido se redissuelve en CH₂Cl₂ y se lava con NaHCO₃ acuoso y salmuera. La fracción orgánica se separa, se seca sobre Na₂SO₄ y se concentra dando 3,135 g de éster metílico de ácido 5-(3,3-dimetil-but-1-inil)-3-amino-tiofeno-2-carboxílico en bruto.

20 RMN ¹H (CDCl₃) δ, ppm: 1,28 (s, 9H), 3,80 (s, 3H), 5,36 (s a, 2H), 6,49 (s, 1H)

EM hallada (electropulverización): [M+H] 238,11

Etapa III:

25 A una disolución de éster metílico de ácido 5-(3,3-dimetil-but-1-inil)-3-amino-tiofeno-2-carboxílico (1,512 g, 5,97 mmoles) y *N-tert*-butoxicarbonil-piperidin-4-ona (1,189 g, 5,97 mmoles) en 2 ml de THF seco se añade dicloruro de dibutil-litio (181 mg, 0,60 mmoles), y la mezcla se agita durante 10 min a temperatura ambiente bajo nitrógeno. Entonces se añade fenilsilano (810 μl, 6,57 mmoles) y la mezcla se agita durante 24 h a temperatura ambiente. Se añaden 595 mg adicionales de *N-tert*-butoxicarbonil-piperidin-4-ona, 90 mg de dicloruro de dibutil-litio y 405 μl de fenilsilano, y la mezcla se agita durante otras 24 h. Entonces, la mezcla se diluye con CH₂Cl₂, se lava con salmuera, la fracción orgánica se separa, se seca sobre Na₂SO₄ y se concentra dando 5,142 g de éster metílico de ácido 5-(3,3-dimetil-but-1-inil)-3-(*N-tert*-butoxicarbonil-piperidin-4-il)amino-tiofeno-2-carboxílico en bruto.

Etapa IV:

Se añaden cloruro de ácido *trans*-4-metilciclohexilcarboxílico (23,88 mmoles) y piridina (2,89 ml, 35,82 mmoles) a una disolución de éster metílico de ácido 5-(3,3-dimetil-but-1-inil)-3-(*N-tert*-butoxicarbonil-piperidin-4-

5 il)amino-tiofeno-2-carboxílico de la Etapa III (5,142 g) en tolueno seco (50 ml). La mezcla se somete a reflujo durante 24 h, luego se lleva a temperatura ambiente, y se añade cantidad adicional de piridina (1,0 ml) y MeOH (5 ml). Entonces la mezcla se diluye con CH₂Cl₂, se lava con salmuera, la fracción orgánica se separa, se seca sobre Na₂SO₄ y se concentra dando 5,198 g de éster metílico de ácido 5-(3,3-dimetil-but-1-inil)-3-[(*trans*-4-metil-ciclohexanocarbonil)-(N-*terc*-butoxicarbonil-piperidin-4-il)amino]-tiofeno-2-carboxílico en bruto que contiene cantidades variables de éster metílico de ácido 5-(3,3-dimetil-but-1-inil)-3-[(*trans*-4-metil-ciclohexanocarbonil)-(piperidin-4-il)-amino]-tiofeno-2-carboxílico.

Etapa V:

10 El producto de la Etapa IV (5,198 g) se disuelve en 30 ml de CH₂Cl₂ y se trata con 20 ml de ácido trifluoroacético. La mezcla se agita a temperatura ambiente durante la noche, luego se evapora a sequedad, el residuo obtenido se redisuelve en CH₂Cl₂ y se lava con NaHCO₃ acuoso y salmuera. La fracción orgánica se separa, se seca sobre Na₂SO₄ y se concentra dando 5,340 g de éster metílico de ácido 5-(3,3-dimetil-but-1-inil)-3-[(*trans*-4-metil-ciclohexanocarbonil)-(piperidin-4-il)amino]-tiofeno-2-carboxílico en bruto.

Etapa VI:

15 A una disolución del producto de la Etapa V (5,340 g) en 1,2-dicloroetano (60 ml) se añade formaldehído (1,94 ml de disolución acuosa al 37%, 23,88 mmoles), seguido de triacetoxiborohidruro de sodio (2,403 g, 11,34 mmoles) en porciones durante 20 min. La mezcla se agita a temperatura ambiente durante la noche, luego se añade agua a la mezcla y se extrae con CH₂Cl₂. La fracción orgánica se lava con NaHCO₃ acuoso y salmuera, se seca sobre Na₂SO₄, se concentra y se purifica por cromatografía en columna sobre gel de sílice eluyendo con 0-10% de MeOH en CH₂Cl₂ dando éster metílico de ácido 5-(3,3-dimetil-but-1-inil)-3-[(*trans*-4-metil-ciclohexanocarbonil)-(1-metil-piperidin-4-il)-amino]-tiofeno-2-carboxílico.

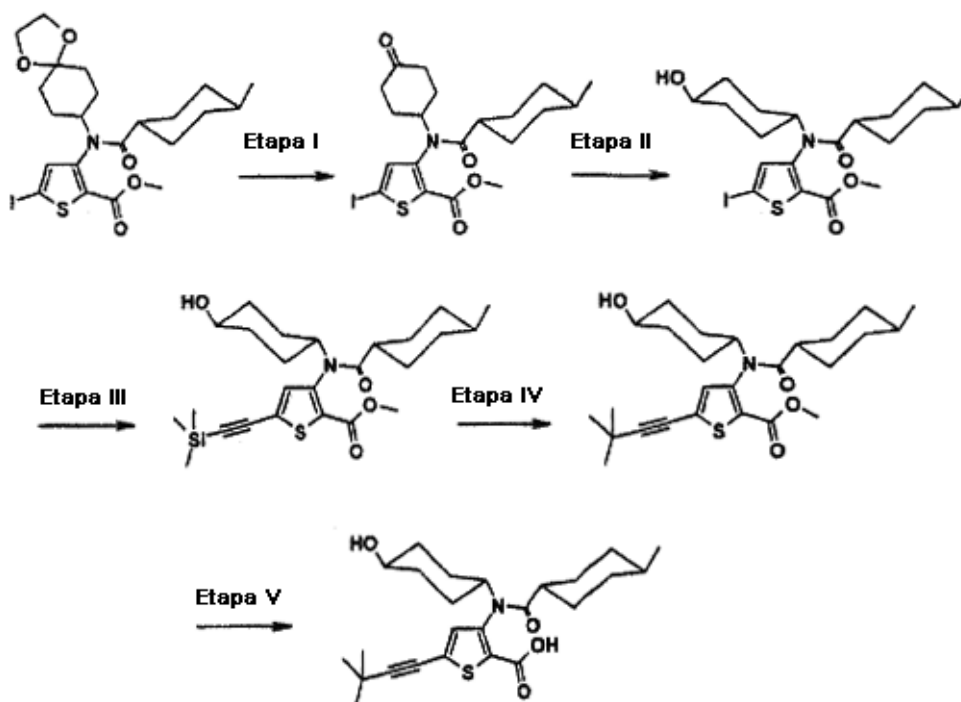
Etapa VII:

25 El producto de la Etapa VI (281 mg, 0,61 mmoles) se hidroliza con hidróxido de litio como se ha descrito previamente (Ejemplo 1, Etapa VI) dando después de la purificación por HPLC clorhidrato de ácido 5-(3,3-dimetil-but-1-inil)-3-[(*trans*-4-metil-ciclohexanocarbonil)-(1-metil-piperidin-4-il)-amino]-tiofeno-2-carboxílico.

