



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 101568538 B

(45) 授权公告日 2012. 09. 05

(21) 申请号 200780048076. X

(22) 申请日 2007. 11. 15

(30) 优先权数据

60/858, 939 2006. 11. 15 US

(85) PCT申请进入国家阶段日

2009. 06. 24

(86) PCT申请的申请数据

PCT/CA2007/002064 2007. 11. 15

(87) PCT申请的公布数据

W02008/058393 EN 2008. 05. 22

(73) 专利权人 VIRO 化学制药公司

地址 加拿大魁北克

(72) 发明人 L·陈振纲 S·库马达斯

C·普瓦松 C·G·扬诺普洛斯

G·法拉多 L·瓦扬古 R·丹尼斯

(74) 专利代理机构 中国国际贸易促进委员会专

利商标事务所 11038

代理人 袁志明

(51) Int. Cl.

C07D 409/12 (2006. 01)

A61K 31/381 (2006. 01)

A61K 31/4196 (2006. 01)

A61K 31/4535 (2006. 01)

A61K 31/7056 (2006. 01)

A61K 38/21 (2006. 01)

A61P 31/14 (2006. 01)

C07D 333/40 (2006. 01)

C07F 7/10 (2006. 01)

(56) 对比文件

CN 1602308 A, 2005. 03. 30,

CN 1795190 A, 2006. 06. 28,

WO 2006072348 A2, 2006. 07. 13,

WO 2006072347 A2, 2006. 07. 13,

审查员 李强

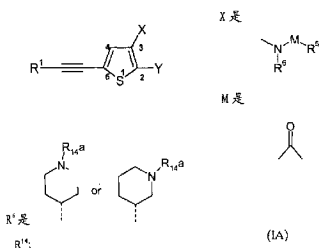
权利要求书 2 页 说明书 49 页

(54) 发明名称

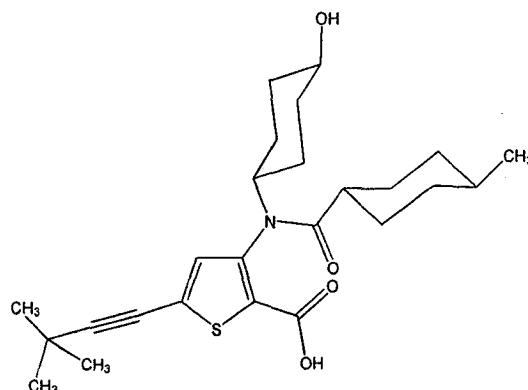
用于治疗或预防黄病毒属感染的噻吩类似物

(57) 摘要

本发明涉及式 IA 表示的化合物或其药学上可接受的盐和溶剂合物, 其可用于治疗黄病毒科病毒感染, 其中 R_1 是 C_{1-6} 烷基或 C_{3-6} 环烷基; X 是 M 是 R^5 是未被取代或被 R^{13} 取代一次或多次的环己基; R^6 是或在 4 位被 R^{14} 取代的环己基; 并且 Y、 R^{14a} 和 R^{14} 如说明书中所定义。



1. 化合物, 其为



或其药学上可接受的盐。

2. 药物组合物, 其包含权利要求 1 的化合物和至少一种药学上可接受的载体或赋形剂。

3. 药物组合, 其包含权利要求 1 的化合物和至少一种另外的药物。

4. 权利要求 3 的药物组合, 其中所述另外的药物选自病毒丝氨酸蛋白酶抑制剂、病毒聚合酶抑制剂、病毒解旋酶抑制剂、免疫调节剂、抗氧化剂、抗菌剂、治疗性疫苗、肝脏保护药、反义药物、HCV NS2/3 蛋白酶的抑制剂和内部核糖体进入位点的抑制剂。

5. 权利要求 4 的药物组合, 其中所述至少一种另外的药物选自利巴韦林和干扰素- α 。

6. 权利要求 4 的药物组合, 其中所述至少一种另外的药物选自利巴韦林和聚乙二醇化的干扰素- α 。

7. 权利要求 1 的化合物在制备药剂中的用途, 其中所述药剂用于治疗宿主的丙型肝炎病毒感染。

8. 权利要求 7 的用途, 其中所述药剂另外包括给予至少一种另外的药物。

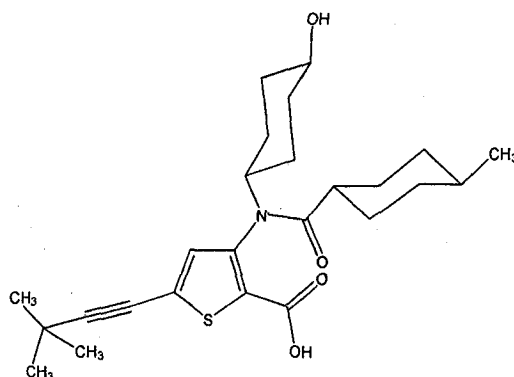
9. 权利要求 8 的用途, 其中所述另外的药物选自病毒丝氨酸蛋白酶抑制剂、病毒聚合酶抑制剂、病毒解旋酶抑制剂、免疫调节剂、抗氧化剂、抗菌剂、治疗性疫苗、肝脏保护药、反义药物、HCVNS2/3 蛋白酶的抑制剂和内部核糖体进入位点的抑制剂。

10. 权利要求 8 的用途, 其中所述至少一种另外的药物选自利巴韦林和干扰素- α 。

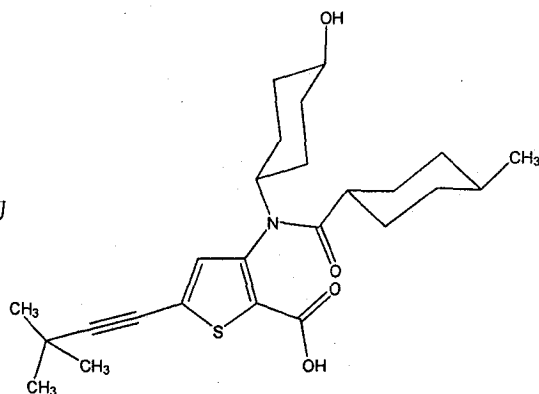
11. 权利要求 8 的用途, 其中所述至少一种另外的药物选自利巴韦林和聚乙二醇化的干扰素- α 。

12. 权利要求 7 ~ 11 任一项的用途, 其中所述宿主为人。

13. 下式化合物的药学上可接受的盐

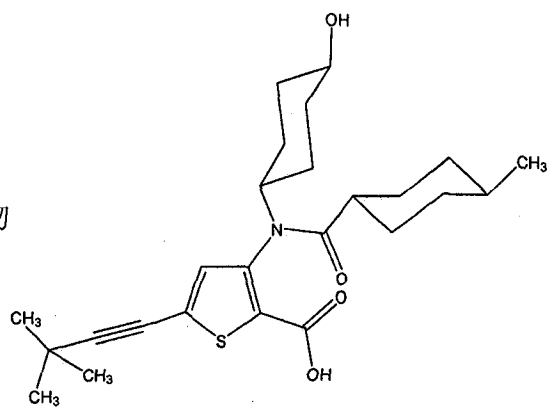


14. 化合物, 其为



15. 药物组合物, 其包含

a) 化合物

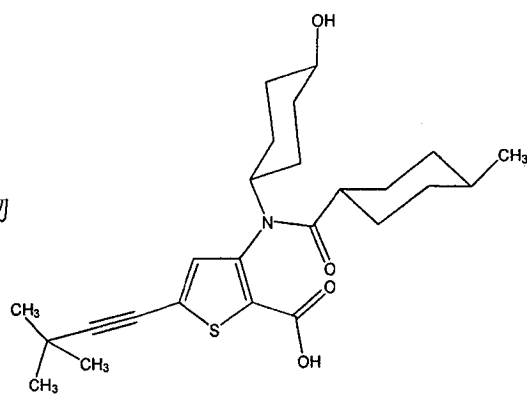


b) 聚乙二醇化的干扰素- α ; 以及

c) 利巴韦林。

16. 治疗有效量的如下化合物在制备药剂中的用途 :

a) 化合物



b) 聚乙二醇化的干扰素- α ; 以及

c) 利巴韦林 ;

其中, 所述药剂用于治疗宿主的丙型肝炎病毒感染。

用于治疗或预防黄病毒属感染的噻吩类似物

[0001] 本发明涉及新的化合物和使用新的化合物治疗或预防黄病毒属 (Flavivirus) 感染的方法。

[0002] 肝炎是在全世界都有发生的疾病。其通常具有病毒性质, 尽管已知存在有其它原因。病毒性肝炎是显然最常见的肝炎形式。每年有差不多 750,000 名美国人感染肝炎, 并且其中超过 150,000 感染丙型肝炎病毒 (“HCV”)。

[0003] HCV 是属于黄病毒科 (Flaviviridae) 的一种正链 RNA 病毒, 并与包括猪瘟疫病毒和牛病毒性腹泻病毒 (BVDV) 在内的瘟病毒有最密切的关系。HCV 被认为是通过产生互补性负链 RNA 模板进行复制的。由于没有用于该病毒的有效培养物复制系统, HCV 颗粒是从汇集的人血浆分离得到的并且通过电子显微镜检查显示具有约 50-60nm 的直径。HCV 基因组是约 9,600bp 的单链的、正义的 RNA, 其编码 3009-3030 个氨基酸的多蛋白, 所述多蛋白共翻译和翻译后裂解为成熟的病毒蛋白质 (核心、E1、E2、p7、NS2、NS3、NS4A、NS4B、NS5A、NS5B)。认为结构糖蛋白 E1 和 E2 被包埋在病毒的脂质外壳中并且形式稳定的杂二聚物。还认为结构核心蛋白与病毒 RNA 基因组相互作用, 形成核蛋白壳。被指定为 NS2 到 NS5 的非结构蛋白包括具有酶促功能的蛋白, 所述蛋白与病毒复制和蛋白质加工有关, 包括聚合酶、蛋白酶和解旋酶。

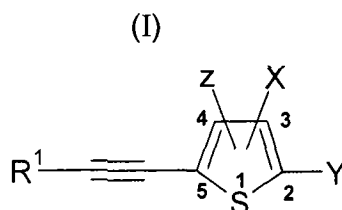
[0004] HCV 的主要污染源是血液。作为健康问题的 HCV 感染的重大性是通过高危组中的发病率来说明的。例如, 在西方国家, 60% 到 90% 的血友病患者和超过 80% 的静脉内药物监用者长期地感染 HCV。对于静脉内药物监用者而言, 根据研究的群体, 发病率从约 28% 到 70% 变化。由于在用于筛选献血者的诊断工具方面的进步, 与输血后有关的新的 HCV 感染的比例已经显著降低。

[0005] 聚乙二醇化的干扰素与利巴韦林的组合是用于慢性 HCV 感染的选择治疗。这种治疗在感染最流行的基因型 (1a 和 1b) 的大多数患者中不能提供持续病毒反应 (SVR)。此外, 显著的副作用妨碍了对目前的疗法的顺从性, 并且在一些患者中可能需要降低剂量或停药。

[0006] 因此, 非常需要开发用于治疗或预防黄病毒属感染的抗病毒药。

[0007] 一方面, 本发明提供以下式 I 的化合物:

[0008]



[0009] 或其药学上可接受的盐;

[0010] 其中,

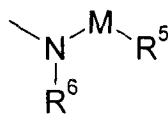
[0011] R^1 为 C_{1-6} 烷基、 C_{3-6} 环烷基、或 C_{6-14} 芳基, 其被以下取代基取代一次或多次: $-NH(C_{1-4}$ 烷基)、 $-N(C_{1-4}$ 烷基)₂、羟基、 NH_2 、3-12 元杂环、或 $NHSO_2C_{6-18}$ 芳基;

[0012] Z 为 H、卤素、未被取代的或被 R^{10} 取代一次或多次的 C_{1-6} 烷基、未被取代的或被 R^{10}

取代一次或多次的 C_{2-6} 链烯基、或未被取代的或被 R^{10} 取代一次或多次的 C_{2-6} 炔基；

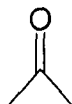
[0013] X 为

[0014]

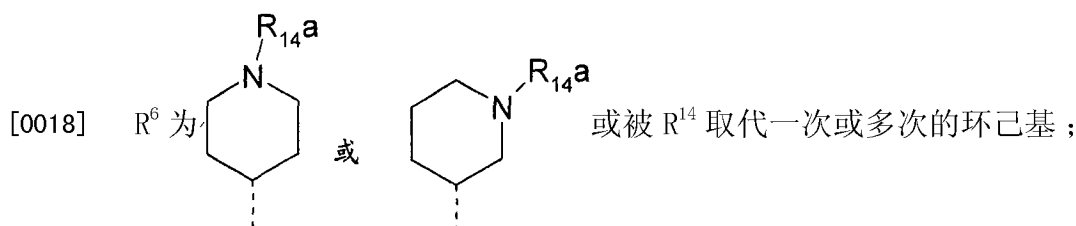


[0015] M 为

[0016]



[0017] R^5 为环己基, 其为未被取代的或被 R^{13} 取代一次或多次；



[0019] Y 为 $COOR^7$ 、 $COCOOR^7$ 、 $P(O)OR^aOR^b$ 、 $S(O)OR^7$ 、 $S(O)_2OR^7$ 、四唑、 $CON(R^7)CH(R^7)COOR^7$ 、 $CONR^8R^9$ 、 $CON(R^7)-SO_2-R^7$ 、 $CONR^7OH$ 和卤素；

[0020] R^7 、 R^8 和 R^9 各自独立地为 H、未被取代的或被 R^{10} 取代一次或多次的 C_{1-12} 烷基、未被取代的或被 R^{10} 取代一次或多次的 C_{2-12} 链烯基、未被取代的或被 R^{10} 取代一次或多次的 C_{2-12} 炔基、未被取代的或被 R^{11} 取代一次或多次的 C_{6-14} 芳基、未被取代的或被 R^{11} 取代一次或多次的 C_{7-16} 芳烷基、未被取代的或被 R^{11} 取代一次或多次的 5-12 元杂芳基、未被取代的或被 R^{11} 取代一次或多次的 6-18 元杂芳烷基、未被取代的或被 R^{12} 取代一次或多次的 3-12 元杂环、或未被取代的或被 R^{12} 取代一次或多次的 4-18 元杂环-烷基, 或者 R^8 和 R^9 与氮原子合起来形成未被取代的或被 R^{12} 取代一次或多次的 3-10 元杂环或未被取代的或被 R^{11} 取代一次或多次的 5-12 元杂芳基；和

[0021] R_a 和 R_b 各自独立地选自 H、未被取代的或被 R^{10} 取代一次或多次的 C_{1-12} 烷基、未被取代的或被 R^{10} 取代一次或多次的 C_{2-12} 链烯基、未被取代的或被 R^{10} 取代一次或多次的 C_{2-12} 炔基、未被取代的或被 R^{11} 取代一次或多次的 C_{6-14} 芳基、未被取代的或被 R^{11} 取代一次或多次的 C_{7-16} 芳烷基、未被取代的或被 R^{11} 取代一次或多次的 5-12 元杂芳基、未被取代的或被 R^{11} 取代一次或多次的 6-18 元杂芳烷基、未被取代的或被 R^{12} 取代一次或多次的 3-12 元杂环、或未被取代的或被 R^{12} 取代一次或多次的 4-18 元杂环-烷基、或 R^a 和 R^b 与氧原子合起来形成未被取代的或被 R^{10} 取代一次或多次的 5-10 元杂环或未被取代的或被 R^{11} 取代一次或多次的 5-12 元杂芳基；

[0022] R^{10} 为卤素、氧代、 $-NH_2$ 、 $-NH(C_{1-4} \text{ 烷基})$ 、 $-N(C_{1-4} \text{ 烷基})_2$ 、 $-CONH_2$ 、 $-CONH(C_{1-4} \text{ 烷基})$ 、 $-CON(C_{1-4} \text{ 烷基})_2$ 、 $-NHC(O)H$ 、 $-N(C_{1-4} \text{ 烷基})COH$ 、 $-N(C_{1-4} \text{ 烷基})COC_{1-4} \text{ 烷基}$ 、 $-NHCOC_{1-4} \text{ 烷基}$ 、 $-C(O)H$ 、 $-C(O)C_{1-4} \text{ 烷基}$ 、羧基、 $-C(O)OC_{1-4} \text{ 烷基}$ 、羟基、 C_{1-4} 烷氧基、硝基、亚硝基、叠氮基、氰基、 $-S(O)_{0-2}H$ 、 $-S(O)_{0-2}C_{1-4} \text{ 烷基}$ 、 $-SO_2NH_2$ 、 $-SO_2NH(C_{1-4} \text{ 烷基})$ 、 $-SO_2N(C_{1-4} \text{ 烷基})_2$ 、 $-NHSO_2H$ 、 $-N(C_{1-4} \text{ 烷基})SO_2H$ 、 $-N(C_{1-4} \text{ 烷基})SO_2C_{1-4} \text{ 烷基}$ 、或 $-NHSO_2C_{1-4} \text{ 烷基}$ ；