EM hallada (electropulverización): [M+H]: 445,29

Ejemplo 9:

Ácido 5-(3,3-dimetil-but-1-inil)-3-[(*trans*-4-hidroxi-ciclohexil)-(trans-4-metil-ciclohexano-carbonil)-amino]-tiofeno-2-carboxílico



30

Etapa I

Se disuelve éster metílico de ácido 3-[(1,4-dioxa-espiro[4.5]dec-8-il)-(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-amino]-5-yodo-tiofeno-2-carboxílico (del Ejemplo 3) en tetrahydrofurano y se trata con disolución de HCl 3 N. La

reacción se agita a 40 °C durante 3 h. La mezcla de reacción se evapora a presión reducida. La mezcla se disuelve en EtOAc y se lava con disolución de NaHCO₃ sat. ac. La fase orgánica se separa, se seca sobre Na₂SO₄, se filtra y se concentra para obtener el compuesto del título.

Etapa II

- 5 A una disolución fría (0 °C) de éster metílico de ácido 5-yodo-3-[(*trans*-4-metil-ciclohexanocarbonil)-(4-oxo-ciclohexil)-amino]-tiofeno-2-carboxílico en MeOH bajo una atmósfera de N₂ se añade NaBH₄ en porciones y se agita. Después de completarse la reacción se añade 2% de HCl y se agita durante 15 min. La mezcla de reacción se concentra a vacío a sequedad. El residuo se reparte entre agua y EtOAc. La fase orgánica se separa, se seca sobre MgSO₄ y se concentra a sequedad. El residuo se purifica por cromatografía en columna de gel de sílice usando EtOAc:hexano como eluyente para obtener el compuesto del título.

Etapa III

- 15 A una disolución de éster metílico de ácido 3-[(*trans*-4-hidroxi-ciclohexil)-(*trans*-4-metil-ciclohexanocarbonil)-amino]-5-yodo-tiofeno-2-carboxílico y etinil-trimetil-silano en DMF se añaden trietilamina y tris(dibencilidenacetona)dipaladio (0) y la mezcla de reacción se agita a 60 °C durante 16 h bajo una atmósfera de N₂. Se eliminan la DMF y la trietilamina a presión reducida y el residuo se reparte entre agua y acetato de etilo. La fase orgánica se separa, se seca (Na₂SO₄), se concentra y el residuo se purifica por cromatografía en columna usando acetato de etilo y hexano (1:2) como eluyente para obtener el compuesto del título.

Etapa IV

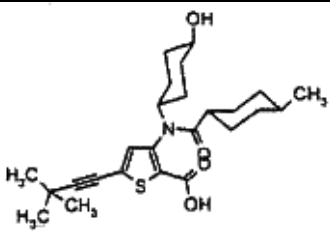
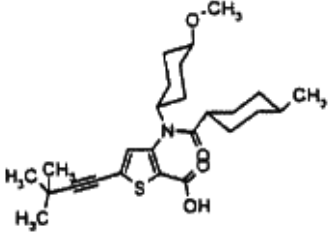
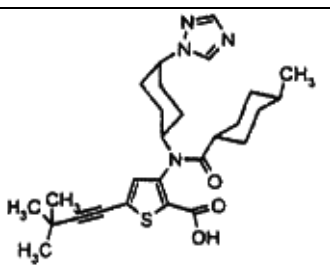
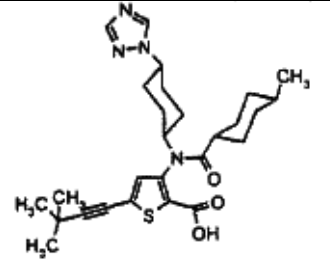
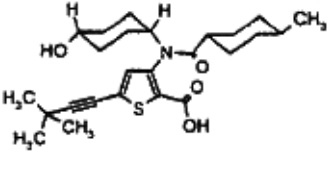
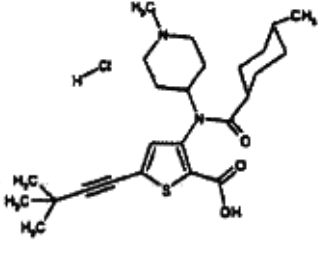
- 20 Se toman éster metílico de ácido 3-[(*trans*-4-hidroxi-ciclohexil)-(*trans*-4-metil-ciclohexanocarbonil)-amino]-5-trimetil-silaniletinil-tiofeno-2-carboxílico y 2-cloro-2-metilpropano en diclorometano y se añade cloruro de aluminio recientemente sublimado a -78 °C. La mezcla de reacción se agita a la misma temperatura durante 6 h. La mezcla de reacción se vierte en agua, se diluye con diclorometano. La fase orgánica se separa, se seca (Na₂SO₄) y se concentra. El residuo se purifica por cromatografía en columna usando acetato de etilo y hexano para obtener el compuesto del título. Ref.: J. Chem. Soc., Chem. Commun., 1982, 959-960.

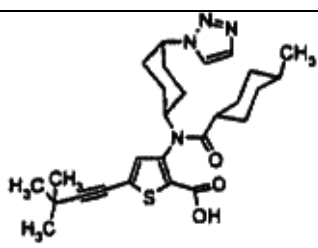
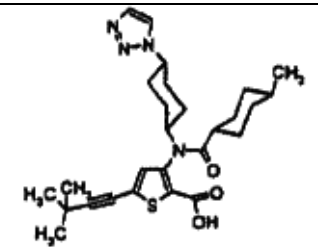
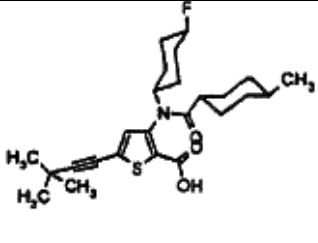
- 25 Etapa V

- 30 Se disuelve éster metílico de ácido 5-(3,3-dimetil-but-1-inil)-3-[(*trans*-4-hidroxi-ciclohexil)-(*trans*-4-metil-ciclohexanocarbonil)-amino]-tiofeno-2-carboxílico en una mezcla 3:2:1 de THF:metanol:H₂O y se trata con una disolución 1 N de LiOH·H₂O. Después de 2 h de agitación a 60 °C, la mezcla de reacción se concentra a presión reducida sobre un evaporador rotatorio. La mezcla se reparte entre acetato de etilo y agua. La fase de agua se acidifica usando HCl 0,1 N. La fase de EtOH se separa y se seca sobre Na₂SO₄. El disolvente se elimina y el residuo se purifica por cromatografía en columna usando metanol y diclorometano (1:9) como eluyente para obtener el compuesto del título.

Tabla 1

Lista de compuestos según la presente invención

1	Estructura	Nombre químico	Masa*
1		ACIDO 5-(3,3-DIMETIL-BUT-1-YNIL)-3-[(TRANS-4-HIDROXI-CICLOHEXIL)-(TRANS-4-METIL-CICLOHEXANOCARBONIL)-AMINO]-TIOFENO-2-CARBOXÍLICO	(M-H): 444,3
2		ACIDO 5-(3,3-DIMETIL-BUT-1-YNIL)-3-[(TRANS-4-METOXI-CICLOHEXIL)-(TRANS-4-METIL-CICLOHEXANOCARBONIL)-AMINO]-TIOFENO-2-CARBOXÍLICO	(M-H): 458,3
3		ACIDO 5-(3,3-DIMETIL-BUT-1-YNIL)-3-[(TRANS-4-METIL-CICLOHEXANOCARBONIL)-(CIS-4-[1,2,4]TRIAZOL-1-IL-CICLOHEXIL)-AMINO]-TIOFENO-2-CARBOXÍLICO	(M+H): 497,4
4		ACIDO 5-(3,3-DIMETIL-BUT-1-YNIL)-3-[(TRANS-4-METIL-CICLOHEXANOCARBONIL)-(TRANS-4-[1,2,4]TRIAZOL-1-IL-CICLOHEXIL)-AMINO]-TIOFENO-2-CARBOXÍLICO	(M+H): 497,4
5		ACIDO 5-(3,3-DIMETIL-BUT-1-YNIL)-3-[(CIS-4-HIDROXICICLOHEXIL)-(TRANS-4-METIL-CICLOHEXANOCARBONIL)-AMINO]-TIOFENO-2-CARBOXÍLICO	(M-H): 444,52
6		ACIDO 5-(3,3-DIMETIL-BUT-1-YNIL)-3-[(TRANS-4-METIL-CICLOHEXANOCARBONIL)-(1-METIL-PIPERIDIN-4-IL)-AMINO]-TIOFENO-2-CARBOXÍLICO; CLORHIDRATO	(M+H): 445,29

	Estructura	Nombre químico	Masa*
7		ACIDO 5-(3,3-DIMETIL-BUT-1-INIL)-3-[(TRANS-4-METIL-CICLOHEXANOCARBONIL)-(4-CIS-[1,2,3]TRIAZOL-1-IL-CICLOHEXIL)-AMINO]-TIOFENO-2-CARBOXILICO	(M+H): 497,4
8		ACIDO 5-(3,3-DIMETIL-BUT-1-INIL)-3-[(TRANS-4-METIL-CICLOHEXANOCARBONIL)-(TRANS-4-[1,2,3]TRIAZOL-1-IL-CICLOHEXIL)-AMINO]-TIOFENO-2-CARBOXILICO	(M+H): 497,4
9		ACIDO 5-(3,3-DIMETIL-BUT-1-INIL)-3-[(TRANS-4-FLUORO-CICLOHEXIL)-(TRANS-4-METIL-CICLOHEXANOCARBONIL)-AMINO]-TIOFENO-2-CARBOXILICO	(M+H): 448,30

* los análisis de espectros de masas se registran usando espectrometría de masas por electropulverización.

Ejemplo 10: Evaluación de compuestos en el ensayo de ARN polimerasa dependiente de ARN del VHC

Se citan las siguientes referencias

- 5
- Behrens, S., Tomei, L., De Francesco, R. (1996) EMBO 15, 12-22
 - Harlow, E y Lane, D. (1988) *Antibodies: A Laboratory Manual*. Cold Spring Harbor Laboratory. Cold Spring Harbord. NY.
 - Lohmann, V., Körner, F., Herian, U. y Bartenschlager, R. (1997) *J. Virol.* 71, 8416-8428
 - Tomei, L., Failla, C., Santolini, E., De Francesco, R. y La Monica, N. (1993) *J Virol* 67, 4017-4026

10 Los compuestos se evalúan usando un ensayo de polimerasa *in vitro* que contiene ARN polimerasa dependiente de ARN del VHC recombinante purificado (proteína NS5B). NS5B del VHC se expresa en células de insecto usando un baculovirus recombinante como vector. Los procedimientos experimentales usados para la clonación, expresión y purificación de la proteína NS5B del VHC se describen a continuación. Siguen detalles de los ensayos de ARN polimerasa dependientes de ARN para probar los compuestos.

15 Expresión de la proteína NS5B del VHC en células de insecto:

El ADNc que codifica la proteína NS5B entera 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 molde (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 se clonó en el plásmido de expresión bacteriana pET-21 b (Novagen) entre los sitios de restricción *NheI* y *XhoI*, para generar el plásmido pET/NS5B. Este plásmido se usó después como molde para amplificar por PCR la región codificante de NS5B, usando los cebadores NS5B-H9 (5'-ATACATATGGCTAGCATGTCAATGTCCTACACATGG-3') y NS5B-R4 (5'-GGATCCGGATCCCCTTCATCGGTTGGGGAG-3'). NS5B-H9 se extiende una región de 15 nucleótidos en el plásmido pET-21b, seguido del codón de iniciación de la traducción (ATG) y 8 nucleótidos correspondientes al extremo 5' de la región codificante de NS5B (nt. 7590-7607 en la secuencia de VHC con el número de acceso M58335). NS5B-R4 contiene dos sitios *BamHI* (subrayados) seguido de 18 nucleótidos correspondientes a la región alrededor del codón de terminación en el genoma de VHC (nt. 9365-9347). La secuencia amplificada, de 1,8 kb, se digirió con *NheI* y *BamHI* y se ligó a un plásmido pBlueBaclI previamente digerido (Invitrogen). El plásmido recombinante resultante se designó pBac/NS5B. Se transfectoron células Sf9 con 3 µg de pBac/NS5B, junto con 1 µg de ADN de baculovirus linealizado (Invitrogen), como se describe en el protocolo del fabricante. Tras dos rondas

de purificación en placa se aisló un baculovirus recombinante de NS5B, BacNS5B. La presencia de la proteína NS5B recombinante se determinó por análisis de transferencia Western (Harlow y Lane, 1988) de células Sf9 infectadas con BacNS5B usando un antisuero policlonal de conejo (anti-NS5B) producido contra una versión marcada con 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 centrífuga de un litro a una densidad de células de $1,2 \times 10^6$ células/ml y una multiplicidad de infección de 5.