[0023] R^{11} 为卤素、 C_{1-6} 烷基、卤化的 C_{1-6} 烷基、 C_{2-6} 链烯基、 C_{2-6} 炔基、 C_{1-6} 烷氧基、 $-NH_2$ 、 $-NH(C_{1-4}$ 烷基)、 $-N(C_{1-4}$ 烷基)₂、 $-CONH_2$ 、 $-CONH(C_{1-4}$ 烷基)、 $-CON(C_{1-4}$ 烷基)₂、 $-NHC(O)H$ 、 $-N(C_{1-4}$ 烷基) $C(O)H$ 、 $-N(C_{1-4}$ 烷基) COC_{1-4} 烷基、 $-NHCOC_{1-4}$ 烷基、 $-C(O)H$ 、 $-C(O)C_{1-4}$ 烷基、羧基、 $-C(O)OC_{1-4}$ 烷基、羟基、 C_{1-6} 烷氧基、硝基、亚硝基、叠氮基、氰基、 $-S(O)_{0-2}H$ 、 $-S(O)_{0-2}C_{1-4}$ 烷基、 $-SO_2NH_2$ 、 $-SO_2NH(C_{1-4}$ 烷基)、 $-SO_2N(C_{1-4}$ 烷基)₂、 $-NHSO_2H$ 、 $-N(C_{1-4}$ 烷基) SO_2H 、 $-N(C_{1-4}$ 烷基) SO_2C_{1-4} 烷基、或 $-NHSO_2C_{1-4}$ 烷基；

[0024] R^{12} 为卤素、氧代、 C_{1-6} 烷基、卤化的 C_{1-6} 烷基、 C_{2-6} 链烯基、 C_{2-6} 炔基、 $-NH_2$ 、 $-NH(C_{1-4}$ 烷基)、 $-N(C_{1-4}$ 烷基)₂、 $-CONH_2$ 、 $-CONH(C_{1-4}$ 烷基)、 $-CON(C_{1-4}$ 烷基)₂、 $-NHC(O)H$ 、 $-N(C_{1-4}$ 烷基) $C(O)H$ 、 $-N(C_{1-4}$ 烷基) COC_{1-4} 烷基、 $-NHCOC_{1-4}$ 烷基、 $-C(O)H$ 、 $-C(O)C_{1-4}$ 烷基、羧基、 $-C(O)OC_{1-4}$ 烷基、羟基、 C_{1-6} 烷氧基、硝基、亚硝基、叠氮基、氰基、 $-S(O)_{0-2}H$ 、 $-S(O)_{0-2}C_{1-4}$ 烷基、 $-SO_2NH_2$ 、 $-SO_2NH(C_{1-4}$ 烷基)、 $-SO_2N(C_{1-4}$ 烷基)₂、 $-NHSO_2H$ 、 $-N(C_{1-4}$ 烷基) SO_2H 、 $-N(C_{1-4}$ 烷基) SO_2C_{1-4} 烷基、或 $-NHSO_2C_{1-4}$ 烷基；

[0025] R^{13} 为 OH 、卤素、 C_{1-6} - 烷基、卤化的 C_{1-6} - 烷基、 C_{1-6} - 烷氧基、卤化的 C_{1-6} - 烷氧基、氰基、硝基、 $-NH_2$ 、 $-NH(C_{1-4}$ 烷基)、 $-N(C_{1-4}$ 烷基)₂、 $-CONH_2$ 、 $-CONH(C_{1-4}$ 烷基)、 $-CON(C_{1-4}$ 烷基)₂、 $-NHC(O)H$ 、 $-N(C_{1-4}$ 烷基) $C(O)H$ 、 $-N(C_{1-4}$ 烷基) COC_{1-4} 烷基、 $-NHCOC_{1-4}$ 烷基、 $-C(O)H$ 、 $-C(O)C_{1-4}$ 烷基、羧基、 $-C(O)OC_{1-4}$ 烷基、 $-S(O)_{0-2}C_{1-4}$ 烷基、 $-SO_2NH_2$ 、 $-SO_2NH(C_{1-4}$ 烷基)、 $-SO_2N(C_{1-4}$ 烷基)₂、 $-N(C_{1-4}$ 烷基) SO_2H 、 $-N(C_{1-4}$ 烷基) SO_2C_{1-4} 烷基、 $-NHSO_2C_{1-4}$ 烷基、 C_{6-14} - 芳基、 C_{6-14} - 芳基氧基、或 C_{6-14} - 芳基氧基- C_{1-6} - 烷基；

[0026] R^{14} 为 OH 、卤素、 C_{1-6} - 烷氧基、 C_{1-6} - 烷基、 C_{1-6} - 烷基- $CO-NH-$ 、 C_{1-6} - 烷基- $CO-N(C_{1-6}$ - 烷基)-、或 5-10 元杂芳基；和

[0027] R^{14a} 为 C_{1-6} - 烷基、 C_{3-7} - 环烷基、卤化的 C_{1-6} - 烷基、 C_{1-6} - 烷基- $CO-$ 、 $-S(O)_{0-2}C_{1-4}$ 烷基、5 至 10 元杂芳基或 C_{6-14} - 芳基；

[0028] 其药学上可接受的盐。

[0029] 本发明的化合物是 HCV 聚合酶抑制剂。令人意料之外的是，已经发现本发明的具有特定取代型式的化合物相对于其它噻吩类 HCV 聚合酶抑制剂表现出改善的性质。因此，认为本发明的化合物具有优异的用于治疗 and 预防丙型肝炎感染的潜力。

[0030] 另一方面，提供了用于治疗或预防患者的黄病毒科病毒感染的方法，包括对所述患者给予治疗上有效量的本发明的化合物、组合物或组合。

[0031] 另一方面，提供了药物组合物，其包含至少一种本发明的化合物和至少一种药学上可接受的载体或赋形剂。

[0032] 另一方面，提供了一种组合，其包含本发明的化合物和一种或多种另外的药剂，所述另外的药剂选自病毒丝氨酸蛋白酶抑制剂、病毒聚合酶抑制剂、病毒解旋酶抑制剂、免疫调节剂、抗氧化剂、抗菌剂、治疗性疫苗、肝脏保护药、反义药剂、HCV NS2/3 蛋白酶的抑制剂和内部核糖体进入位点 (IRES) 的抑制剂。

[0033] 另一方面，提供了本发明的化合物、组合物或组合用于治疗或预防患者的黄病毒科病毒感染的用途。

[0034] 另一方面，提供了本发明的化合物、组合物或组合用于抑制或降低患者的病毒聚合酶活性的用途。

[0035] 另一方面，提供了本发明的化合物、组合物或组合用于生产药物的用途，所述药物

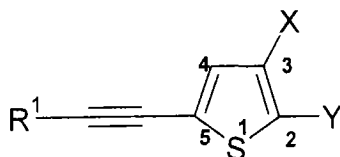
用于治疗或预防患者的黄病毒科病毒感染。

[0036] 在一个实施方案中,本发明的化合物包括其中单独或组合地存在以下实施方案的那些。

[0037] 根据优选的化合物或方法方面,本发明的化合物由以下式 IA 表示:

[0038]

(IA)



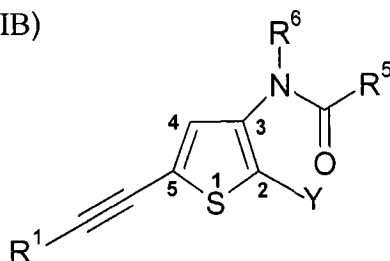
[0039] 或其药学上可接受的盐;

[0040] 其中, X、Y 和 R¹ 的每一个如上述所定义。

[0041] 根据另一个优选的化合物或方法方面,本发明的化合物由以下式 IB 表示:

[0042]

(IB)



[0043] 或其药学上可接受的盐;

[0044] 其中 X、Y、R¹、R⁵、和 R⁶ 中的每一个如上述所定义。

[0045] 根据另一个实施方案,式 I、IA、和 IB 中的 R¹ 为 C₁₋₆ 烷基或 C₃₋₆ 环烷基,其为未被取代的或被以下取代基取代一次或多次: -NH₂、NHCH₃、N(CH₃)₂、或羟基。

[0046] 根据另一个实施方案,式 I、IA、和 IB 中的 R¹ 为 C₁₋₆ 烷基,其为未被取代的或被以下取代基取代一次或多次: -NH₂NHCH₃、N(CH₃)₂、或羟基。

[0047] 根据另一个实施方案,式 I、IA、和 IB 中的 R¹ 为 C₁₋₆ 烷基。

[0048] 根据另一个实施方案,式 I、IA、和 IB 中的 R¹ 为 R¹ 为甲基、乙基、丙基、异丙基、丁基、仲-丁基、或叔-丁基。

[0049] 根据另一个实施方案,R¹ 式中的 I、IA、和 IB 为环丙基、环丁基、环戊基、或环己基。

[0050] 根据另一个实施方案,R¹ 式中的 I、IA、和 IB 为苯基

[0051] 根据另一个实施方案,式 I 中的 Z 为 H、卤素、或未被取代的或被 R¹⁰ 取代一次或多次的 C₁₋₆ 烷基。

[0052] 根据另一个实施方案,式 I 中的 Z 为 H、卤素、或未被取代的或被 R¹⁰ 取代一次或多次的 C₁₋₄ 烷基。

[0053] 根据另一个实施方案,式 I 中的 Z 为 H 或 C₁₋₄ 烷基。

[0054] 根据另一个实施方案,式 I 中的 Z 为 H 或甲基。

[0055] 根据另一个实施方案,式 I、IA、和 IB 中的 Y 为 COOR⁷, 和 R⁷ 为 H、未被取代的或被 R¹⁰ 取代一次或多次的 C₁₋₁₂ 烷基、未被取代的或被 R¹⁰ 取代一次或多次的 C₂₋₁₂ 链烯基、未被取代的或被 R¹⁰ 取代一次或多次的 C₂₋₁₂ 炔基、或未被取代的或被 R¹¹ 取代一次或多次的 C₆₋₁₄ 芳

基。

[0056] 根据另一个实施方案,式 I、IA、和 IB 中的 Y 为 COOR^7 , 和 R^7 为 H、未被取代的或被 R^{10} 取代一次或多次的 C_{1-6} 烷基、或未被取代的或被 R^{11} 取代一次或多次的 C_{6-14} 芳基。

[0057] 根据另一个实施方案,式 I、IA、和 IB 中的 Y 为 COOR^7 , 和 R^7 为 H、未被取代的或被 R^{10} 取代一次或多次的 C_{1-4} 烷基、或未被取代的或被 R^{11} 取代一次或多次的苯基。

[0058] 根据另一个实施方案,式 I、IA、和 IB 中的 Y 为 COOR^7 和 R^7 为 H、 C_{1-4} 烷基或苯基。

[0059] 根据另一个实施方案,式 I、IA、和 IB 中的 Y 为 COOR^7 和 R^7 为 H、甲基、或乙基。

[0060] 根据另一个实施方案,式 I、IA、和 IB 中的 Y 为 COOR^7 和 R^7 为 H。

[0061] 根据另一个实施方案,式 I、IA、和 IB 中的 R^5 为环己基,其为未被取代的或被以下取代基取代一次或多次:OH、卤素、 C_{1-6} -烷基、卤化的 C_{1-6} -烷基、 C_{1-6} -烷氧基、卤化的 C_{1-6} -烷氧基、氰基、硝基、 $-\text{NH}_2$ 、 $-\text{NH}(\text{C}_{1-4}$ 烷基)、或 $-\text{N}(\text{C}_{1-4}$ 烷基)₂。

[0062] 根据另一个实施方案,式 I、IA、和 IB 中的 R^5 为在 4-位被取代的环己基。

[0063] 根据另一个实施方案,在式 I、IA、和 IB 中, X 为 $-\text{NR}^6-\text{CO}-\text{R}^5$ 和 R^5 为在 4-位被取代的环己基并且所述 4-位取代基处于羰基的反式位置上。

[0064] 根据另一个实施方案, R^5 式中的 I、IA、和 IB 为环己基,其为未被取代的或在 4-位被以下取代基取代:OH、卤素、 C_{1-6} -烷基、卤化的 C_{1-6} -烷基、 C_{1-6} -烷氧基、卤化的 C_{1-6} -烷氧基、氰基、硝基、 $-\text{NH}_2$ 、 $-\text{NH}(\text{C}_{1-4}$ 烷基)、或 $-\text{N}(\text{C}_{1-4}$ 烷基)₂。

[0065] 根据另一个实施方案,在式 I、IA、和 IB 中, X 为 $-\text{NR}^6-\text{CO}-\text{R}^5$ 和 R^5 为环己基,其为未被取代的或在 4-位被以下取代基取代:OH、卤素、 C_{1-6} -烷基、卤化的 C_{1-6} -烷基、 C_{1-6} -烷氧基、卤化的 C_{1-6} -烷氧基、氰基、硝基、 $-\text{NH}_2$ 、 $-\text{NH}(\text{C}_{1-4}$ 烷基)、或 $-\text{N}(\text{C}_{1-4}$ 烷基)₂, 其中所述 4-位取代基处于羰基的反式位置上。

[0066] 根据另一个实施方案,式 I、IA、和 IB 中的 R^6 为 R^6 为环己基,其被以下取代基取代一次或多次:OH、卤素、 C_{1-6} -烷基、或 C_{1-6} -烷氧基。

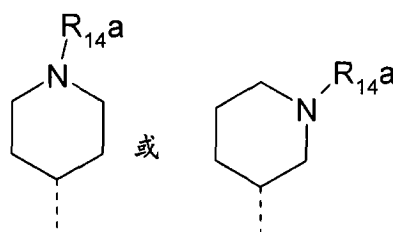
[0067] 根据另一个实施方案,式 I、IA、和 IB 中的 R^6 为在 4-位被取代的环己基。

[0068] 根据另一个实施方案,式 I、IA、和 IB 中的 R^6 为在 4-位被取代的环己基并且所述 4-位取代基处于氨基的反式位置上。

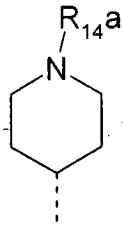
[0069] 根据另一个实施方案,式 I、IA、和 IB 中的 R^6 为在 4-位被 OH 或 C_{1-6} -烷氧基取代的环己基。

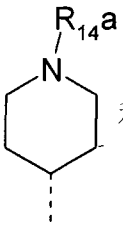
[0070] 根据另一个实施方案,式 I、IA、和 IB 中的 R^6 为

[0071]



[0072] 和 R^{14a} 为 C_{1-6} -烷基、卤化的 C_{1-6} -烷基、 C_{1-6} -烷基 $-\text{CO}-$ 、 $-\text{S}(\text{O})_{0-2}\text{C}_{1-4}$ 烷基、杂芳基或 C_{6-14} -芳基。

[0073] 根据另一个实施方案,式 I、IA、和 IB 中的 R^6 为  和 R^{14a} 为 C_{1-6} -烷基、卤化的 C_{1-6} -烷基、 C_{1-6} -烷基-CO-、-S(O)₀₋₂ C_{1-4} 烷基、杂芳基或 C_{6-14} -芳基。

[0074] 根据另一个实施方案,式 I、IA、和 IB 中的 R^6 为  和 R^{14a} 为甲基、乙基、丙基

或异丙基。

[0075] 根据另一个实施方案,在式 I、或 IB 中, R^6 为在 4-位被以下取代基取代的环己基: OH、 C_{1-6} -烷基、或 C_{1-6} -烷氧基,其中所述 4-取代基处于氨基的反式位置上。

[0076] 根据另一个实施方案,在式 I 或 IB 中, R^6 为在 4-位被以下取代基取代的环己基: OH、 C_{1-6} -烷基、或 C_{1-6} -烷氧基,其中所述 4-取代基处于氨基的反式位置上,并且 R^5 为环己基,其为未被取代的或在 4-位被以下取代基取代: OH、卤素、 C_{1-6} -烷基、卤化的 C_{1-6} -烷基、 C_{1-6} -烷氧基、卤化的 C_{1-6} -烷氧基、氰基、硝基、-NH₂、-NH(C_{1-4} 烷基)、或 -N(C_{1-4} 烷基)₂,其中所述 4-位取代基处于羰基的反式位置上。

[0077] 根据本发明的优选实施方案,本发明的化合物选自式 (IB) 的化合物及其药学上可接受的盐,其中:

[0078] R^1 为 C_{1-6} 烷基或 C_{3-6} 环烷基,其在每种情况中为未被取代的或被以下取代基取代一次或多次: -NH₂、NHCH₃、N(CH₃)₂、或羟基;

[0079] R^5 为环己基,其为未被取代的或被以下取代基取代一次或多次: OH、 C_{1-4} -烷基、和/或 C_{1-4} -烷氧基;

[0080] R^6 为环己基,其被以下取代基取代一次或多次: OH、Hal (例如, F)、 C_{1-4} -烷氧基、 C_{1-4} -烷基、 C_{1-4} -烷基-CO-NH-、 C_{1-4} -烷基-CO-N(C_{1-4} -烷基)-、或三唑基;

[0081] Y 为 COOR⁷;和

[0082] R^7 为 H、 C_{1-12} 烷基或 C_{6-14} 芳基。

[0083] 根据本发明的优选实施方案,本发明的化合物选自式 (IB) 的化合物及其药学上可接受的盐,其中:

[0084] R^1 为 C_{1-6} 烷基或 C_{3-6} 环烷基;

[0085] R^5 为环己基,其为未被取代的或被以下取代基取代一次或多次: OH、 C_{1-4} -烷基、和/或 C_{1-4} -烷氧基;

[0086] R^6 为环己基,其被以下取代基取代一次或多次: OH、Hal (例如, F)、 C_{1-4} -烷氧基、 C_{1-4} -烷基、 C_{1-4} -烷基-CO-NH-、 C_{1-4} -烷基-CO-N(C_{1-4} -烷基)-、或三唑基;

[0087] Y 为 COOR⁷;和

[0088] R^7 为 H、 C_{1-12} 烷基或 C_{6-14} 芳基。

[0089] 根据本发明的另一个优选实施方案,本发明的化合物选自式 (IB) 的化合物及其

药上可接受的盐,其中:

[0090] R^1 为 C_{1-6} 烷基,其为未被取代的或被以下取代基取代一次或多次: $-NH_2$ 、 $NHCH_3$ 、 $N(CH_3)_2$ 、或羟基;

[0091] R^5 为环己基,其为未被取代的或在 4- 位被以下取代基取代: OH 、 C_{1-4} - 烷基、和 / 或 C_{1-4} - 烷氧基;

[0092] R^6 为在 4- 位被以下取代基取代的环己基: OH 、 Hal (例如, F)、 C_{1-4} - 烷氧基、 C_{1-4} - 烷基、 C_{1-4} - 烷基 $-CO-NH-$ 、 C_{1-4} - 烷基 $-CO-N(C_{1-4}$ - 烷基)-、或三唑基;

[0093] Y 为 $COOR^7$;和

[0094] R^7 为 H 、 C_{1-12} 烷基或 C_{6-14} 芳基。

[0095] 根据本发明的另一个优选实施方案,本发明的化合物选自式 (IB) 的化合物及其药上可接受的盐,其中:

[0096] R^1 为 C_{1-6} 烷基,其为未被取代的或被以下取代基取代一次或多次: $-NH_2$ 、 $NHCH_3$ 、 $N(CH_3)_2$ 、或羟基;

[0097] R^5 为环己基,其为未被取代的或在 4- 位被以下取代基取代: OH 、 C_{1-4} - 烷基、和 / 或 C_{1-4} - 烷氧基;

[0098] R^6 为在 4- 位被以下取代基取代的环己基: OH 、 Hal (例如, F)、 C_{1-4} - 烷氧基、 C_{1-4} - 烷基、 C_{1-4} - 烷基 $-CO-NH-$ 、 C_{1-4} - 烷基 $-CO-N(C_{1-4}$ - 烷基)-、或三唑基;

[0099] Y 为 $COOR^7$;和

[0100] R^7 为 H 、 C_{1-12} 烷基或 C_{6-14} 芳基。

[0101] 根据本发明的另一个优选实施方案,本发明的化合物选自式 (IB) 的化合物及其药上可接受的盐,其中:

[0102] R^1 为 C_{1-6} 烷基,其为未被取代的或被以下取代基取代一次或多次: $-NH_2$ 、 $NHCH_3$ 、 $N(CH_3)_2$ 、或羟基;

[0103] R^5 为环己基,其为未被取代的或被以下取代基取代一次或多次: OH 、 C_{1-4} - 烷基、或 C_{1-4} - 烷氧基;

[0104] R^6 为环己基,其被以下取代基取代一次或多次: OH 、 F 、 C_{1-4} - 烷氧基、 C_{1-4} - 烷基、或卤化的 C_{1-4} - 烷基;

[0105] Y 为 $COOR^7$;和

[0106] R^7 为 H 或 C_{1-4} 烷基。

[0107] 根据本发明的另一个优选实施方案,本发明的化合物选自式 (IB) 的化合物及其药上可接受的盐,其中:

[0108] R^1 为 C_{1-6} 烷基;

[0109] R^5 为环己基,其为未被取代的或被以下取代基取代一次或多次: OH 、 C_{1-4} - 烷基、或 C_{1-4} - 烷氧基;

[0110] R^6 为环己基,其被以下取代基取代一次或多次: OH 、 F 、 C_{1-4} - 烷氧基、或 C_{1-4} - 烷基;

[0111] Y 为 $COOR^7$;和

[0112] R^7 为 H 或 C_{1-4} 烷基。

[0113] 根据本发明的另一个优选实施方案,本发明的化合物选自式 (IB) 的化合物及其药上可接受的盐,其中:

[0114] R^1 为 C_{1-6} 烷基或 C_{3-6} 环烷基,其在每种情况中为未被取代的或被以下取代基取代一次或多次: $-NH_2$ 、 $NHCH_3$ 、 $N(CH_3)_2$ 、或羟基;

[0115] R^5 为环己基,其为未被取代的或被以下取代基取代一次或多次: OH 、 C_{1-4} -烷基、或 C_{1-4} -烷氧基;

[0116] R^6 为环己基,其被以下取代基取代一次或多次: OH 、 F 、 C_{1-4} -烷氧基、或 C_{1-4} -烷基;

[0117] Y 为 $COOR^7$;和

[0118] R^7 为 H 或 C_{1-4} 烷基。

[0119] 根据本发明的另一个优选实施方案,本发明的化合物选自式 (IB) 的化合物及其药学上可接受的盐,其中:

[0120] R^1 为 C_{1-6} 烷基或 C_{3-6} 环烷基;

[0121] R^5 为环己基,其为未被取代的或被以下取代基取代一次或多次: OH 、 C_{1-4} -烷基、或 C_{1-4} -烷氧基;

[0122] R^6 为环己基,其被以下取代基取代一次或多次: OH 、 F 、 C_{1-4} -烷氧基、或 C_{1-4} -烷基;

[0123] Y 为 $COOR^7$;和

[0124] R^7 为 H 或 C_{1-4} 烷基。

[0125] 根据本发明的另一个优选实施方案,本发明的化合物选自式 (IB) 的化合物及其药学上可接受的盐,其中:

[0126] R^1 为甲基、乙基、丙基、异丙基、丁基、仲-丁基、叔-丁基、环丙基、环丁基、环戊基、或环己基,其在每种情况中为未被取代的或被以下取代基取代一次或多次: $-NH_2$ 、 $NHCH_3$ 、 $N(CH_3)_2$ 、或羟基;

[0127] R^5 为环己基,其为未被取代的或被以下取代基取代一次或多次: OH 、 C_{1-4} -烷基、或 C_{1-4} -烷氧基;

[0128] R^6 为环己基,其被以下取代基取代一次或多次: OH 、 F 、 C_{1-4} -烷氧基、 C_{1-4} -烷基、或卤化的 C_{1-4} -烷基;

[0129] Y 为 $COOR^7$;和

[0130] R^7 为 H 或 C_{1-4} 烷基。

[0131] 根据本发明的另一个优选实施方案,本发明的化合物选自式 (IB) 的化合物及其药学上可接受的盐,其中:

[0132] R^1 为甲基、乙基、丙基、异丙基、丁基、仲-丁基、叔-丁基、环丙基、环丁基、环戊基、或环己基;

[0133] R^5 为环己基,其为未被取代的或被以下取代基取代一次或多次: OH 、 C_{1-4} -烷基、或 C_{1-4} -烷氧基;

[0134] R^6 为环己基,其被以下取代基取代一次或多次: OH 、 F 、 C_{1-4} -烷氧基、 C_{1-4} -烷基、或卤化的 C_{1-4} -烷基;

[0135] Y 为 $COOR^7$;和

[0136] R^7 为 H 或 C_{1-4} 烷基。

[0137] 根据本发明的另一个优选实施方案,本发明的化合物选自式 (IB) 的化合物及其药学上可接受的盐,其中:

[0138] R^1 为甲基、乙基、丙基、异丙基、丁基、仲-丁基、叔-丁基、环丙基、环丁基、环戊

基、或环己基,其在每种情况中为未被取代的或被以下取代基取代一次或多次: $-\text{NH}_2$ 、 NHCH_3 、 $\text{N}(\text{CH}_3)_2$ 、或羟基 $-\text{NH}_2$ 、 NHCH_3 、 $\text{N}(\text{CH}_3)_2$ 、或羟基;

[0139] R^5 为环己基,其为未被取代的或被以下取代基取代一次或多次: OH 、 C_{1-4} -烷基、或 C_{1-4} -烷氧基;

[0140] R^6 为环己基,其被以下取代基取代一次或多次: OH 、 F 、 C_{1-4} -烷氧基、 C_{1-4} -烷基、或卤化的 C_{1-4} -烷基;

[0141] Y 为 COOH 。

[0142] 根据本发明的另一个优选实施方案,本发明的化合物选自式 (IB) 的化合物及其药学上可接受的盐,其中:

[0143] R^1 为甲基、乙基、丙基、异丙基、丁基、仲-丁基、叔-丁基、环丙基、环丁基、环戊基、或环己基;

[0144] R^5 为环己基,其为未被取代的或被以下取代基取代一次或多次: OH 、 C_{1-4} -烷基、或 C_{1-4} -烷氧基;

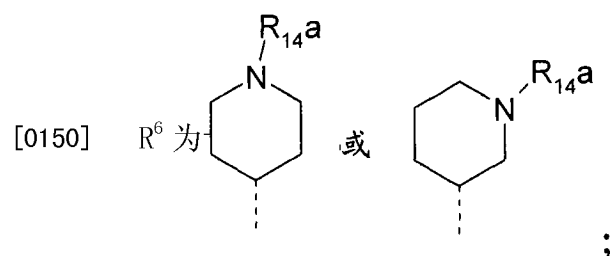
[0145] R^6 为环己基,其被以下取代基取代一次或多次: OH 、 F 、 C_{1-4} -烷氧基、 C_{1-4} -烷基、或卤化的 C_{1-4} -烷基;

[0146] Y 为 COOH 。

[0147] 根据本发明的另一个优选实施方案,本发明的化合物选自式 (IB) 的化合物及其药学上可接受的盐,其中:

[0148] R^1 为 C_{1-6} 烷基或 C_{3-6} 环烷基,其在每种情况中为未被取代的或被以下取代基取代一次或多次: $-\text{NH}_2$ 、 NHCH_3 、 $\text{N}(\text{CH}_3)_2$ 、或羟基;

[0149] R^5 为环己基,其为未被取代的或被以下取代基取代一次或多次: OH 、 C_{1-4} -烷基、和/或 C_{1-4} -烷氧基;



[0151] R^{14a} 为 C_{1-6} -烷基、卤化的 C_{1-6} -烷基、 C_{1-6} -烷基 $-\text{CO}-$ 、 $-\text{S}(\text{O})_{0-2}\text{C}_{1-4}$ 烷基、杂芳基或 C_{6-14} -芳基;

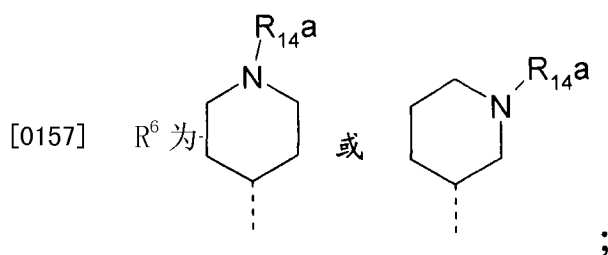
[0152] Y 为 COOR^7 ;和

[0153] R^7 为 H 、 C_{1-12} 烷基或 C_{6-14} 芳基。

[0154] 根据本发明的另一个优选实施方案,本发明的化合物选自式 (IB) 的化合物及其药学上可接受的盐,其中:

[0155] R^1 为 C_{1-6} 烷基或 C_{3-6} 环烷基;

[0156] R^5 为环己基,其为未被取代的或被以下取代基取代一次或多次: OH 、 C_{1-4} -烷基、和/或 C_{1-4} -烷氧基;



[0158] R^{14a} 为 C_{1-6} -烷基、卤化的 C_{1-6} -烷基、 C_{1-6} -烷基 $-CO-$ 、 $-S(O)_{0-2}C_{1-4}$ 烷基、杂芳基或 C_{6-14} -芳基；

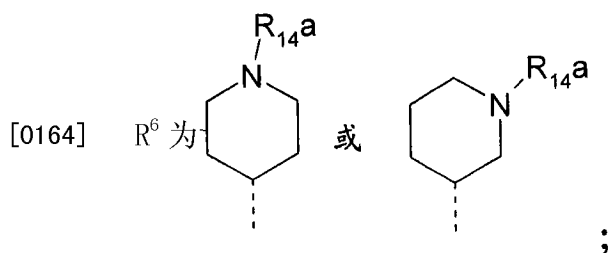
[0159] Y 为 $COOR^7$ ；和

[0160] R^7 为 H 、 C_{1-12} 烷基或 C_{6-14} 芳基。

[0161] 根据本发明的另一个优选实施方案，本发明的化合物选自式 (IB) 的化合物及其药学上可接受的盐，其中：

[0162] R^1 为 C_{1-6} 烷基或 C_{3-6} 环烷基，其在每种情况中为未被取代的或被以下取代基取代一次或多次： $-NH_2$ 、 $NHCH_3$ 、 $N(CH_3)_2$ 、或羟基；

[0163] R^5 为环己基，其为未被取代的或被以下取代基取代一次或多次： OH 、 C_{1-4} -烷基、和/或 C_{1-4} -烷氧基；



[0165] R^{14a} 为 C_{1-6} -烷基或卤化的 C_{1-6} -烷基；

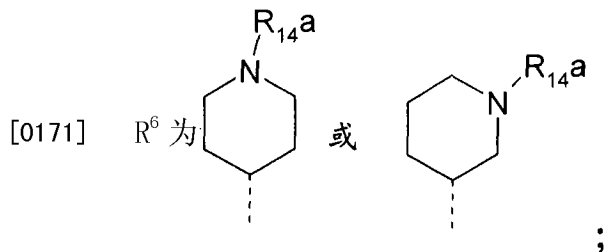
[0166] Y 为 $COOR^7$ ；和

[0167] R^7 为 H 、 C_{1-12} 烷基或 C_{6-14} 芳基。

[0168] 根据本发明的另一个优选实施方案，本发明的化合物选自式 (IB) 的化合物及其药学上可接受的盐，其中：

[0169] R^1 为 C_{1-6} 烷基或 C_{3-6} 环烷基；

[0170] R^5 为环己基，其为未被取代的或被以下取代基取代一次或多次： OH 、 C_{1-4} -烷基、和/或 C_{1-4} -烷氧基；



[0172] R^{14a} 为 C_{1-6} -烷基或卤化的 C_{1-6} -烷基；

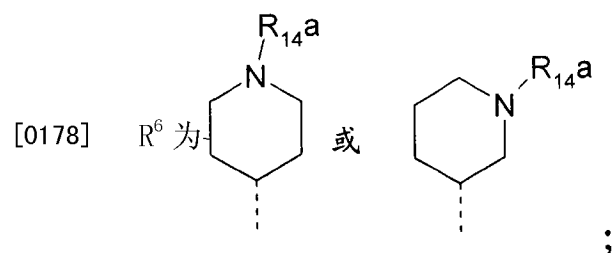
[0173] Y 为 $COOR^7$ ；和

[0174] R^7 为 H 、 C_{1-12} 烷基或 C_{6-14} 芳基。

[0175] 根据本发明的另一个优选实施方案，本发明的化合物选自式 (IB) 的化合物及其药学上可接受的盐，其中：

[0176] R^1 为 C_{1-6} 烷基或 C_{3-6} 环烷基,其在每种情况中为未被取代的或被以下取代基取代一次或多次: $-NH_2$ 、 $NHCH_3$ 、 $N(CH_3)_2$ 、或羟基;

[0177] R^5 为环己基,其为未被取代的或被以下取代基取代一次或多次: OH 、 C_{1-4} -烷基、和/或 C_{1-4} -烷氧基;



[0179] R^{14a} 为 C_{1-6} -烷基;

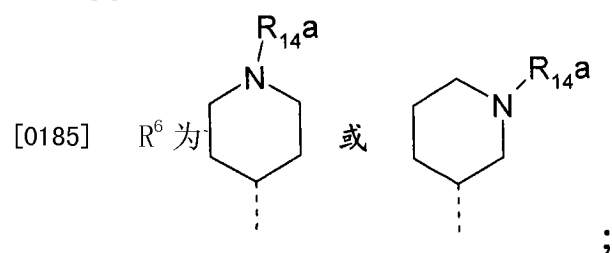
[0180] Y 为 $COOR^7$;和

[0181] R^7 为 H 、 C_{1-12} 烷基或 C_{6-14} 芳基。

[0182] 根据本发明的另一个优选实施方案,本发明的化合物选自式 (IB) 的化合物及其药学上可接受的盐,其中:

[0183] R^1 为 C_{1-6} 烷基或 C_{3-6} 环烷基;

[0184] R^5 为环己基,其为未被取代的或被以下取代基取代一次或多次: OH 、 C_{1-4} -烷基、和/或 C_{1-4} -烷氧基;



[0186] R^{14a} 为 C_{1-6} -烷基;

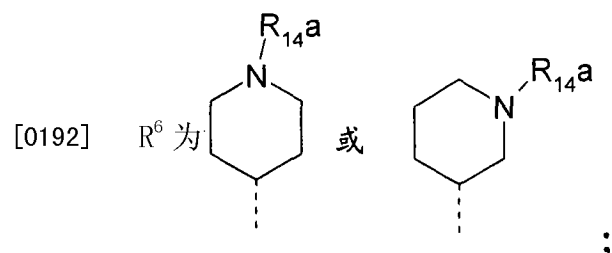
[0187] Y 为 $COOR^7$;和

[0188] R^7 为 H 、 C_{1-12} 烷基或 C_{6-14} 芳基。

[0189] 根据本发明的另一个优选实施方案,本发明的化合物选自式 (IB) 的化合物及其药学上可接受的盐,其中:

[0190] R^1 为 C_{1-6} 烷基或 C_{3-6} 环烷基,其在每种情况中为未被取代的或被以下取代基取代一次或多次: $-NH_2$ 、 $NHCH_3$ 、 $N(CH_3)_2$ 、或羟基;

[0191] R^5 为环己基,其为未被取代的或被以下取代基取代一次或多次: OH 、 C_{1-4} -烷基、和/或 C_{1-4} -烷氧基;



[0193] R^{14a} 为甲基、乙基、丙基、异丙基、丁基、仲-丁基、叔-丁基;

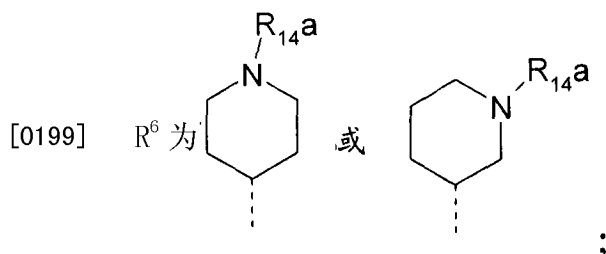
[0194] Y 为 $COOR^7$;和

[0195] R^7 为 H、 C_{1-12} 烷基或 C_{6-14} 芳基。

[0196] 根据本发明的另一个优选实施方案,本发明的化合物选自式 (IB) 的化合物及其药学上可接受的盐,其中:

[0197] R^1 为 C_{1-6} 烷基或 C_{3-6} 环烷基;

[0198] R^5 为环己基,其为未被取代的或被以下取代基取代一次或多次:OH、 C_{1-4} -烷基、和/或 C_{1-4} -烷氧基;



[0200] R^{14a} 为甲基、乙基、丙基、异丙基、丁基、仲-丁基、叔-丁基;

[0201] Y 为 $COOR^7$;和

[0202] R^7 为 H、 C_{1-12} 烷基或 C_{6-14} 芳基。

[0203] 根据本发明的一个方面,本发明的化合物选自以下化合物:

[0204] 5-(3,3-二甲基-丁-1-炔基)-3-[(反式4-羟基-环己基)-(反式4-甲基-环己烷羰基)-氨基]-噻吩-2-甲酸;

[0205] 5-(3,3-二甲基-丁-1-炔基)-3-[(反式4-甲氧基-环己基)-(反式4-甲基-环己烷羰基)-氨基]-噻吩-2-甲酸;

[0206] 5-(3,3-二甲基-丁-1-炔基)-3-[(反式4-甲基-环己烷羰基)-(顺式-4-[1,2,4]三唑-1-基-环己基)-氨基]-噻吩-2-甲酸;

[0207] 5-(3,3-二甲基-丁-1-炔基)-3-[(反式4-甲基-环己烷羰基)-(反式4-[1,2,4]三唑-1-基-环己基)-氨基]-噻吩-2-甲酸;

[0208] 5-(3,3-二甲基-丁-1-炔基)-3-[(顺式-4-羟基-环己基)-(反式4-甲基-环己烷羰基)-氨基]-噻吩-2-甲酸;

[0209] 5-(3,3-二甲基-丁-1-炔基)-3-[(反式4-甲基-环己烷羰基)-(1-甲基-哌啶-4-基)-氨基]-噻吩-2-甲酸;盐酸盐;

[0210] 5-(3,3-二甲基-丁-1-炔基)-3-[(反式4-甲基-环己烷羰基)-(4-顺式-[1,2,3]三唑-1-基-环己基)-氨基]-噻吩-2-甲酸

[0211] 5-(3,3-二甲基-丁-1-炔基)-3-[(反式4-甲基-环己烷羰基)-(反式4-[1,2,3]三唑-1-基-环己基)-氨基]-噻吩-2-甲酸;和

[0212] 5-(3,3-二甲基-丁-1-炔基)-3-[(反式4-氟-环己基)-(反式4-甲基-环己烷羰基)-氨基]-噻吩-2-甲酸。

[0213] 在一个实施方案中,本发明提供药物组合物,所述药物组合物包含至少一种本文中所述的本发明的化合物以及至少一种药学上可接受的载体或赋形剂。

[0214] 在一个实施方案中,本发明提供药物组合物,所述药物组合物包含至少一种本文中所述的本发明的化合物以及至少一种本文中所述的本发明的化合物,并且另外包含给予至少一种另外的药剂,所述另外的药剂选自病毒的丝氨酸蛋白酶抑制剂、病毒聚合酶抑制剂、病毒解旋酶抑制剂、免疫调节剂、抗氧化剂、抗菌剂、治疗性疫苗、肝脏保护剂、反义药

物、HCV NS2/3 蛋白酶的抑制剂和内部核糖体进入位点 (IRES) 的抑制剂。

[0215] 在另一个实施方案中, 提供了一种组合, 其包含至少一种本文中所述的本发明的化合物和一种或多种另外的药剂, 所述另外的药剂选自病毒丝氨酸蛋白酶抑制剂、病毒聚合酶抑制剂、病毒解旋酶抑制剂、免疫调节剂、抗氧化剂、抗菌剂、治疗性疫苗、肝脏保护药、反义药物、HCV NS2/3 蛋白酶的抑制剂和内部核糖体进入位点 (IRES) 的抑制剂。

[0216] 在一个组合实施方案中, 将所述化合物和另外的药剂依次给予。

[0217] 在另一个组合实施方案中, 将所述化合物和另外的药剂同时给予。

[0218] 上述的联合治疗可以方便地提供为以药物制剂形式使用, 因此, 包含上述定义的组合以及药学上可接受的载体的药物制剂构成本发明的另一个方面。

[0219] 用于组合物和组合的另外的药剂包括例如利巴韦林、金刚烷胺、美泊地布、Levovirin、Viramidine、和二盐酸组胺。

[0220] 本文中使用的术语“病毒丝氨酸蛋白酶抑制剂”是指有效抑制哺乳动物的包括 HCV 丝氨酸蛋白酶在内的病毒丝氨酸蛋白酶的功能的试剂。HCV 丝氨酸蛋白酶的抑制剂包括例如在 W099/07733 (Boehringer Ingelheim)、W0 99/07734 (Boehringer Ingelheim)、W0 00/09558 (Boehringer Ingelheim)、W000/09543 (Boehringer Ingelheim)、W0 00/59929 (Boehringer Ingelheim)、W0 02/060926 (BMS)、W0 2006039488 (Vertex)、W02005077969 (Vertex)、W0 2005035525 (Vertex)、W02005028502 (Vertex)、W0 2005007681 (Vertex)、W02004092162 (Vertex)、W0 2004092161 (Vertex)、W02003035060 (Vertex)、W0 03/087092 (Vertex)、W002/18369 (Vertex)、或 W098/17679 (Vertex) 中描述的那些化合物。

[0221] 本文中使用的术语“病毒聚合酶抑制剂”是指有效抑制哺乳动物的包括 HCV 聚合酶在内的病毒聚合酶的功能的试剂。HCV 聚合酶的抑制剂包括非核苷类, 例如在以下专利申请中描述的那些化合物:

[0222] W0 03/010140 (Boehringer Ingelheim)、W0 03/026587 (Bristol Myers Squibb); W0 02/100846 A1、W0 02/100851 A2、W0 01/85172A1 (GSK)、W0 02/098424 A1 (GSK)、W0 00/06529 (Merck)、W002/06246 A1 (Merck)、W0 01/47883 (Japan Tobacco)、W003/000254 (Japan Tobacco) 和 EP 1 256 628 A2 (Agouron)。

[0223] 此外, HCV 聚合酶的其他抑制剂还包括核苷类似物, 例如在 W001/90121 A2 (Idenix)、W0 02/069903 A2 (Biocryst Pharmaceuticals Inc.)、和 W0 02/057287 A2 (Merck/Isis) 和 W0 02/057425A2 (Merck/Isis) 中描述的那些化合物。

[0224] HCV 聚合酶的核苷类抑制剂的具体实例包括 R1626/R1479 (Roche)、R7128 (Roche)、MK-0608 (Merck)、R1656, (Roche-Pharmasset) 和伐洛他滨 (Idenix)。

[0225] HCV 聚合酶的抑制剂的具体实例包括 JTK-002/003 和 JTK-109 (Japan Tobacco)、HCV-796 (Viropharma)、GS-9190 (Gilead)、和 PF-868,554 (Pfizer)。

[0226] 本文中使用的术语“病毒解旋酶抑制剂”是指有效抑制哺乳动物的包括黄病毒科解旋酶在内的病毒解旋酶的功能的试剂。

[0227] 本文中使用的“免疫调节剂”是指有效增加或加强哺乳动物的免疫系统反应的那些试剂。免疫调节剂包括例如第 I 类干扰素 (例如 α -、 β -、 δ - 和 Ω -干扰素、 τ -干扰素、共有干扰素和脱唾液酸干扰素 (asialo-interferons)), 第 II 类干扰素 (例如, γ -干

扰素)和聚乙二醇化的干扰素。

[0228] 本文中使用的术语“第 I 类干扰素”是指选自全部结合于 I 型受体的干扰素组的干扰素。其包括天然产生的和合成产生的第 I 类干扰素。第 I 类干扰素的实例包括 α -、 β -、 δ -和 Ω -干扰素、 τ -干扰素、共有干扰素和脱唾液酸-干扰素。本文中使用的术语“第 II 类干扰素”是指选自全部结合于 II 型受体的干扰素组的干扰素。第 II 类干扰素的实例包括 γ -干扰素。

[0229] 反义药物包括例如 ISIS-14803。

[0230] HCV NS3 蛋白酶的抑制剂的具体实例包括 BILN-2061 (Boehringer Ingelheim) SCH-6 和 SCH-503034/Boceprevir (Schering-Plough)、VX-950/替拉瑞韦 (Vertex) 和 ITMN-B (InterMune)、GS9132 (Gilead)、TMC-435350 (Tibotec/Medivir)、ITMN-191 (InterMune)、MK-7009 (Merck)。

[0231] 内部核糖体进入位点 (IRES) 的抑制剂包括 ISIS-14803 (ISIS Pharmaceuticals) 和在 WO 2006019831 (PTC therapeutics) 中描述的那些化合物。

[0232] 在一个实施方案中,所述另外的药剂为干扰素 α 、利巴韦林、水飞蓟、白细胞介素-12、金刚烷胺、核糖酶、胸腺素、N-乙酰半胱氨酸或环孢菌素。

[0233] 在一个实施方案中,所述另外的药剂为干扰素 α 1A、干扰素 α 1B、干扰素 α 2A、或干扰素 α 2B。

[0234] 干扰素可以聚乙二醇化的和非聚乙二醇化的形式利用。聚乙二醇化的干扰素包括 PEGASYS[™] 和 Peg-intron[™]。

[0235] 用于慢性丙型肝炎的 PEGASYS[™] 单治疗的推荐剂量为 180mg (1.0mL 小瓶或 0.5mL 预装填的注射器),通过在腹部或大腿的皮下给药每周一次,持续 48 周。

[0236] 在与利巴韦林联合用于慢性丙型肝炎时,推荐的 PEGASYS[™] 的剂量为 180mg (1.0mL 小瓶或 0.5mL 预装填的注射器),每周一次。

[0237] 利巴韦林的日剂量为 800mg 到 1200mg,作为两个分开的剂量口服给予。剂量应该个体化给予患者,根据基线疾病特征(例如,基因型)、对治疗的反应、和治疗方案的耐受性。

[0238] 推荐的 PEG-Intron[™] 方案的剂量为皮下给予 1.0mg/kg/周,持续一年。所述剂量应该在一周中的同一天内给予。

[0239] 在与利巴韦林联合给予时,PEG-Intron 的推荐剂量为 1.5 微克/kg/周。

[0240] 在一个实施方案中,病毒丝氨酸蛋白酶抑制剂为黄病毒科丝氨酸蛋白酶抑制剂。

[0241] 在一个实施方案中,病毒聚合酶抑制剂为黄病毒科聚合酶抑制剂。

[0242] 在一个实施方案中,病毒解旋酶抑制剂为黄病毒科解旋酶抑制剂。

[0243] 在另外的实施方案中:

[0244] 病毒丝氨酸蛋白酶抑制剂为 HCV 丝氨酸蛋白酶抑制剂;

[0245] 病毒聚合酶抑制剂为 HCV 聚合酶抑制剂;

[0246] 病毒解旋酶抑制剂为 HCV 解旋酶抑制剂。

[0247] 在一个实施方案中,本发明提供用于治疗或预防宿主的黄病毒科病毒感染的方法,该方法包括对所述宿主给予治疗上有效量的至少一种式 I 的化合物。

[0248] 在一个实施方案中,所述病毒感染选自黄病毒属感染。

[0249] 在一个实施方案中,所述黄病毒属感染为丙型肝炎病毒 (HCV)、牛病毒性腹泻病毒 (BVDV)、猪瘟疫病毒、登革热病毒、日本脑炎病毒或黄热病毒。

[0250] 在一个实施方案中,所述黄病毒属病毒感染为丙型肝炎病毒感染 (HCV)。

[0251] 在一个实施方案中,本发明提供用于治疗或预防宿主的黄病毒科病毒感染的方法,所述方法包括对所述宿主给予治疗上有效量的至少一种本文中所述的本发明的化合物,并且另外包括给予至少一种另外的药剂,所述另外的药剂选自病毒丝氨酸蛋白酶抑制剂、病毒聚合酶抑制剂、病毒解旋酶抑制剂、免疫调节剂、抗氧化剂、抗菌剂、治疗性疫苗、肝脏保护剂、反义药物、HCV NS2/3 蛋白酶的抑制剂和内部核糖体进入位点 (IRES) 的抑制剂。

[0252] 在一个实施方案中,提供了用于抑制或降低宿主的病毒聚合酶的活性的方法,该方法包括给予治疗上有效量的本文中所述的本发明的化合物。

[0253] 在一个实施方案中,提供了用于抑制或降低宿主的病毒聚合酶的活性的方法,该方法包括给予治疗上有效量的本文中所述的本发明的化合物并且另外包括给予一种或多种病毒聚合酶抑制剂。

[0254] 在一个实施方案中,病毒聚合酶为黄病毒科病毒聚合酶。

[0255] 在一个实施方案中,病毒聚合酶为 RNA- 依赖性的 RNA- 聚合酶。

[0256] 在一个实施方案中,病毒聚合酶为 HCV 聚合酶。

[0257] 所述组合可以方便地提供为以药物制剂形式使用,因此,包含上述定义的组合以及药学上可接受的载体的药物制剂构成本发明的另一个方面。

[0258] 用于本发明的方法或用于本发明的组合的单独组分可以在单独的药物制剂或组合的药物制剂中依次或同时给予。

[0259] 在一个实施方案中,本发明提供本文中所述的本发明化合物用于治疗或预防宿主的黄病毒科病毒感染的用途。

[0260] 在一个实施方案中,本发明提供本文中所述的本发明化合物用于生产药物的用途,所述药物用于治疗或预防宿主的黄病毒科病毒感染。

[0261] 在一个实施方案中,本发明提供本文中所述的本发明化合物用于抑制或降低宿主的病毒聚合酶的活性的用途。

[0262] 本领域技术人员应该理解,本发明的化合物可以立体异构体的形式存在(例如光学异构体(+和-)、几何异构体(顺式和反式)和构象异构体(轴异构体和平面(equatorial)异构体)。所有这类立体异构体都被包括在本发明的范围内。

[0263] 本领域技术人员应该理解,本发明的化合物可以包含手性中心。因此,所述式的化合物可以以两种不同的光学异构体形式存在(即(+)或(-)对映异构体)。所有这类对映异构体及其混合物(包括外消旋混合物)都被包括在本发明范围内。单一的旋光异构体或对映异构体可以通过本领域中公知的方法得到,例如手性 HPLC、酶促拆分和手性助剂。