Preparación de una proteína NS5B recombinante soluble:

Células Sf9 se infectaron como se ha descrito anteriormente. Sesenta horas después de la infección, las células se recogieron, luego se lavaron dos veces con solución salina tamponada con fosfato (PBS). Las proteínas totales se solubilizaron como se describe en Lohmann y col. (1997) con algunas modificaciones. En resumen, las proteínas se extrajeron en tres Etapas, E1, E2, E3, usando tampones de lisis (TL) I, TLII y TLIII (Lohmann y col., 1997). La composición de TLII se modificó para contener 0,1% de Triton X-100 y NaCl 150 mM para reducir la cantidad de proteína NS5B solubilizada en esta etapa. Además, se evitó la sonicación de extractos celulares mediante el protocolo para preservar la integridad de la estructura de proteína.

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

Proteína NS5B soluble en la fracción S3 se diluyó para reducir la concentración de NaCl a 300 mM, luego se incubó por lotes con perlas de DEAE-Sepharose (Amersham-Pharmacia) durante 2 h a 4 °C, como se ha descrito por Behrens y col. (1996). El material sin unir se eliminó por centrifugación durante 15 min a 4 °C, a 25.000 rpm usando un rotor SW41 (Beckman). El sobrenadante se diluyó adicionalmente para reducir la concentración de NaCl a 200 mM y posteriormente se cargó, con una velocidad de flujo de 1 ml/min, sobre una columna de heparina HiTrap® de 5 ml (Amersham-Pharmacia) conectada a un sistema de FPLC® (Amersham-Pharmacia). Las proteínas unidas se eluyeron en fracciones de 1 ml usando un gradiente de NaCl continuo de 0,2 a 1 M durante un volumen de 25 ml. Las fracciones que contenían NS5B se identificaron por electroforesis en gel de dodecilsulfato de sodio-poliacrilamida (SDS-PAGE), seguido de transferencia Western usando el antisuero anti-NS5B a una dilución de 1:2000. Las fracciones positivas se reunieron y el tampón de elución se intercambió contra NaPO₄ 50 mM a pH 7,0, 20% de glicerol, 0,5% de Triton X-100 y DTT 10 mM, usando una columna PD-10 (Amersham-Pharmacia). La muestra se cargó entonces sobre una columna HiTrap® SP de 1 ml (Amersham-Pharmacia), con una velocidad de flujo de 0,1 ml/min. Las proteínas unidas se eluyeron usando un gradiente continuo de NaCl 0 a 1 M durante un volumen de 15 ml. Las fracciones eluidas se analizaron por SDS-PAGE y transferencia Western. Alternativamente, las proteínas se visualizaron, siguiendo SDS-PAGE, por tinción con plata usando el kit Silver Stain Plus (BioRad) como se ha descrito por el fabricante. Se probaron fracciones positivas para actividad de RdRp (véase más adelante) y las más activas se reunieron y se guardaron como una disolución al 40% de glicerol a -70 °C.

Ensayo de proximidad de centelleo RdRp Flashplate de VHC *in vitro* (ENSAYO STREP-FLASH) usado para evaluar análogos:

Este ensayo consiste en medir la incorporación de UTP radiomarcado con [³H] en un molde-cebador poli rA/oligo dT biotinilado, capturado sobre la superficie de Flashplates de microtitulación incorporadas con centelleante recubierto con estreptavidina (NEN Life Science Products Inc, MA, EE.UU., SMP 103A). En resumen, una disolución de 400 ng/μl de polyA (Amersham Pharmacia Biotech) se mezcló volumen a volumen con 5' biotina-oligo dT₁₅ a 20 pmol/μl. El molde y los cebadores se desnaturalizaron a 95 °C durante 5 minutos, luego se incubaron a 37 °C durante 10 minutos. El molde-cebadores hibridados se diluyeron posteriormente en un tampón que contenía Tris-HCl y se dejó que se unieran a Flashplates recubiertas con estreptavidina durante la noche. El material sin unir se desechó; se añadieron compuestos en una disolución de 10 μl seguido de 10 μl de una disolución que contenía MgCl₂ 50 mM, Tris-HCl 100 mM a pH 7,5, NaCl 250 mM y DTT 5 mM. La reacción enzimática se inició tras la adición de una disolución de 30 μl que contenía la enzima y sustrato para obtener las siguientes concentraciones: UTP 25 μM, 1 μCi de [³H]-UTP y NS5B de VHC recombinante 100 nM. Las reacciones de RdRp se dejaron avanzar durante 2 h a temperatura ambiente después de lo cual los pocillos se lavaron tres veces con 250 μl de disolución de NaCl 0,15 M, se secaron al aire a 37 °C y se contaron usando un contador de centelleo líquido (Wallac Microbeta Trilux, Perkin-Elmer, MA, EE.UU.).

Ejemplo 11

Cultivo celular para ensayo de replicación de ARN del VHC con indicador de luciferasa basado en células

Los compuestos de la presente invención son inhibidores de la polimerasa del VHC. Se ha encontrado sorprendentemente que los compuestos según la presente invención y que tienen un patrón de sustitución específico presentan un índice terapéutico mejorado con respecto a otros análogos de tiofeno.

Líneas celulares de replicón Huh-7, 5.2 y ET que se derivan de la línea celular de hepatocarcinoma Huh-7 se mantuvieron en cultivo como generalmente se describe 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 de replicón altamente adaptado a cultivo celular I₃₈₉luc-ubi-neo/NS3-3'/5.1 que lleva, además del gen neomicina, una copia integrada para el 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 medición de replicación de ARN del VHC y la traducción midiendo actividad de luciferasa. Se ha mostrado previamente que la actividad de luciferasa sigue estrechamente el nivel de ARN de replicón en estas células (Krieger, N; Lohmann, V; Bartenschlager, R. Enhancement of hepatitis C virus RNA replication by cell culture-adaptive mutation. *J. Virol.* 2001, 75, 4614-4624). La línea celular Huh-7, ET tiene las mismas características que aquellas mencionadas para la línea celular Huh-7, 5.2, excepto que las células ET son más robustas y contienen una mutación adaptativa en el gen NS4B del VHC en lugar de NS5A. Ambas líneas celulares se mantuvieron en cultivos a un nivel sub-confluyente (<85%) ya que el nivel de

ARN de replicón es el mayor en células activamente proliferantes. El medio de cultivo usado para el pase de células consiste en DMEM (Gibco BRL Laboratories, Mississauga, ON, Canadá) complementado con 10% de suero bovino fetal con 1% de penicilina/estreptomina, 1% de glutamina, 1% de piruvato de sodio, 1% de aminoácidos no esenciales y 350 ug/ml de concentración final de G418. Las células se incubaron a 37 °C en una atmósfera de 5% de CO₂ y se sometieron a pases dos veces a la semana para mantener la sub-confluencia.