[0264] 在一个实施方案中,本发明的化合物以至少 95%、至少 97% 和至少 99% 的不含相应于对映异构体的单一对映异构体的形式提供。

[0265] 在另一个实施方案中,本发明的化合物为至少 95% 不含相应(-)对映异构体的(+)对映异构体形式。

[0266] 在另一个实施方案中,本发明的化合物为至少 97% 不含相应(-)对映异构体的

(+) 对映异构体形式。

[0267] 在另一个实施方案中,本发明的化合物为至少 99% 不含相应 (-) 对映异构体的 (+) 对映异构体的形式。

[0268] 在另一个实施方案中,本发明的化合物为至少 95% 不含相应 (+) 对映异构体的 (-) 对映异构体的形式。

[0269] 在另一个实施方案中,本发明的化合物为至少 97% 不含相应 (+) 对映异构体的 (-) 对映异构体的形式。

[0270] 在另一个实施方案中,本发明的化合物为至少 99% 不含相应 (+) 对映异构体的 (-) 对映异构体的形式。

[0271] 还提供了本发明化合物的药学上可接受的盐。术语化合物的药学上可接受的盐是指衍生自药学上可接受的无机和有机的酸和碱的那些盐。适合的酸的实例包括盐酸、氢溴酸、硫酸、硝酸、高氯酸、富马酸、马来酸、磷酸、乙醇酸、乳酸、水杨酸、琥珀酸、对甲苯磺酸、酒石酸、乙酸、三氟乙酸、柠檬酸、甲烷磺酸、甲酸、苯甲酸、丙二酸、萘-2-磺酸和苯磺酸。其它酸例如草酸,尽管本身不是药学上可接受的,但是其可以用作中间体来得到本发明的化合物及其药学上可接受的酸加成盐。

[0272] 还包括衍生自氨基酸(例如 L-精氨酸、L-赖氨酸)的盐。

[0273] 衍生自适合的碱的盐包括碱金属(例如,钠、锂、钾)盐、碱土金属(例如,钙、镁)盐、铵盐、 NR_4^+ (其中 R 为 C_{1-4} 烷基)盐/胆碱和氨基丁三醇。

[0274] 以下描述本发明的化合物时包括所述化合物及其药学上可接受的盐。

[0275] 在本发明的一个实施方案中,所述药学上可接受的盐为钠盐。

[0276] 在本发明的一个实施方案中,所述药学上可接受的盐为锂盐。

[0277] 在本发明的一个实施方案中,所述药学上可接受的盐为钾盐。

[0278] 在本发明的一个实施方案中,所述药学上可接受的盐为氨丁三醇盐。

[0279] 在本发明的一个实施方案中,所述药学上可接受的盐为 L-精氨酸盐。

[0280] 本领域技术人员应该理解,本发明的化合物可以以不同的多晶型存在。如本领域中已知的,多形性是化合物结晶成为大于一种不同的晶体或“多晶型”物质的能力。多晶型物是固体状态的具有化合物分子的至少两种不同排列或多晶型的化合物固体结晶相。任何已知化合物的多晶型由相同的化学式或组成限定,并且在化学结构上不同于两种不同化合物的晶体结构。

[0281] 本领域技术人员另外应该理解,本发明的化合物可以以不同的溶剂合物形式存在,例如水合物。本发明化合物的溶剂合物还可以在结晶工艺过程中通过溶剂分子被结合到化合物分子的晶格结构中而形成。

[0282] 除非另有说明,本文中所用的所有技术和科学术语具有与本发明所属技术领域技术人员通常理解的相同的含义。本文中提及的所有的出版物、专利申请、专利、和其它参考文献都通过引用被全文并入本文。在出现矛盾时,以本说明书(包括定义)为准。另外,所述的材料、方法和实例只是示例性的而不是限制性的。

[0283] 术语“烷基”表示直链、支链或环状的烃部分。术语“链烯基”和“炔基”表示在链中具有一个或多个双键或三键的直链、支链或环状的烃部分。烷基、链烯基、和炔基基团的实例包括但不限于甲基、乙基、丙基、异丙基、丁基、异丁基、仲-丁基、叔-丁基、戊基、异

戊基、新戊基、叔-戊基、己基、异己基、新己基、烯丙基、乙烯基、乙炔基、乙炔基、丙烯基、异丙烯基、丁烯基、异丁烯基、己烯基、丁二烯基、戊烯基、戊二烯基、己烯基、己二烯基、己三烯基、庚烯基、庚二烯基、庚三烯基、辛烯基、辛二烯基、辛三烯基、辛四烯基、丙炔基、丁炔基、戊炔基、己炔基、环丙基、环丁基、环己烯基、环己二烯基和环己基。“烷基”、“链烯基”和“炔基”在被显示时,可以任选地被取代,例如在卤代烷基的情况中,其中的一个或多个氢原子被卤素代替,例如,卤代烷。卤代烷基的实例包括但不限于三氟甲基、二氟甲基、氟甲基、三氯甲基、二氯甲基、氯甲基、三氟乙基、二氟乙基、氟乙基、三氯乙基、二氯乙基、氯乙基、氯氟甲基、氯二氟甲基、二氯氟乙基。除了卤素之外,烷基、链烯基或炔基基团在被显示时,还可以任选地被例如以下基团取代:氧代、 $-\text{NR}_d\text{R}_e$ 、 $-\text{CONR}_d\text{R}_e$ 、 $=\text{NO}-\text{R}_e$ 、 NR_dCOR_e 、羧基、 $-\text{C}(=\text{NR}_d)\text{NR}_e\text{R}_f$ 、叠氮基、氰基、 C_{1-6} 烷氧基、 C_{2-6} 链烯基氧基、 C_{2-6} 炔基氧基、 $-\text{N}(\text{R}_d)\text{C}(=\text{NR}_e)-\text{NR}_f\text{R}_g$ 、羟基、硝基、亚硝基、 $-\text{N}(\text{R}_h)\text{CONR}_i\text{R}_j$ 、 $\text{S}(\text{O})_{0-2}\text{R}_a$ 、 $\text{C}(\text{O})\text{R}_a$ 、 $\text{C}(\text{O})\text{OR}_a$ 、 $\text{NR}_a\text{C}(\text{O})\text{R}_b$ 、 $\text{SO}_2\text{NR}_a\text{R}_b$ 、 $\text{NR}_a\text{SO}_2\text{R}_b$ 、 $\text{NR}_a\text{SO}_2\text{NR}_b\text{R}_c$ 、 $\text{CR}_a\text{N}=\text{OR}_b$ 、和/或 NR_aCOOR_b , 其中 R_a-R_j 各自独立地为 H、 C_{1-4} 烷基、 C_{2-4} 链烯基或 C_{2-4} 炔基。

[0284] 术语“环烷基”、“和”环链烯基”分别表示环状烃的烷基或链烯基,并且意在包括单环(例如,环己基)、螺环(例如,螺[2.3]己基)、稠环(例如,双环[4.4.0]癸基)、和桥环(例如,双环[2.2.1]庚基)烃部分。

[0285] 术语“烷氧基”、“链烯基氧基”、“和”炔基氧基”分别表示通过氧原子共价结合于相邻原子的烷基、链烯基或炔基部分。与烷基、链烯基和炔基基团一样,所述烷氧基、链烯基氧基和炔基氧基基团在被显示时,也可以任选地被取代。实例包括但不限于甲氧基、乙氧基、丙氧基、异丙氧基、丁氧基、异丁氧基、仲-丁氧基、叔-丁氧基、戊基氧基、异戊基氧基、新戊基氧基、叔-戊基氧基、己基氧基、异己基氧基、三氟甲氧基和新己基氧基。所述烷氧基、链烯基氧基、和炔基氧基可以任选地被例如以下基团取代:卤素、氧代、 $-\text{NR}_d\text{R}_e$ 、 $-\text{CONR}_d\text{R}_e$ 、 $-\text{NR}_d\text{COR}_e$ 、羧基、 $-\text{C}(=\text{NR}_d)\text{NR}_e\text{R}_f$ 、叠氮基、氰基、 $-\text{N}(\text{R}_d)\text{C}(=\text{NR}_e)\text{NR}_f\text{R}_g$ 、羟基、硝基、亚硝基、 C_{1-6} 烷基、 C_{2-6} 链烯基、 C_{2-6} 炔基、 $-\text{N}(\text{R}_h)\text{CONR}_i\text{R}_j$ 、 $\text{S}(\text{O})_{0-2}\text{R}_a$ 、 $\text{C}(\text{O})\text{R}_a$ 、 $\text{C}(\text{O})\text{OR}_a$ 、 $=\text{NO}-\text{R}_e$ 、 $\text{NR}_a\text{C}(\text{O})\text{R}_b$ 、 $\text{SO}_2\text{NR}_a\text{R}_b$ 、 $\text{NR}_a\text{SO}_2\text{R}_b$ 、 $\text{NR}_a\text{SO}_2\text{NR}_b\text{R}_c$ 、 $\text{CR}_a\text{N}=\text{OR}_b$ 、和/或 NR_aCOOR_b , 其中 R_a-R_j 各自独立地为 H、 C_{1-4} 烷基、 C_{2-4} 链烯基或 C_{2-4} 炔基。

[0286] 术语“芳基”表示包含至少一个苯型环的(即,可以是单环的或多环的)碳环部分,并且在被显示时可以任选地被一个或多个取代基取代。实例包括但不限于苯基、甲基苯基、二甲基苯基、氨基苯基、苯胺基、萘基、蒽基、菲基或联苯基。所述芳基基团可以任选地被例如以下基团取代:卤素、 $-\text{NR}_d\text{R}_e$ 、 $-\text{CONR}_d\text{R}_e$ 、 $-\text{NR}_d\text{COR}_e$ 、羧基、 $-\text{C}(=\text{NR}_d)\text{NR}_e\text{R}_f$ 、叠氮基、氰基、 $-\text{N}(\text{R}_d)\text{C}(=\text{NR}_e)\text{NR}_f\text{R}_g$ 、羟基、硝基、亚硝基、 $-\text{N}(\text{R}_h)\text{CONR}_i\text{R}_j$ 、 C_{1-6} 烷基、 C_{2-6} 链烯基、 C_{2-6} 炔基、 C_{1-6} 烷基氧基、 C_{2-6} 链烯基氧基、 C_{2-6} 炔基氧基、 $\text{S}(\text{O})_{0-2}\text{R}_a$ 、任选被取代的 5-12 元杂芳基、任选被取代的 6-18 元杂芳烷基、任选被取代的 3-12 元杂环、任选被取代的 4-18 元杂环-烷基、 $\text{C}(\text{O})\text{R}_a$ 、 $\text{C}(\text{O})\text{OR}_a$ 、 $\text{NR}_a\text{C}(\text{O})\text{R}_b$ 、 $\text{SO}_2\text{NR}_a\text{R}_b$ 、 $\text{NR}_a\text{SO}_2\text{R}_b$ 、 $\text{NR}_a\text{SO}_2\text{NR}_b\text{R}_c$ 、 $\text{CR}_a\text{N}=\text{OR}_b$ 、和/或 NR_aCOOR_b , 其中 R_a-R_j 各自独立地为 H、 C_{1-4} 烷基、 C_{2-4} 链烯基或 C_{2-4} 炔基。

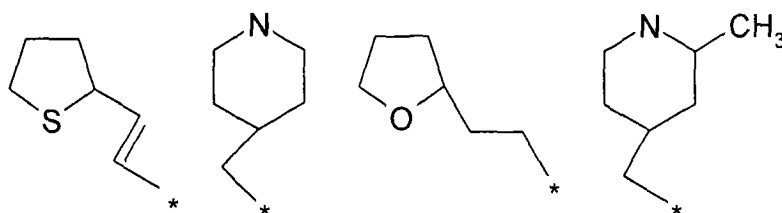
[0287] 术语“芳烷基”表示通过烷基、链烯基或炔基连接于相邻原子的芳基基团。与芳基基团一样,所述芳烷基在被显示时也可以任选地被取代。实例包括但不限于苄基、二苯甲基、三苯甲基、苯乙基、3-苯基丙基、2-苯基丙基、4-苯基丁基和萘基甲基。所述芳烷基基团在被显示时可以任选地被例如以下基团取代:卤素、 $-\text{NR}_d\text{R}_e$ 、 $-\text{CONR}_d\text{R}_e$ 、 $-\text{NR}_d\text{COR}_e$ 、羧基、 $-\text{C}(=$

$\text{NR}_d\text{NR}_e\text{R}_f$ 、叠氮基、氰基、 $-\text{N}(\text{R}_d)\text{C}(=\text{NR}_e)\text{NR}_f\text{R}_g$ 、羟基、硝基、亚硝基、 $-\text{N}(\text{R}_h)\text{CONR}_i\text{R}_j$ 、 C_{1-6} 烷基、 C_{2-6} 链烯基、 C_{2-6} 炔基、 C_{1-6} 烷基氧基、 C_{2-6} 链烯基氧基、 C_{2-6} 炔基氧基、 $\text{S}(\text{O})_{0-2}\text{R}_a$ 、任选被取代的 5-12 元杂芳基、任选被取代的 6-18 元杂芳烷基、任选被取代的 3-12 元杂环、任选被取代的 4-18 元杂环-烷基、 $\text{C}(\text{O})\text{R}_a$ 、 $\text{C}(\text{O})\text{OR}_a$ 、 $\text{NR}_a\text{C}(\text{O})\text{R}_b$ 、 $\text{SO}_2\text{NR}_a\text{R}_b$ 、 $\text{NR}_a\text{SO}_2\text{R}_b$ 、 $\text{NR}_a\text{SO}_2\text{NR}_b\text{R}_c$ 、 $\text{CR}_a\text{N}=\text{OR}_b$ 、和 / 或 NR_aCOOR_b ，其中 R_a-R_j 各自独立地为 H、 C_{1-4} 烷基、 C_{2-4} 链烯基或 C_{2-4} 炔基。

[0288] 术语“杂环”表示任选被取代的、非芳香族的、饱和或部分饱和的环状部分，其中所述环状部分插入至少一个选自氧 (O)、硫 (S) 或氮 (N) 的杂原子。杂环可以是单环的或多环的环。实例包括但不限于氮杂环丁基、二氧杂环戊基、吗啉基、吗啉代、氧杂环丁基、哌嗪基、哌啶基、哌啶子基、环戊二烯并吡唑基、环戊二烯并噁唑基、环戊二烯并呋喃基。在有说明时，所述杂环基团可以任选地被例如以下基团取代：卤素、氧代、 $-\text{NR}_d\text{R}_e$ 、 $-\text{CONR}_d\text{R}_e$ 、 $=\text{NO}-\text{R}_e$ 、 $-\text{NR}_d\text{COR}_e$ 、羧基、 $-\text{C}(=\text{NR}_d)\text{NR}_e\text{R}_f$ 、叠氮基、氰基、 $-\text{N}(\text{R}_d)\text{C}(=\text{NR}_e)\text{NR}_f\text{R}_g$ 、羟基、硝基、亚硝基、 $-\text{N}(\text{R}_h)\text{CONR}_i\text{R}_j$ 、 C_{1-6} 烷基、 C_{2-6} 链烯基、 C_{2-6} 炔基、 C_{7-12} 芳烷基、 C_{6-12} 芳基、 C_{1-6} 烷基氧基、 C_{2-6} 链烯基氧基、 C_{2-6} 炔基氧基、 $\text{S}(\text{O})_{0-2}\text{R}_a$ 、 C_{6-10} 芳基、 C_{6-10} 芳基氧基、 C_{7-10} 芳基烷基、 C_{6-10} 芳基- C_{1-10} 烷基氧基、 $\text{C}(\text{O})\text{R}_a$ 、 $\text{C}(\text{O})\text{OR}_a$ 、 $\text{NR}_a\text{C}(\text{O})\text{R}_b$ 、 $\text{SO}_2\text{NR}_a\text{R}_b$ 、 $\text{NR}_a\text{SO}_2\text{R}_b$ 、 $\text{NR}_a\text{SO}_2\text{NR}_b\text{R}_c$ 、 $\text{CR}_a\text{N}=\text{OR}_b$ 、和 / 或 NR_aCOOR_b ，其中 R_a-R_j 各自独立地为 H、 C_{1-4} 烷基、 C_{2-4} 链烯基或 C_{2-4} 炔基。

[0289] 术语“杂环-烷基”表示通过烷基、链烯基或炔基连接于相邻原子的任选被取代的杂环基团。应该理解，在 5-18 元杂环-烷基部分中，所述 5-18 元表示存在于杂环部分和所述烷基、链烯基或炔基基团中的原子总数。例如，以下基团被包括在 7 元杂环-烷基中 (* 表示连接点)：

[0290]