Aproximadamente 3000 células Huh-7, 5.2 o ET viables (100 µl) se sembraron en placa por pocillo en una placa de microtitulación opaca blanca de 96 pocillos. El medio de cultivo celular usado para el ensayo fue el mismo que el que se ha descrito anteriormente, excepto que no contiene G418 ni rojo fenol. Después de un periodo de incubación de 3-4 horas a 37 °C en una estufa de incubación con 5% de CO₂, los compuestos (100 µl) se añadieron a diversas concentraciones. Entonces, las células se incubaron adicionalmente durante 4 días a 37 °C en una estufa de incubación con 5% de CO₂. Después, los medios de cultivo se eliminaron y las células se lisaron mediante la adición de 95 µl del tampón luciferasa (sustrato luciferina en detergente tamponado). Los lisados celulares se incubaron a temperatura ambiente y se protegieron de la luz directa durante al menos 10 minutos. Las placas se leyeron para recuentos de luciferasa usando un luminómetro (Wallac MicroBeta Trilux, Perkin Elmer™, MA, EE.UU.).

Las concentraciones inhibitoras al 50% (CI₅₀) para el efecto inhibitor se determinaron a partir de las curvas de dosis-respuesta usando once concentraciones por compuesto por duplicado. Las curvas se ajustaron a los puntos de datos usando análisis de regresión no lineal, y las CI₅₀ se interpolaron de la curva resultante usando el software GraphPad Prism, versión 2.0 (GraphPad Software Inc., San Diego, CA, EE.UU.).

Ejemplo 12: Evaluación de compuestos en ensayo enzimático de la cepa BK de genotipo 1b de NS5B del VHC truncada del extremo de 21 aminoácidos

Se citan las siguientes referencias:

- o Tomei, L., Failla, C., Santolini, E., De Francesco, R. y La Monica, N. (1993) J Virol 67, 4017-4026
- o Lesburg, C. A. y col. Crystal structure of the RNA-dependent RNA polymerase from hepatitis C virus reveals a fully encircled active site. Nat. Struct. Biol. 6, 937-943 (1999).
- o Ferrari, E. y col. Characterization of soluble hepatitis C virus RNA-dependent RNA polymerase expressed in Escherichia coli. J. Virol. 73, 1649-1654 (1999).

Los compuestos se evalúan usando un ensayo de polimerasa *in vitro* que contiene ARN polimerasa dependiente de ARN del VHC recombinante purificado (proteína NS5B) expresada en células bacterianas. Los procedimientos experimentales usados para la clonación, expresión y purificación de la proteína NS5B del VHC se describen a continuación. Siguen detalles de los ensayos de ARN polimerasa dependientes de ARN para probar los compuestos.

Expresión de la proteína NS5B del VHC en células de insecto:

Expresión y purificación de proteína NS5B del VHC

Una forma soluble recombinante que representa una enzima de la cepa BK de genotipo 1b de NS5B del VHC truncada del extremo C de 21 aminoácidos (Tomei y col., 1993) que contiene una marca de hexahistidina del extremo N se clonó y se expresó en BL21 de *Escherichia coli* (DE3). La enzima truncada se purificó como se describe en Lesburg y col. (1999) y Ferrari y col. (1999) con modificaciones menores. Brevemente, lisados bacterianos solubles se cargaron sobre una columna de afinidad quelante de níquel HiTrap (GE Healthcare, Baie d'Urfe, QC, Canadá). La enzima unida se eluyó usando un gradiente de imidazol. Entonces se eliminó el imidazol del tampón de las fracciones activas reunidas usando columnas de desalación PD-10 (GE Healthcare, Baie d'Urfe, QC, Canadá). Se logró más purificación ejecutando la preparación de proteínas a través de una columna HiTrap SP Sepharose de intercambio catiónico (GE Healthcare, Baie d'Urfe, QC, Canadá) usando un gradiente de NaCl para elución. Después, el tampón se cambió a Tris 10 mM a pH 7,5, 10% de glicerol, DTT 5 mM, NaCl 600 mM usando una columna PD-10. Las fracciones positivas se probaron para actividad de polimerasa dependiente de ARN y las fracciones más activas se reunieron y se almacenaron a -70 °C.

Ensayo de NS5B *in vitro*

La medición del efecto inhibitor de compuestos sobre la actividad de polimerización de NS5B del VHC se realizó evaluando la cantidad de UTP radiomarcado incorporado por la enzima en un ARN recientemente sintetizado usando un molde/cebador de ARN homopolimérico. Brevemente, un cebador de oligonucleótido de ADN biotinilado en 5' 15-mero (oligo dT) hibridado con un molde de poli rA ARN homopolimérico se captura sobre la superficie de perla recubierta con estreptavidina (GE Healthcare, Baie d'Urfe, QC, Canadá). Esencialmente, los compuestos se probaron a una variedad de concentraciones (0,005 a 200 µM) en un volumen final de 50 µl de mezcla de reacción constituida por Tris-HCl 20 mM a pH 7,5, MgCl₂ 5 mM, DTT 1 mM, NaCl 50 mM, enzima NS5B purificada 50 nM, 250 ng de poli rA/oligo dT15 (Invitrogen, Burlington, Ontario, Canadá), 15 µM de UTP no radiactivo y 1 µCi de [³H]UTP (3000 Ci/mmoles; GE Healthcare, Baie d'Urfe, QC, Canadá). La actividad de polimerización de la enzima NS5B de VHC se cuantifica midiendo la incorporación del sustrato [³H]UTP radiomarcado sobre el extremo de 3' del cebador en crecimiento y la detección se logra contando la señal usando un contador de centelleo líquido (Wallac MicroBeta Trilux, Perkin Elmer™, MA, EE.UU.).

Ensayo de incorporación de [³H]timidina

Un total de 1.000 – 2.000 células/pocillo se siembran en placas de cultivo de 96 pocillos en un volumen de 150 µl de DMEM (Life Technologies, Inc., Gaithersburg, Md.) complementado con 10% de SBF (HyClone Laboratories, Inc., Logan, Utah) y glutamina 2 mM (Life Technologies, Inc.). Se añaden penicilina y estreptomina

5 (Life Technologies, Inc.) a 500 U/ml y 50 µg/ml de concentraciones finales, respectivamente. Después de una incubación de 18 h a 37 °C en una atmósfera de 5% de CO₂, el medio se elimina y se sustituye con compuestos diluidos en medio de cultivo. Se prueban seis diluciones dobles seriadas de fármacos por triplicado. Después de otras 72 h de incubación se añade un volumen de 50 µl de 10 µCi/ml de disolución de [³H]metiltimidina (Amersham Life Science, Inc., Arlington Heights, Ill.; 2 Ci/mmoles) en medio de cultivo y las placas se incuban durante otras 18 h a 37 °C. Entonces, las células se lavan con solución salina tamponada con fosfato (PBS), se tripsinan durante 2 min y se recogen sobre un filtro de fibra de vidrio usando un recolector de células Tomtec (Tomtec, Orange, Conn.). Los filtros se secan a 37 °C durante 1 h y se disponen en una bolsa con 4,5 ml de mezcla de centelleo líquida (Wallac Oy, Turku, Finlandia). La acumulación de [³H]metiltimidina, que representa células de replicación viable, se mide usando un contador de centelleo líquido (1450-Microbeta; Wallac Oy). Ref. SOP: 265-162-03. Para este experimento, las líneas celulares usadas son: células Huh-7 ET (células derivadas de la línea celular Huh-7 (carcinoma hepatocelular, humanas) y que contienen un replicón sub-genómico del VHC), Molt-4 (sangre periférica, leucemia linfoblástica aguda, humanas), DU-145 (carcinoma de próstata, metástasis al cerebro, humanas), Hep-G2 (carcinoma hepatocelular, humanas) y SH-SY5Y (neuroblastoma, humanas).

15 Análisis de datos

Las concentraciones citotóxicas al 50% (CC₅₀) para la toxicidad de células se determinan a partir de curvas dosis-respuesta usando seis a ocho concentraciones por compuesto por triplicado. La curvas se ajustan a los puntos de datos usando análisis de regresión no lineal, y los valores de CI₅₀ se interpolan de la curva resultante usando el software GraphPad Prism, versión 2.0 (GraphPad Software Inc., San Diego, CA, EE.UU.).

20 TI: Relación de CC₅₀/CI₅₀ en células de replicón del VHC (células Huh-7 ET) del Ejemplo 12. Si los compuestos se prueban más de una vez se proporciona el promedio de TI.

La Tabla 2 enumera los índices terapéuticos (IT) de compuestos seleccionados representativos de la invención con respecto a otros inhibidores de la polimerasa del VHC de tiofeno.

Tabla 2

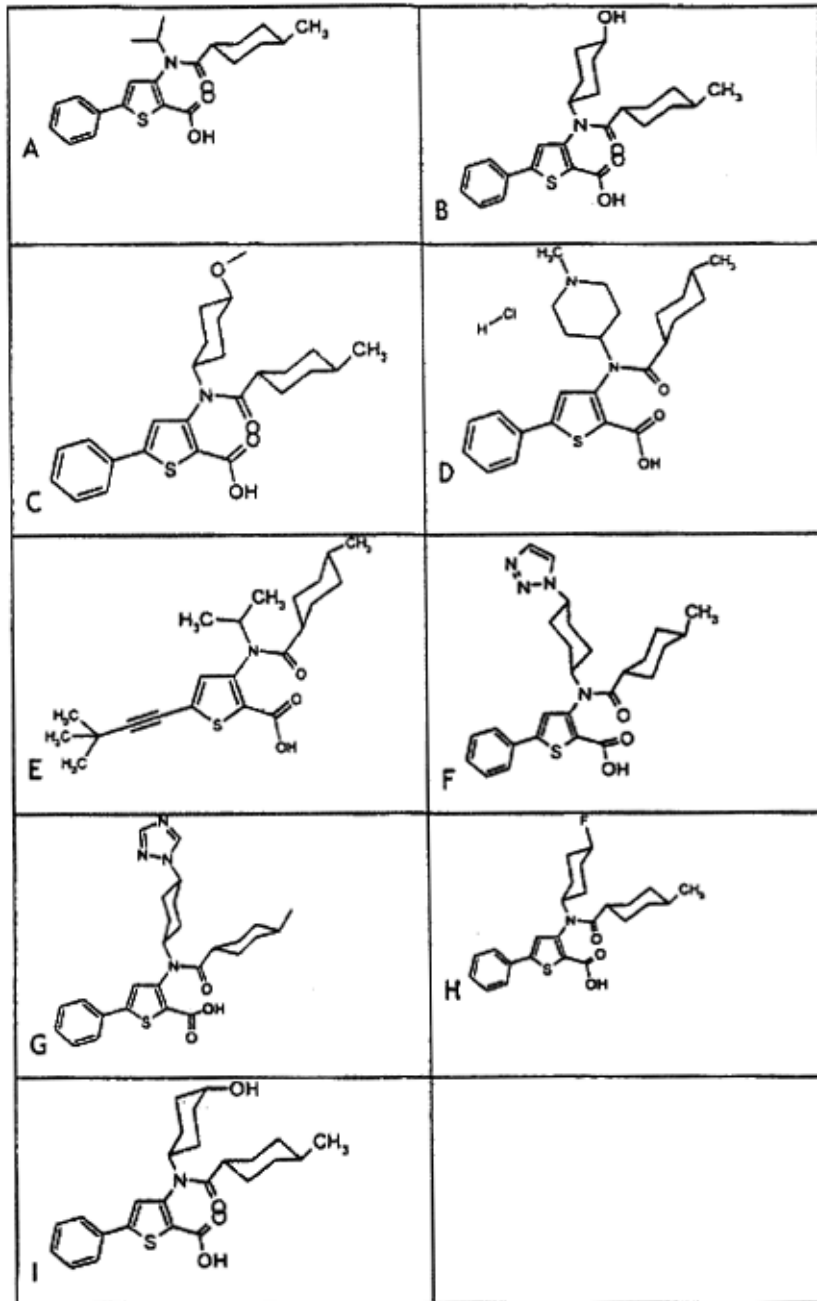
Compuesto	IT
1	+++++
2	+++
3	+++++
4	++++
5	+++++
6	+++++
7	++++
8	+++++
9	+++++
A	++
B	++
C	+
D	++++
E	+++
F	++
G	+++
H	+
I	++

25

IT

+: <100

++: 100-1000
 +++: 1000-2000
 ++++: 2000-4000
 +++++: 4000-6000
 5 ++++++ : >6000



Los compuestos A a I pueden sintetizarse como se describe en las patentes de EE.UU. nº 6.881.741, WO02/100851, W02004/052885 o WO 2006/072347.

Ejemplo 13 Estabilidad en microsomas humanos y de rata e inducción en hepatocitos humanos cultivados

10 Ciertos compuestos según la presente invención y que tienen un patrón de sustitución específicos presentan una estabilidad de microsomas mejorada y/o inducción en hepatocitos humanos con respecto a otros análogos de tiofeno. Por ejemplo, los compuestos 1 y 2 mostraron mejor perfil de estabilidad y perfil de inducción de microsomas con respecto al compuesto E.