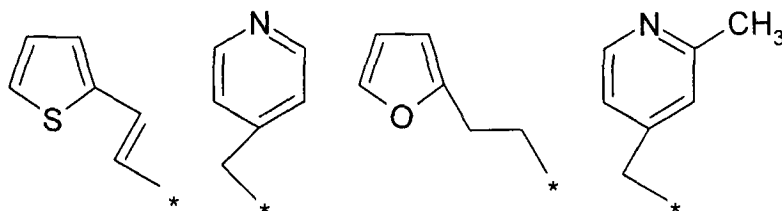
[0291] 所述杂环-烷基基团在被显示时可以任选地被例如以下基团取代：卤素、氧代、 $-\text{NR}_d\text{R}_e$ 、 $-\text{CONR}_d\text{R}_e$ 、 $-\text{NR}_d\text{COR}_e$ 、羧基、 $-\text{C}(=\text{NR}_d)\text{NR}_e\text{R}_f$ 、叠氮基、氰基、 $-\text{N}(\text{R}_d)\text{C}(=\text{NR}_e)\text{NR}_f\text{R}_g$ 、羟基、硝基、亚硝基、 $-\text{N}(\text{R}_h)\text{CONR}_i\text{R}_j$ 、 C_{1-6} 烷基、 C_{2-6} 链烯基、 C_{2-6} 炔基、 C_{1-6} 烷基氧基、 C_{2-6} 链烯基氧基、 C_{2-6} 炔基氧基、 $\text{S}(\text{O})_{0-2}\text{R}_a$ 、 C_{6-10} 芳基、 C_{6-10} 芳基氧基、 C_{7-10} 芳基烷基、 C_{6-10} 芳基- C_{1-10} 烷基氧基、 $\text{C}(\text{O})\text{R}_a$ 、 $\text{C}(\text{O})\text{OR}_a$ 、 $\text{NR}_a\text{C}(\text{O})\text{R}_b$ 、 $=\text{NO}-\text{R}_e$ 、 $\text{SO}_2\text{NR}_a\text{R}_b$ 、 $\text{NR}_a\text{SO}_2\text{R}_b$ 、 $\text{NR}_a\text{SO}_2\text{NR}_b\text{R}_c$ 、 $\text{CR}_a\text{N}=\text{OR}_b$ 、和 / 或 NR_aCOOR_b ，其中 R_a-R_j 各自独立地为 H、 C_{1-4} 烷基、 C_{2-4} 链烯基或 C_{2-4} 炔基。

[0292] 术语“杂芳基”表示任选被取代的芳香族环状部分，其中所述环状部分插入至少一个选自氧 (O)、硫 (S) 或氮 (N) 的杂原子。杂芳基可以是单环的或多环的环。实例包括但不限于氮杂^革基、氮杂环丙基、氮杂环丁二烯基 (azetyl)、二氮杂^革基、二噻二氮杂^革基、二氧杂氮杂^革基、二噻唑基、呋喃基、异噁唑基、异噻唑基、咪唑基、噁二唑基、环氧乙烷基、噁唑基、噁唑基、吡嗪基、吡嗪基、嘧啶基、吡啶基、吡喃基、吡唑基、吡咯基、吡咯烷基、噻三唑基、四唑基、噻二唑基、三唑基、噻唑基、噻吩基、四嗪基、噻二嗪基、三嗪基、噻嗪基、噻喃基、呋喃并异噁唑基、咪唑并噻唑基、噻吩并异噻唑基、噻吩并噻唑基、咪唑并吡唑基、吡咯并吡咯基、噻吩并噻吩基、噻二唑并嘧啶基、噻唑并噻嗪基、噻唑并嘧啶基、噻唑并吡啶基、

噁唑并嘧啶基、噁唑并吡啶基、苯并噁唑基 (benzoxathioly1)、苯并异噻唑基、苯并噻唑基、咪唑并吡嗪基、嘌呤基、吡唑并嘧啶基、咪唑并吡啶基、苯并咪唑基、吡唑基、苯并噁噻唑基、苯并二氧杂环戊烯基、苯并二硫杂环戊烯基 (benzodithioly1)、中氮茛基、二氢吡啶基、异二氢吡啶基、呋喃并嘧啶基、呋喃并吡啶基、苯并呋喃基、异苯并呋喃基、噻吩并嘧啶基、噻吩并吡啶基、苯并噻吩基、苯并噁噻基、苯并噻噻基、喹啉基、1,5-二氮杂萘基、喹啉基、异喹啉基、苯并吡喃基、吡啶并噻噻基和吡啶并嘧啶基。所述杂芳基基团在被显示时可以任选地被例如以下基团取代：卤素、 $-\text{NR}_d\text{R}_e$ 、 $-\text{CONR}_d\text{R}_e$ 、 $-\text{NR}_d\text{COR}_e$ 、羧基、 $-\text{C}(=\text{NR}_d)\text{NR}_e\text{R}_f$ 、叠氮基、氰基、 $-\text{N}(\text{R}_d)\text{C}(=\text{NR}_e)\text{NR}_f\text{R}_g$ 、羟基、硝基、亚硝基、 $-\text{N}(\text{R}_h)\text{CONR}_i\text{R}_j$ 、 C_{1-6} 烷基、 C_{2-6} 链烯基、 C_{2-6} 炔基、 C_{1-6} 烷基氧基、 C_{2-6} 链烯基氧基、 C_{2-6} 炔基氧基、 $\text{S}(\text{O})_{0-2}\text{R}_a$ 、 C_{6-10} 芳基、 C_{6-10} 芳基氧基、 C_{7-10} 芳基烷基、 C_{6-10} 芳基 $-\text{C}_{1-10}$ 烷基氧基、 $\text{C}(\text{O})\text{R}_a$ 、 $\text{C}(\text{O})\text{OR}_a$ 、 $\text{NR}_a\text{C}(\text{O})\text{R}_b$ 、 $\text{SO}_2\text{NR}_a\text{R}_b$ 、 $\text{NR}_a\text{SO}_2\text{R}_b$ 、 $\text{NR}_a\text{SO}_2\text{NR}_b\text{R}_c$ 、 $\text{CR}_a\text{N}=\text{OR}_b$ 、和 / 或 NR_aCOOR_b ，其中 R_a-R_j 各自独立地为 H、 C_{1-4} 烷基、 C_{2-4} 链烯基或 C_{2-4} 炔基。

[0293] 术语“杂芳烷基”表示通过烷基、链烯基或炔基连接于相邻原子的任选被取代的杂芳基。所述杂芳烷基基团被显示时可以任选地被例如以下基团取代：卤素、 $-\text{NR}_d\text{R}_e$ 、 $-\text{CONR}_d\text{R}_e$ 、 $-\text{NR}_d\text{COR}_e$ 、羧基、 $-\text{C}(=\text{NR}_d)\text{NR}_e\text{R}_f$ 、叠氮基、氰基、 $-\text{N}(\text{R}_d)\text{C}(=\text{NR}_e)\text{NR}_f\text{R}_g$ 、羟基、硝基、亚硝基、 $-\text{N}(\text{R}_h)\text{CONR}_i\text{R}_j$ 、 C_{1-6} 烷基、 C_{2-6} 链烯基、 C_{2-6} 炔基、 C_{1-6} 烷基氧基、 C_{2-6} 链烯基氧基、 C_{2-6} 炔基氧基、 $\text{S}(\text{O})_{0-2}\text{R}_a$ 、 C_{6-10} 芳基、 C_{6-10} 芳基氧基、 C_{7-10} 芳基烷基、 C_{6-10} 芳基 $-\text{C}_{1-10}$ 烷基氧基、 $\text{C}(\text{O})\text{R}_a$ 、 $\text{C}(\text{O})\text{OR}_a$ 、 $\text{NR}_a\text{C}(\text{O})\text{R}_b$ 、 $\text{SO}_2\text{NR}_a\text{R}_b$ 、 $\text{NR}_a\text{SO}_2\text{R}_b$ 、 $\text{NR}_a\text{SO}_2\text{NR}_b\text{R}_c$ 、 $\text{CR}_a\text{N}=\text{OR}_b$ 、和 / 或 NR_aCOOR_b ，其中 R_a-R_j 各自独立地为 H、 C_{1-4} 烷基、 C_{2-4} 链烯基或 C_{2-4} 炔基。应该理解，在 6-18 元杂芳烷基部分中，所述 6-18 元表示存在于杂环部分和所述烷基、链烯基或炔基基团中的原子总数。例如，以下基团被包括在 7 元杂芳烷基中 (* 表示连接点)：

[0294]



[0295] “卤素原子”具体地为氟原子、氯原子、溴原子或碘原子。

[0296] 术语“脒基”表示 $-\text{C}(=\text{NR}_d)\text{NR}_e\text{R}_f$ ，其中 R_d 、 R_e 和 R_f 各自独立地选自 H、 C_{1-10} 烷基、 C_{2-10} 链烯基、 C_{2-10} 炔基、 C_{6-12} 芳基和 C_{7-12} 芳烷基，或 R_e 和 R_f 与它们所连接的氮合起来形成任选被取代的 4-10 元杂环或任选被取代的 5-12 元杂芳基。

[0297] 术语“胍基”表示 $-\text{N}(\text{R}_d)\text{C}(=\text{NR}_e)\text{NR}_f\text{R}_g$ ，其中 R_d 、 R_e 、 R_f 和 R_g 各自独立地选自 H、 C_{1-10} 烷基、 C_{2-10} 链烯基、 C_{2-10} 炔基、 C_{6-12} 芳基和 C_{7-12} 芳烷基，或 R_f 和 R_g 与它们所连接的氮合起来形成任选被取代的 4-10 元杂环或任选被取代的 5-12 元杂芳基。

[0298] 术语“酰胺基”表示 $-\text{CONR}_d\text{R}_e$ 和 $-\text{NR}_d\text{COR}_e$ ，其中 R_d 和 R_e 各自独立地选自 H、 C_{1-10} 烷基、 C_{2-10} 链烯基、 C_{2-10} 炔基、 C_{6-12} 芳基和 C_{7-12} 芳烷基，或 R_d 和 R_e 与它们所连接的氮合起来（或在 $-\text{NR}_d\text{COR}_e$ 的情况中与氮原子和 CO 基团合起来）形成任选被取代的 4-10 元杂环或任选被取代的 5-12 元杂芳基。

[0299] 术语“氨基”表示通过置换一个或多个氢原子得到的氮的衍生物，包括 $-\text{NR}_d\text{R}_e$ ，其中 R_d 和 R_e 各自独立地选自 H、 C_{1-10} 烷基、 C_{2-10} 链烯基、 C_{2-10} 炔基、 C_{6-12} 芳基和 C_{7-12} 芳烷基、或 R_d

和 R_e 与它们所连接的氮合起来形成任选被取代的 4-10 元杂环或任选被取代的 5-12 元杂芳基。

[0300] 术语“磺酰胺基”表示 $SO_2NR_dR_e$ 、和 $-NR_dSO_2R_e$ ，其中 R_d 和 R_e 各自独立地选自 H、 C_{1-10} 烷基、 C_{2-10} 链烯基、 C_{2-10} 炔基、 C_{6-12} 芳基和 C_{7-12} 芳烷基、或 R_d 和 R_e 与它们所连接的氮合起来形成任选被取代的 4-10 元杂环或任选被取代的 5-12 元杂芳基。

[0301] 在存在有硫原子时，硫原子可以为不同的氧化水平，即，可以是 S、SO、或 SO_2 。所有这种氧化水平都在本发明的范围内。

[0302] 术语“独立地”是指对于每个项目而言，取代基可以具有相同或不同的定义。

[0303] 术语“宿主”或“患者”是指男性或女性的人，例如儿童、青少年或成年人。

[0304] 应该理解，用于治疗所需的本发明化合物的量不仅随所选择的特定化合物而不同，而且随给药途径、需要治疗的病况的性质以及患者的年龄和一般状况的不同而不同，并且最终由在场的医生或兽医决定。然而，通常，适合的剂量为每天约 0.1–约 750mg/kg 体重，例如为 0.5–60mg/kg/天，或者为例如 1–20mg/kg/天。

[0305] 所需剂量可以方便地作为单剂量存在或者作为以适当的间隔给予的单独的剂量存在，例如分为每天的两个、三个、四个或更多个剂量。

[0306] 化合物方便地以单位剂型给予，例如每个单位剂型包含 10–1500mg、方便地为 20–1000mg、最方便地为 50–700mg 的活性成分。

[0307] 理想地，所述活性成分应该通过给药实现约 1–约 75 μM 、约 2–50 μM 、约 3–约 30 μM 的活性化合物的峰血浆浓度。这可以通过例如静脉注射活性成分的 0.1–5% 溶液（可选地为盐水溶液）、或者口服给予包含约 1–约 500mg 活性成分的大丸剂来实现。可以通过用于提供约 0.01–约 5.0mg/kg/小时的连续输注或包含约 0.4–约 15mg/kg 活性成分的间歇输注来保持合乎需要的血液水平。

[0308] 在本发明的化合物或其药学上可接受的盐用于与具有针对相同病毒的活性的第二种治疗剂组合时，每种化合物的剂量可以与单独使用该化合物时相同或不同。适合的剂量是本领域技术人员容易地了解的。

[0309] 对于用于治疗而言，尽管本发明的化合物有可能作为未加工的化学品给药，但是优选将活性成分作为药物组合物给药。因此，本发明另外提供药物组合物，所述药物组合物包括本发明的化合物或其药学上可接受的衍生物以及为其使用的一种或多种药学上可接受的载体，以及可选的其它治疗和 / 或预防性成分。所述载体在与制剂的其它组分相容并且对其接受者无害的意义上必须是“可接受的”。

[0310] 药物组合物包括适合于口服给药、直肠给药、经鼻给药、局部给药（包括面颊给药和舌下给药）、透皮给药、阴道给药或非肠道给药（包括肌肉内给药、皮下给药和静脉内给药）的那些，或为适于通过吸入或吹入法给药的形式。所述制剂在适当的情况下可以方便地作为离散的剂量单位存在，并且可以通过药剂学领域中公知的任何方法来制备。所有的方法包括如下步骤：使活性化合物与液体载体或细分散的固体载体或其两者结合，然后根据需要使产物成形为期望的制剂。

[0311] 适合于口服给药的药物组合物可以作为各自包含预定量活性成分的离散的剂量单位存在，例如胶囊、扁囊剂或片剂；作为粉末或颗粒；或作为溶液、悬浮液或作为乳液存在。活性成分也可以作为大丸剂、药糖剂或糊剂存在。用于口服给药的片剂和胶囊可以包

含常规的赋形剂,例如粘合剂、填料、润滑剂、崩解剂、或润湿剂。所述片剂可以根据本领域中公知的方法进行包衣。口服液体制备物可以是例如含水或油性的悬浮液、溶液、乳液、糖浆或酏剂的形式,或者可以作为干燥产物存在,用于在使用之前用水或其它适合的介质来构造。这种液体制备物可以包含常规的添加剂,例如助悬剂、乳化剂、非水介质(其可以包括可食用的油类)、或防腐剂。

[0312] 本发明的化合物也可以配制为用于非肠道给药(例如通过注射给药,例如大丸剂注射或连续输注)并且可以作为安瓿、预填充的注射器、小体积输注的单位剂型存在,或作为加有防腐剂的多剂量容器存在。所述组合物可为诸如在油性或含水介质中的悬浮液、溶液、或乳液的形式,并且可以包含诸如助悬剂、稳定剂和/或分散剂的制剂试剂。做为选择,活性成分可以为通过将无菌分离无菌固体或从溶液冷冻干燥得到的粉末形式,用于在使用之前用适合的介质(例如,无菌的、无热原的水)来构造。

[0313] 对于表皮的局部给药,本发明的化合物可以配制为膏剂、霜剂或洗液,或者配制为透皮贴剂。这种透皮贴剂可以包含渗透增强剂,例如芳樟醇、香芹酚、麝香草酚、柠檬醛、薄荷脑和 *trans*-茴香脑。膏剂和霜剂可以在加入适合的增稠剂和/或胶凝剂的情况下用例如含水或油性基质来配制。洗液可以用含水或油性基质来配制,并且通常还包含一种或多种乳化剂、稳定剂、分散剂、助悬剂、增稠剂、或着色剂。

[0314] 适合于在口中局部给药的组合物包括:在调味的基质中包括活性成分的锭剂,所述基质通常为蔗糖和阿拉伯胶或黄蓍胶;在惰性基质中包括活性成分的软锭剂,所述基质例如明胶和甘油或蔗糖和阿拉伯胶;和在适合的液体载体中包括活性成分的嗽口剂。

[0315] 其中载体为固体的适用于直肠给药的药物组合物例如作为单位剂量的栓剂提供。适合的载体包括可可脂和通常用于本领域中的其它物质,并且所述栓剂可以通过将活性化合物与软化或熔化的载体混合、随后在模具中冷却和成形而方便地形成。

[0316] 适于阴道给药的组合物可以作为子宫托、棉塞、霜剂、凝胶剂、糊剂、泡沫或喷雾剂存在,包含除活性成分之外的例如本领域中已知为适合的载体。

[0317] 对于鼻内给药,本发明的化合物可以用作液体喷雾剂或可分散性粉剂,或为滴剂形式。滴剂可以使用含水或非水的基质来配制,并且还包括一种或多种分散剂、增溶剂或助悬剂。液体喷雾剂方便地从加压的包装中释放。

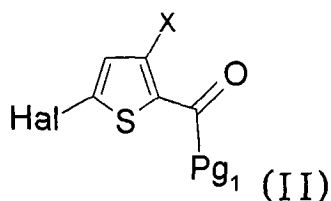
[0318] 对于吸入给药,本发明的化合物方便地从吹入器、雾化器或加压包装或递送气溶胶喷射的其它方便的设备释放。加压的包装可以包括适合的推进剂,例如二氯二氟甲烷、三氯氟代甲烷、二氯四氟甲烷、二氧化碳或其它适合的气体。在加压的气雾剂的情况中,可以通过提供用于递送计量量的阀来确定剂量单位。

[0319] 做为选择,对于通过吸入或吹入给药而言,本发明的化合物可为干燥粉末组合物的形式,例如化合物与适合的粉末基质(例如,乳糖或淀粉)的粉末混合物。粉末组合物可以以单位剂型存在于例如可以在吸入器或吹入器的帮助下给药粉末的胶囊或药筒或例如明胶或泡罩包装中。

[0320] 在需要时,可以采用适合于产生活性成分的持续释放的上述制剂。

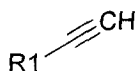
[0321] 式(I)的化合物可以如下制备,使式(II)的化合物:

[0322]



[0323] 与下式的化合物：

[0324]



[0325] 在常规的 Sonogashira 偶联条件下反应；

[0326] 其中；

[0327] X 如上述定义，例如为 $-NR_6-CO-R_5$ ，

[0328] R_1 、 R_6 和 R_5 如本文中定义， Pg_1 为 OH 或羧基保护基，Hal 为 Cl、Br、或 I（例如，Br），

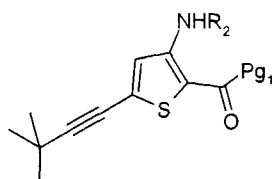
[0329] 在另一个实施方案中， Pg_1 为甲氧基或叔-丁氧基。

[0330] 在另一个实施方案中， Pg_1 为甲氧基。

[0331] 所述 Sonogashira 偶联反应是用于产生包含乙炔的化合物的沿用已久的方法。用于这种偶联的条件为本领域中公知的，并且可以在例如 Yamaguchi 等人 (Synlett 1999, No. 5, 549-550) 或在 Tykwinski 等人, Angew. Chem. Int. Ed. 2003, 42, 1566-1568 中或在本申请的实施例中找到。

[0332] 本发明还包括可用于合成式 (I) 的化合物的中间体。某些中间体由式 W 表示

[0333]



W

[0334] 其中；

[0335] R_2 为 H 或氨基保护基（例如 Boc（叔-丁氧基羰基）、Cbz（苄基氧基羰基）），和 Pg_1 为 OH 或羧基保护基

[0336] 在另一个实施方案中， Pg_1 为甲氧基或叔-丁氧基。

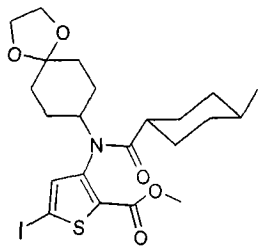
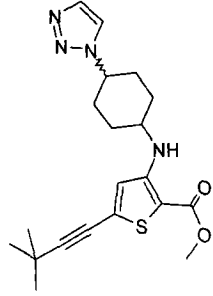
[0337] 在另一个实施方案中， Pg_1 为甲氧基。

[0338] 在另一个实施方案中， R_2 为 H。

[0339] 在另一个实施方案中， R_2 为 Boc。

[0340] 具体的中间体包括但不限于表 A 中列举的化合物：

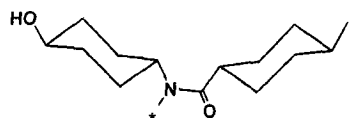
[0341]

表 A		
结构	名称	编号
	3-[(1,4-二氧杂-螺[4.5]癸-8-基)-(反式 4-甲基-环-己烷羰基)-氨基]-5-碘-噻吩-2-甲酸甲酯	3a
	5-(3,3-二甲基-丁-1-炔基)-3-(4-[1,2,3]三唑-1-基-环己基氨基)-噻吩-2-甲酸甲酯	4a

[0342]

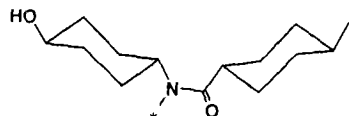
	5-(3,3-二甲基-丁-1-炔基)-3-(4-[1,2,4]三唑-1-基-环己基氨基)-噻吩-2-甲酸甲酯	5a
	5-(3,3-二甲基-丁-1-炔基)-3-(叔-丁氧基羰基)氨基-噻吩-2-甲酸甲酯	9a
	5-(3,3-二甲基-丁-1-炔基)-3-氨基-噻吩-2-甲酸甲酯	9b
	3-[(反式 4-羟基-环己基)-(反式 4-甲基-环己烷羰基)-氨基]-5-碘-噻吩-2-甲酸甲酯	10a
	3-[(反式 4-羟基-环己基)-(反式 4-甲基-环己烷羰基)-氨基]-5-三甲基-甲硅烷基乙炔基-噻吩-2-甲酸甲酯	10b

[0343] 根据本发明的另一个方面,提供了制备式 I 的化合物的方法,其中 X 为



所述方法包括使用式 3a 或 10a 或 10b 的中间体。

[0344] 根据本发明的另一个方面,提供了制备式 I 的化合物的方法,其中 X 为



所述方法包括使用式 3a 或 10a 或 10b 的中间体。

[0345] 根据本发明的另一个方面,提供了用于制备式 I 的化合物的方法,其中 R1 为 3, 3-二甲基-丁-1-炔基,所述方法包括使用式 9a 或 9b 的中间体。

[0346] 根据本发明的另一个方面,提供了用于制备式 I 的化合物的方法,其中 R1 为 3,

3-二甲基-丁-1-炔基并且 R6 为 4-[1,2,3] 三唑-1-基-环己基,所述方法包括使用式 4a 的中间体。

[0347] 根据本发明的另一个方面,提供了用于制备式 I 的化合物的方法,其中 R1 为 3,3-二甲基-丁-1-炔基并且 R6 为 4-[1,2,4] 三唑-1-基-环己基,所述方法包括使用式 5a 的中间体。

[0348] 提供以下一般反应方案和实施例,以说明本发明的各种实施方案,不应将其看作是限制范围。本领域技术人员应该理解,可以通过将用于以下实施例中的从种属上或具体地描述的反应物和/或操作条件进行替换来得到本发明的其它化合物。用于得到噻吩类化合物的合成方法还描述在专利申请 US 专利第 6,881,741 号中、2003 年 12 月 9 日提交的 USSN 10/730,272、2005 年 1 月 26 日提交的 USSN11/042,442、2006 年 5 月 15 日提交的 USSN 11/433,749、WO 02/100851、US 2004-0116509、WO2004/052885、US2005-0009804、WO2004/052879 和 US 2004-0192707 中。噻吩链炔基化合物还在 WO 2006/072347 和 WO 2006/072348 中有所公开。

[0349] 在前述内容和以下实施例中,所有的温度都是以摄氏温度表示,未经校正,并且除非另有陈述,所有的份和百分比都是以重量计。

[0350] 使用了以下缩写:

[0351] Boc 叔-丁氧基羰基

[0352] DCC 1,3-二环己基碳二亚胺

[0353] DCE 1,2-二氯乙烷

[0354] DCM 二氯甲烷

[0355] DIPEA N,N-二异丙基乙基胺

[0356] DMF N,N-二甲基甲酰胺

[0357] EtOAc 乙酸乙酯

[0358] Hal 卤素

[0359] LAH 氢化铝锂

[0360] MeOH 甲醇

[0361] TFA 三氟乙酸

[0362] THF 四氢呋喃

[0363] LDA 二异丙基氨基锂

[0364] TLC 薄层色谱法

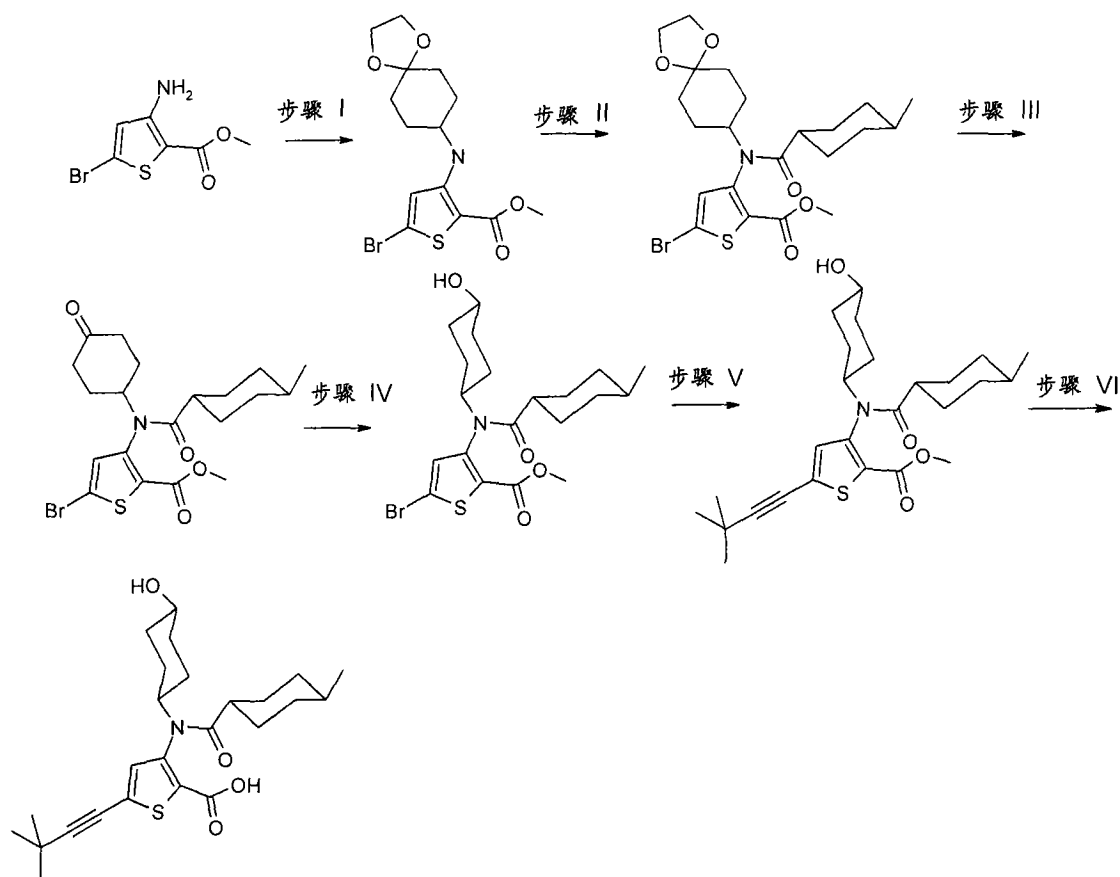
[0365] RBO 圆底烧瓶

[0366] 通过 HPLC 进行的纯化都是使用填充有 5 μ m 粒子的反相 C18 柱进行的。柱直径为 19mm,长度为 100mm。洗脱剂是适当梯度的乙腈和含 3mM HCl 的水。

[0367] 实施例 1:

[0368] 5-(3,3-二甲基-丁-1-炔基)-3-[(反式 4-羟基-环己基)-(反式 4-甲基-环己烷羰基)-氨基]-噻吩-2-甲酸的制备

[0369]



[0370] 3-氨基-5-溴-噻吩-2-甲酸甲酯 (17.0g, 72.0mmol) 在无水 THF (21mL) 中的悬浮液用 1,4-环己烷二酮单亚乙基缩酮 (11.3mg, 72.0mmol) 处理, 随后加入二丁基锡二氯化物 (1.098g, 3.6mmol)。在 5 分钟之后, 加入苯基硅烷 (9.74mL, 79.2mmol) 并将反应混合物在室温搅拌过夜。在浓缩之后, 将残余物溶解于 EtOAc, 用 NaHCO_3 洗涤, 然后用盐水洗涤。将有机层分离, 用 Na_2SO_4 干燥, 过滤并且浓缩。粗制的物质在己烷 (500mL) 中稀释。在过滤之后, 将母液蒸发到干燥, 得到 5-溴-3-(1,4-二氧杂-螺[4.5]癸-8-基氨基)-噻吩-2-甲酸甲酯 (24.79g, 92% 收率)。

[0371] 参考: W02004/052885

[0372] 步骤 II

[0373] A- 反式 4-甲基环己基甲酰氯的制备:

[0374] 将草酰氯 (2M, 在 DCM 中, 117mL) 滴加到反式 4-甲基环己基甲酸 (16.6g, 117mmol) 在 DCM (33mL) 和 DMF (0.1mL) 中的悬浮液中并将反应混合物在室温搅拌 3 小时。减压除去 DCM 并将残余物与 DCM 共蒸发。将残余物溶解于甲苯, 制成 1M 溶液。

[0375] B- 目标化合物的制备:

[0376] 将反式 4-甲基环己基甲酰氯的 1M 溶液加入到 5-溴-3-(1,4-二氧杂-螺[4.5]癸-8-基氨基)-噻吩-2-甲酸甲酯 (24.79g, 65mmol) 的甲苯 (25mL) 溶液中, 随后加入吡啶 (5.78mL, 71.5mmol)。然后将得到的混合物在回流搅拌 16 小时。反应混合物用甲苯 (60mL) 稀释并且冷却到 5°C。在加入吡啶 (12mL) 和 MeOH (5.6mL) 之后, 将混合物在 5°C 搅拌 2 小时。将白色悬浮液过滤并将甲苯加入到母液中。有机相用 10% 柠檬酸、饱和 NaHCO_3 水溶液洗涤, 干燥 (Na_2SO_4) 并且浓缩。将残余物在沸腾的己烷 (1500mL) 中研磨。使反应混合物冷却到室温。将反应烧瓶浸没在冰浴中, 并且搅拌 30 分钟, 将白色固体过滤并用冷的己烷

(225mL) 洗涤。固体通过硅胶柱色谱法纯化,使用 20% EtOAc : 己烷作为洗脱剂,得到最终的化合物 5-溴-3-[(1,4-二氧杂-螺[4.5]癸-8-基)-(反式4-甲基-环己烷羰基)-氨基]-噻吩-2-甲酸甲酯(10.5g,32%)。

[0377] 步骤 III

[0378] 将 5-溴-3-[(1,4-二氧杂-螺[4.5]癸-8-基)-(反式4-甲基环己烷-羰基)-氨基]-噻吩-2-甲酸甲酯(8.6g,17mmol) 溶解于四氢呋喃(100mL) 并用 3N HCl 溶液(50mL) 处理。将反应在 40℃ 搅拌 3 小时。将反应混合物减压蒸发。将残余物溶解于 EtOAc 并且用 NaHCO₃ 饱和水溶液洗涤。将有机层分离,用 Na₂SO₄ 干燥,过滤并且浓缩,得到 5-溴-3-[(反式4-甲基-环己烷羰基)-(4-氧代-环己基)-氨基]-噻吩-2-甲酸甲酯,为固体(7.4g,95%)。

[0379] 步骤 IV

[0380] 在 N₂ 气氛下向冷却(0℃) 的 5-溴-3-[(反式4-甲基-环己烷羰基)-(4-氧代-环己基)-氨基]-噻吩-2-甲酸甲酯(5.9g,12.9mmol) 在 50mL MeOH 中的溶液分批加入 NaBH₄(250mg,6.4mmol) (大约 30 分钟)。在添加完成并且通过 TLC(己烷: EtOAc 1:1) 确定反应完成之后,加入 10mL 的 HCl 2% 并且搅拌 15 分钟。将反应混合物真空浓缩到干燥。反应混合物用水(25mL) 重构并且用 EtOAc 提取。将有机相合并并且用 MgSO₄ 干燥并且浓缩到干燥。残余物通过硅胶柱色谱法纯化,使用 EtOAc : 己烷(1:1) 作为洗脱剂,得到 5-溴-3-[(反式4-羟基-环己基)-(反式4-甲基-环己烷羰基)-氨基]-噻吩-2-甲酸甲酯(4.5g,77% 收率),为固体。

[0381] 步骤 V

[0382] 向化合物 5-溴-3-[(反式4-羟基-环己基)-(反式4-甲基-环己烷羰基)-氨基]-噻吩-2-甲酸甲酯(500mg,1.09mmol) 和 3,3-二甲基-丁-1-炔(385mg,4.69mmol) 在 DMF(0.5mL) 中的溶液加入三乙胺(1.06mL) 和三(二亚苄基丙酮) 二钯(0)(70mg,0.08mmol), 并将反应混合物在 N₂ 气氛下在回流条件下搅拌 16 小时。减压除去 DMF 和三乙胺并将残余物为在水和乙酸乙酯之间分配。将有机层分离,干燥(Na₂SO₄), 浓缩并将残余物通过柱色谱法纯化,使用乙酸乙酯和己烷(1:2) 作为洗脱剂,得到 5-(3,3-二甲基-丁-1-炔基)-3-[(反式4-羟基-环己基)-(反式4-甲基-环己烷羰基)-氨基]-噻吩-2-甲酸甲酯,为固体,330mg(66%)。