Estabilidad en microsomas humanos y de rata

5 Cada compuesto se incuba en microsomas hepáticos (1,6 mg/ml) a 37 ° bajo condiciones oxidativas y de glucuronidación (NADPH 1,5 mM y UDPGA 1,5 mM en tampón fosfato, pH = 7,4). Como controles se usan incubaciones que no contienen NADPH ni UDPGA. Los compuestos se incuban a 50 uM durante 0 y 60 minutos. La reacción se detiene mediante la adición de un volumen igual de acetonitrilo. La mezcla se centrifuga y el sobrenadante se analiza por HPLC/UV o EM/EM. El porcentaje parental restante se corresponde con el área del compuesto parental en la incubación de 60 minutos frente al área del compuesto parental en una incubación de 0 minutos x100.

Inducción en hepatocitos humanos cultivados

10 La inducción se realiza en hepatocitos humanos criopreservados o recientemente cultivados. Las células se cultivan sobre colágeno durante 48 horas. Tras este periodo, las células se dosifican con medios de incubación recientemente enriquecidos que contenían el compuesto de prueba o el inductor de control positivo, rifampicina. Las concentraciones finales de los compuestos de prueba en las incubaciones son 1, 10 y 100 mM, mientras que el control positivo se prueba a 10 mM. Los controles negativos (CN) consistieron en incubar las células con 0,1% de contenido final de DMSO. El tratamiento de células continúa durante un total de 48 horas con medios de incubación frescos enriquecidos con compuesto de prueba o inductor de control cambiado diariamente. Al final del periodo de inducción, los medios que contienen el inductor se eliminan y las células se lavan dos veces con 200 ul de tampón Krebs-Henseleit que contiene HEPES 12 mM, pH 7,4 (tampón KH). La inducción de CYP3A4 se mide entonces por actividad usando testosterona como sustrato y por niveles de ARNm. Para la actividad de CYP3A4, tampón KH fresco, enriquecido con testosterona 200 mM se añade y las células se incuban durante 30 minutos a 37 °C. Al final del periodo de incubación, el medio se elimina y se analiza por HPEM/CL para la determinación de 6-beta-hidroxitestosterona. La inducción máxima (100% de inducción) se determina con el tratamiento con rifampicina 10 mM. El potencial de compuestos de prueba para producir la inducción de CYP3A se describe como un porcentaje de inducción máxima obtenido con el inductor clásico. Para la determinación del nivel de ARNm se recogen hepatocitos y se prepara ARN total usando el kit de purificación Qiagen RNeasy (Mississauga, ON) según las instrucciones del fabricante. Los ADNc de los hepatocitos se sintetizan a partir de ARN total usando transcriptasa inversa M-MLV (Invitrogen, Carlsbad, CA) con cebador universal (Roche Diagnostic, Alemania). El análisis de la expresión de ARNm específico en muestras de ARN total se realiza por PCR en tiempo real cuantitativa usando el sistema de detección de secuencias ABI Prism 7700 de Applied Biosystems. Los cebadores usados para CYP3A4 son 5'-TCA GCC TGG TGC TCC TCT ATC TAT-3' como cebador directo y 5'-AAG CCC TTA TGG TAG GAC AAA ATA TTT-3' como cebador inverso. La sonda usada fue 5'-/56-FAM/TCC AGG GCC CAC ACC TCT GCC T/36-TAMSp/ - 3'. Los datos se normalizan a 18S ARNm ribosómico (VIC) con detección en tiempo real. El análisis de datos y las pruebas estadísticas se realizan usando Microsoft Excel. Los resultados pueden informarse como veces de cambio de expresión génica en comparación con grupo de control según la siguiente fórmula:

$$35 \quad \Delta Ct = Ct \text{ FAM} - Ct \text{ VIC}$$

$$\Delta\Delta Ct = \Delta Ct \text{ Candidato a fármaco} - \Delta Ct \text{ Control}$$

$$\text{Veces de inducción: } 2^{-\Delta\Delta Ct}$$

40 Los ejemplos anteriores pueden repetirse con éxito similar sustituyendo los reactantes y/o condiciones de operación genéricamente o específicamente descritos de la presente invención con aquellos usados en los ejemplos precedentes.

De la descripción anterior, un experto en la materia puede determinar fácilmente las características esenciales de la presente invención y puede hacer diversos cambios y modificaciones de la invención dentro del alcance de las reivindicaciones adjuntas.

LISTADO DE SECUENCIAS

- 45 <110> Virochem Pharma Inc.
 <120> Análogos de tiofeno para el tratamiento o prevención de infecciones por flavivirus
 <130> 134 805
 <150> US 60/858.939
 <151> 15-11-2006
 50 <160> 7
 <170> PatentIn versión 3.4
 <210> 1
 <211> 30
 <212> ADN
 55 <213> Artificial

<220>
 <223> Cebador de PCR NS5Nhe5'
 <400> 1
 gctagcgcta gctcaatgct ctacacatgg 30
 5 <210> 2
 <211> 30
 <212> ADN
 <213> Artificial
 <220>
 10 <223> Cebador de PCR XhoNS53'
 <400> 2
 ctcgagctcg agcgtccatc ggtggggag 30
 <210> 3
 <211> 36
 15 <212> ADN
 <213> Artificial
 <220>
 <223> Cebador de PCR NS5B-H9
 <400> 3
 20 atacatatgg ctagcatgct aatgcctac acatgg 36
 <210> 4
 <211> 30
 <212> ADN
 <213> Artificial
 25 <220>
 <223> Cebador de PCR NS5B-R4
 <400> 4
 ggatccggat cccgttcac ggtggggag 30
 <210> 5
 30 <211> 24
 <212> ADN
 <213> Artificial
 <220>
 <223> Cebador de PCR
 35 <400> 5
 tcagcctggt gctccttat ctat 24
 <210> 6
 <211> 27
 <212> ADN

<213> Artificial

<220>

<223> Cebador de PCR

<400> 6

5 aagcccttat ggtaggacaa aatatt 27

<210> 7

<211> 22

<212> ADN

<213> Artificial

10 <220>

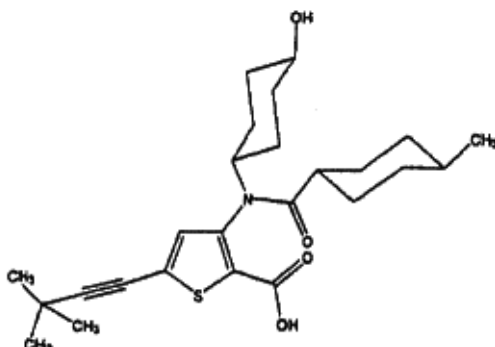
<223> Sonda

<400> 7

tccagggcc acacctctgc ct 22

REIVINDICACIONES

1. Un compuesto



o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos.

2. Una composición farmacéutica que comprende el compuesto según la reivindicación 1 y al menos un vehículo o excipiente farmacéuticamente aceptable.
3. Una combinación farmacéutica que comprende el compuesto según la reivindicación 1 y al menos un agente adicional.
4. Una combinación farmacéutica según la reivindicación 3, en la que dicho al menos un agente adicional está seleccionado de inhibidores de la serina proteasa viral, inhibidores de la polimerasa viral, inhibidores de la helicasa viral, agentes inmunomoduladores, agentes antioxidantes, agentes antibacterianos, vacunas terapéuticas, agentes hepatoprotectores, agentes antisentido, inhibidores de NS2/3 proteasa del VHC e inhibidores de sitio interno de entrada al ribosoma (IRES).
5. Una combinación farmacéutica según la reivindicación 4, en la que dicho al menos un agente adicional está seleccionado de ribavirina e interferón- α .
6. Una combinación farmacéutica según la reivindicación 4, en la que dicho al menos un agente adicional está seleccionado de ribavirina e interferón- α PEGilado.
7. El compuesto según la reivindicación 1 para su uso en un procedimiento para tratar una infección viral por hepatitis C en un huésped.
8. El compuesto para su uso según la reivindicación 7, procedimiento que comprende además administrar al menos un agente adicional.
9. El compuesto para su uso según la reivindicación 8, en la que dicho al menos un agente adicional está seleccionado de inhibidores de la serina proteasa viral, inhibidores de la polimerasa viral, inhibidores de la helicasa viral, agentes inmunomoduladores, agentes antioxidantes, agentes antibacterianos, vacunas terapéuticas, agentes hepatoprotectores, agentes antisentido, inhibidores de NS2/3 proteasa del VHC e inhibidores de sitio interno de entrada al ribosoma (IRES).
10. El compuesto para su uso según la reivindicación 8, en la que dicho al menos un agente adicional está seleccionado de ribavirina e interferón- α .
11. El compuesto para su uso de la reivindicación 8, en la que dicho al menos un agente adicional está seleccionado de ribavirina e interferón- α PEGilado.
12. El compuesto para su uso según una cualquiera de las reivindicaciones 7 a 11 en el que dicho huésped es humano.
13. Un compuesto elegido de:
- éster metílico de ácido 3-[(1,4-dioxa-espiro[4.5]dec-8-il)-(trans-4-metil-ciclo-hexanocarbonil)-amino]-5-yodo-tiofeno-2-carboxílico;
- éster metílico de ácido 5-(3,3-dimetil-but-1-inil)-3-(4-[1,2,3]triazol-1-il-ciclohexilamino)-tiofeno-2-carboxílico;
- éster metílico de ácido 5-(3,3-dimetil-but-1-inil)-3-(4-[1,2,4]triazol-1-il-ciclohexilamino)-tiofeno-2-carboxílico;
- éster metílico de ácido 5-(3,3-dimetil-but-1-inil)-3-(*terc*-butoxicarbonil)amino-tiofeno-2-carboxílico;
- éster metílico de ácido 5-(3,3-dimetil-but-1-inil)-3-amino-tiofeno-2-carboxílico;
- éster metílico de ácido 3-[(*trans*-4-hidroxi-ciclohexil)-(trans-4-metil-ciclohexanocarbonil)-amino]-5-yodo-tiofeno-2-carboxílico; o

éster metílico de ácido 3-[(*trans*-4-Hidroxi-ciclohexil)-(*trans*-4-metil-ciclohexanocarbonil)-amino]-5-trimetil-silaniletinil-tiofeno-2-carboxílico.

14. El uso de un compuesto

5 éster metílico de ácido 3-[(1,4-dioxa-espiro[4.5]dec-8-il)-(*trans*-4-metil-ciclo-hexanocarbonil)-amino]-5-yodo-tiofeno-2-carboxílico;

éster metílico de ácido 5-(3,3-dimetil-but-1-inil)-3-(4-[1,2,3]triazol-1-il-ciclohexilamino)-tiofeno-2-carboxílico;

éster metílico de ácido 5-(3,3-dimetil-but-1-inil)-3-(4-[1,2,4]triazol-1-il-ciclohexilamino)-tiofeno-2-carboxílico;

éster metílico de ácido 5-(3,3-dimetil-but-1-inil)-3-(*terc*-butoxicarbonil)amino-tiofeno-2-carboxílico;

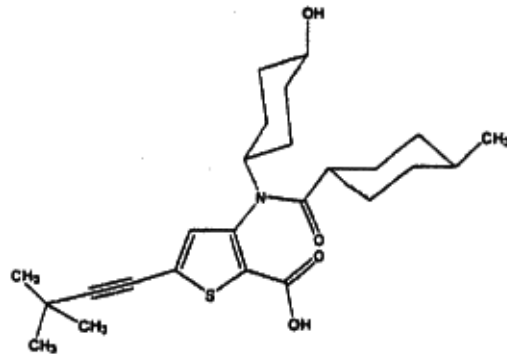
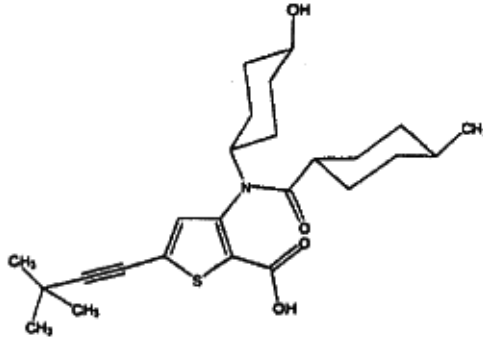
éster metílico de ácido 5-(3,3-dimetil-but-1-inil)-3-amino-tiofeno-2-carboxílico;

10 éster metílico de ácido 3-[(*trans*-4-hidroxi-ciclohexil)-(*trans*-4-metil-ciclohexanocarbonil)-amino]-5-yodo-tiofeno-2-carboxílico; o

éster metílico de ácido 3-[(*trans*-4-hidroxi-ciclohexil)-(*trans*-4-metil-ciclohexanocarbonil)-amino]-5-trimetil-silaniletinil-tiofeno-2-carboxílico

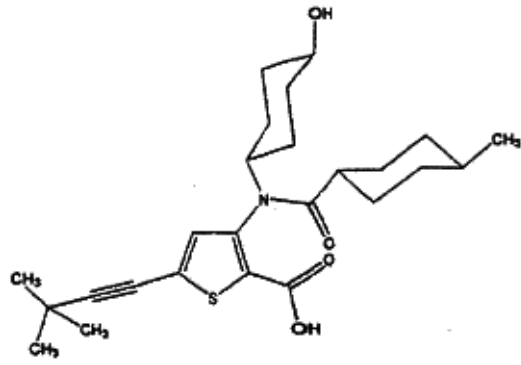
para la síntesis de un compuesto como se define en la reivindicación 1.

15 15. Una sal farmacéuticamente aceptable del compuesto



16. Un compuesto

17. Una combinación farmacéutica que comprende



- a) el compuesto
- b) interferón- α PEGilado; y
- c) ribavirina.

5 18. La combinación farmacéutica de la reivindicación 17 para su uso en un procedimiento para tratar una infección viral por hepatitis C en un huésped.