[0383] 步骤 VI

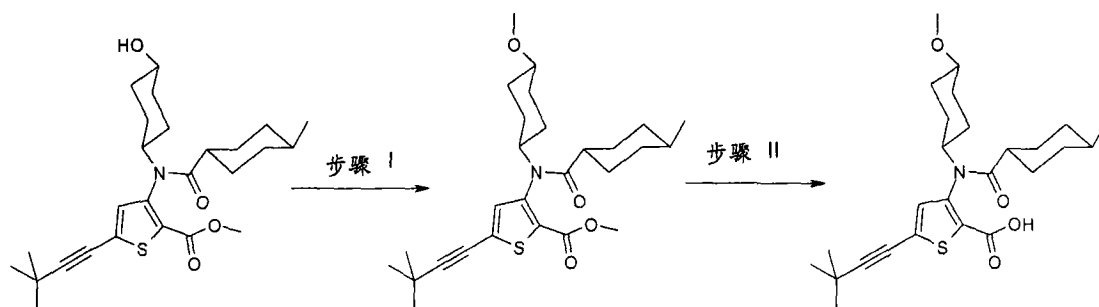
[0384] 将 5-(3,3-二甲基-丁-1-炔基)-3-[(反式4-羟基-环己基)-(反式4-甲基-环己烷羰基)-氨基]-噻吩-2-甲酸甲酯(0.10g,0.22mmol) 溶解于 THF : 甲醇 : H₂O 为 3 : 2 : 1 的混合物(5.0mL) 中并用 LiOH·H₂O 的 1N 溶液(0.65mL,0.65mmol) 处理。在 60℃ 搅拌 2 小时之后,将反应混合物在旋转蒸发器上减压浓缩。将混合物在乙酸乙酯和水之间分配。水层使用 0.1N HCl 酸化。将 EtOAc 层分离并且用 Na₂SO₄ 干燥。过滤并且在旋转蒸发器上减压除去溶剂,随后通过柱色谱法纯化,使用甲醇和二氯甲烷(1:9) 作为洗脱剂,得到 5-(3,3-二甲基-丁-1-炔基)-3-[(反式4-羟基-环己基)-(反式4-甲基-环己烷羰基)-氨基]-噻吩-2-甲酸,为固体,30mg(30%)。ESI⁻(M-H)⁻:444.3。

[0385] 实施例 2 :

[0386] 5-(3,3-二甲基-丁-1-炔基)-3-[(反式4-甲氧基-环己基)-(反式4-甲基-环

己烷羰基)-氨基]-噻吩-2-甲酸的制备

[0387]



[0388] 步骤 I :

[0389] 向 5-(3,3-二甲基-丁-1-炔基)-3-[(反式 4-羟基-环己基)-(反式 4-甲基-环己烷羰基)-氨基]-噻吩-2-甲酸甲酯 (0.200g, 0.435mmol) 在无水 DMF (2.0mL) 中的溶液加入碘甲烷 (0.136mL, 2.18mmol), 将混合物冷却到 0℃ 并在 5 分钟内分批加入 NaH (60% 悬浮液, 在油中, 35mg, 0.87mmol)。将混合物在 0℃ 搅拌 1 小时 40 分钟, 并通过添加水将其猝灭并用 2N HCl 酸化。混合物用乙酸乙酯稀释并且用盐水洗涤。将有机层分离, 用 Na₂SO₄ 干燥, 减压浓缩。残余物通过硅胶上的柱色谱法纯化, 用含 0 → 50% 乙酸乙酯的己烷洗脱, 得到 5-(3,3-二甲基-丁-1-炔基)-3-[(反式 4-甲氧基-环己基)-(反式 4-甲基-环己烷羰基)-氨基]-噻吩-2-甲酸甲酯 (65mg, 32%)。

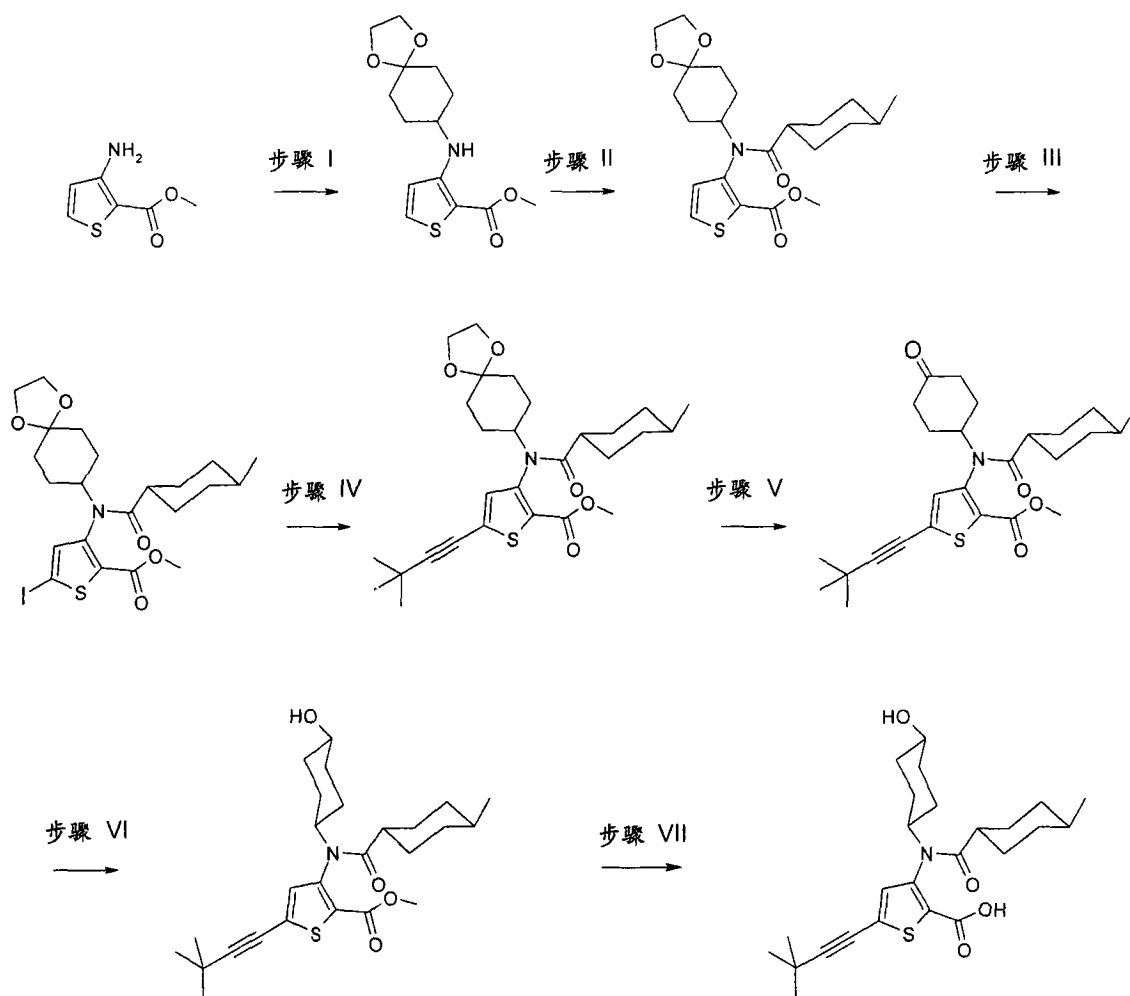
[0390] 步骤 II :

[0391] 如前文所述 (反应路线 1, 步骤 VI), 将得自步骤 I 的 5-(3,3-二甲基-丁-1-炔基)-3-[(反式 4-甲氧基-环己基)-(反式 4-甲基-环己烷羰基)-氨基]-噻吩-2-甲酸甲酯水解, 得到 5-(3,3-二甲基-丁-1-炔基)-3-[(反式 4-甲氧基-环己基)-(反式 4-甲基-环己烷羰基)-氨基]-噻吩-2-甲酸, 为固体 (65mg, 32%)。ESI⁻(M-H)⁺: 458.3。

[0392] 实施例 3 :

[0393] 5-(3,3-二甲基-丁-1-炔基)-3-[(反式 4-羟基-环己基)-(反式 4-甲基-环己烷羰基)-氨基]-噻吩-2-甲酸

[0394]



[0395] 步骤 I

[0396] 将 3-氨基-噻吩-2-甲酸甲酯 (5.0g, 31.85mmol) 在无水 THF (9mL) 中的悬浮液用 1,4-环己烷二酮单亚乙基缩酮 (5.0g, 32.05mmol) 处理, 随后加入二丁基锡二氯化物 (482mg, 1.59mmol)。在 5 分钟之后, 加入苯基硅烷 (4.3mL, 34.96mmol) 并将反应混合物在室温搅拌过夜。在浓缩之后, 将残余物溶解于 EtOAc 并用 NaHCO_3 洗涤, 随后用盐水洗涤。将有机层分离, 干燥 (Na_2SO_4), 过滤并且浓缩。残余物通过柱色谱法纯化, 使用含 30% 乙酸乙酯的己烷作为洗脱剂, 得到 3-(1,4-二氧杂-螺[4.5]癸-8-基氨基)-噻吩-2-甲酸甲酯 (4.5g, 47% 收率)。

[0397] 可供选择的方法:

[0398] 将 3-氨基-噻吩-2-甲酸甲酯 (1 当量) 溶解于二氯甲烷, 随后溶入 1,4-环己烷二酮单亚乙基缩酮 (2 当量), 得到浅黄色溶液。将这个溶液加入到 $\text{NaBH}(\text{OAc})_3$ (2.2 当量) 在二氯甲烷中的悬浮液中。在 15 分钟期间内滴加乙酸 (2.4 当量)。将得到的悬浮液在 N_2 下在 20 ~ 25°C 搅拌 24 小时。通过加入水将反应猝灭并且搅拌 1 小时。将二氯甲烷层分离, 再次用水处理并且再搅拌 1 小时。将二氯甲烷层分离并且加入到饱和的 NaHCO_3 溶液中, 在 20 ~ 25°C 搅拌 20 分钟。将一些白色残余固体过滤, 然后将有机层分离, 干燥 (Na_2SO_4) 并且蒸发。向残余物加入甲醇并且蒸发到干燥。将残余物置于甲醇中并且在 0°C 搅拌 2 小时。将悬浮液真空过滤并将得到的滤饼用冷的甲醇洗涤。将白色固体在 35 ~ 40°C 真空干燥大约 20 小时, 得到标题化合物。

[0399] 步骤 II

[0400] A- 反式 4- 甲基环己基甲酰氯的制备：

[0401] 将草酰氯 (2M, 在二氯甲烷中, 17mL) 滴加到反式 4- 甲基环己基甲酸 (2.3g, 16.2mmol) 在二氯甲烷 (5mL) 和 DMF (0.1mL) 中的悬浮液中。将反应混合物在室温搅拌 3 小时。减压除去挥发物, 得到粗制的酰氯, 将其直接用于下一个反应。

[0402] B- 将反式 4- 甲基环己基甲酰氯加入到 3-[(1,4- 二氧杂 - 螺 [4.5] 癸 -8- 基氨基) - 噻吩 -2- 甲酸甲酯 (2.4g, 8.08mmol) 在甲苯 (18mL) 中的溶液中, 随后加入吡啶 (0.7mL)。然后将得到的混合物回流搅拌 16 小时。反应混合物用甲苯 (7mL) 稀释并且冷却到 5°C。在加入吡啶 (1.5mL) 和 MeOH (0.8mL) 之后, 将混合物在 5°C 搅拌 2 小时。将白色固体过滤并且用甲苯洗涤。滤液用 10% 柠檬酸、NaHCO₃ 水溶液洗涤, 干燥 (Na₂SO₄) 并且浓缩。固体通过硅胶柱色谱法纯化, 使用 20% EtOAc : 己烷作为洗脱剂, 得到 3-[(1,4- 二氧杂 - 螺 [4.5] 癸 -8- 基) - (反式 4- 甲基 - 环己烷羰基) - 氨基] - 噻吩 -2- 甲酸甲酯 (2.3g, 68%)。

[0403] 可供选择的方法：

[0404] 在氮气下向反式 4- 甲基环己基甲酸 (1.8 当量) 在甲苯中的溶液加入无水 DMF。搅拌反应混合物并在 3-5 分钟内加入亚硫酰氯 (2.16 当量)。然后将混合物在室温搅拌 3 小时。在反应完成时, 将甲苯加入到反应混合物中。然后将溶液在低压氮气下蒸发到其一半体积。将溶液溶解于甲苯, 得到 1N 酰氯溶液。

[0405] 将 3-[(1,4- 二氧杂 - 螺 [4.5] 癸 -8- 基氨基) - 噻吩 -2- 甲酸甲酯 (1 当量) 和吡啶 (2 当量) 加入到酰氯 (1N) 溶液中。将反应混合物回流搅拌 15 小时。一旦反应完成, 将反应混合物冷却到室温, 然后向其中加入甲醇和甲苯。将反应混合物在室温搅拌 1 小时并且加入 NaHCO₃ 的水溶液。将有机层分离, 干燥 (Na₂SO₄) 并且蒸发到大约 4 体积的溶剂。在搅拌下向溶液加入 4 体积的庚烷。将反应烧瓶浸没在冰浴中并且搅拌 120 分钟, 将米色固体滤出并用冷的庚烷洗涤, 然后在真空烘箱中干燥过夜, 得到标题化合物。

[0406] 步骤 III

[0407] 在 10 分钟内将正丁基锂 (2 当量) 滴加到冷却 (-40°C) 的二异丙基胺 (1 当量) 在无水 THF 中的溶液中。将反应混合物在相同温度下搅拌 30 分钟。然后滴加 3-[(1,4- 二氧杂 - 螺 [4.5] 癸 -8- 基) - (反式 4- 甲基 - 环己烷 - 羰基) - 氨基] - 噻吩 -2- 甲酸甲酯 (1 当量) 的 THF 溶液 (35min) 保持内部温度为大约 -40°C。将反应混合物搅拌 30 分钟并且滴加碘 (2 当量) 的 THF 溶液, 在相同的温度下搅拌 30 分钟, 之后加入 NH₄Cl 的饱和溶液。反应混合物用乙酸乙酯和水稀释。将有机层分离并且用 5% 硫代硫酸钠溶液洗涤。将有机层分离, 干燥 (Na₂SO₄) 并且蒸发为悬浮液, 然后加入庚烷。将所述悬浮液在 0°C 搅拌 30 分钟, 过滤并且用庚烷洗涤, 得到 3-[(1,4- 二氧杂 - 螺 [4.5] 癸 -8- 基) - (反式 4- 甲基 - 环己烷羰基) - 氨基] - 5- 碘 - 噻吩 -2- 甲酸甲酯。

[0408] MS 实测值 (电喷雾) : (M+H) : 548.21

[0409] 步骤 IV

[0410] 在氮气下向 25mL RBF 中加入 3-[(1,4- 二氧杂 - 螺 [4.5] 癸 -8- 基) - (反式 4- 甲基 - 环己烷羰基) - 氨基] - 5- 碘 - 噻吩 -2- 甲酸甲酯 (1 当量)、碘化亚铜 (0.025 当量) 和三 (二亚苄基丙酮) 二钯 (0) (0.01 当量)。加入 DMF, 三乙胺 (2.5 当量) 和 3,3- 二甲

基-丁-1-炔(2当量)并将反应混合物在N₂气氛下在40℃搅拌2小时。将反应混合物过滤通过硅藻土并且用乙酸乙酯洗涤。所述溶液用水稀释并用乙酸乙酯提取两次。将有机相合并并且用水洗涤三次。将有机层分离,干燥(Na₂SO₄),蒸发到大约2mL,然后加入8mL庚烷。将其蒸发到2-4mL并在冰浴中冷却。将形成的白色固体过滤,用庚烷洗涤并在烘箱中干燥,得到5-(3,3-二甲基-丁-1-炔基)-3-[(1,4-二氧杂-螺[4.5]癸-8-基)-(反式4-甲基-环己烷羰基)-氨基]-噻吩-2-甲酸甲酯。

[0411] 步骤V

[0412] 将5-(3,3-二甲基-丁-1-炔基)-3-[(1,4-二氧杂-螺[4.5]癸-8-基)-(反式4-甲基-环己烷羰基)-氨基]-噻吩-2-甲酸甲酯(1当量)溶解于四氢呋喃并用3.6N HCl溶液处理。将反应在40℃搅拌5小时。然后加入水并将反应混合物冷却到室温。反应混合物用乙酸乙酯提取(2×50mL)。合并的提取物用25mL饱和NaHCO₃水溶液和2×50mL的水洗涤。将有机层浓缩为浓稠的油状物并将50mL庚烷加入到混合物中以使期望的化合物沉淀,将其过滤,得到5-(3,3-二甲基-丁-1-炔基)-3-[(反式4-甲基-环己烷羰基)-(4-氧代-环己基)-氨基]-噻吩-2-甲酸甲酯。

[0413] 步骤VI

[0414] 将5-(3,3-二甲基-丁-1-炔基)-3-[(反式4-甲基-环己烷羰基)-(4-氧代-环己基)-氨基]-噻吩-2-甲酸甲酯(1当量)溶解于THF。将水加入到反应混合物中并且冷却到-25℃。分批加入NaBH₄(0.5当量),维持温度低于-20℃。将混合物在-25℃搅拌2小时,然后加入2N HCl并将溶液温热到室温。分液并将水层用EtOAc洗涤。将有机相合并并且用盐水洗涤,用Na₂SO₄干燥并且浓缩到干燥,得到5-(3,3-二甲基-丁-1-炔基)-3-[(4-羟基-环己基)-(反式4-甲基-环己烷羰基)-氨基]-噻吩-2-甲酸甲酯,为93:7的异构体混合物。粗制的顺式/反式混合物在甲醇中重结晶,得到>99%的反式异构体。

[0415] 步骤VII

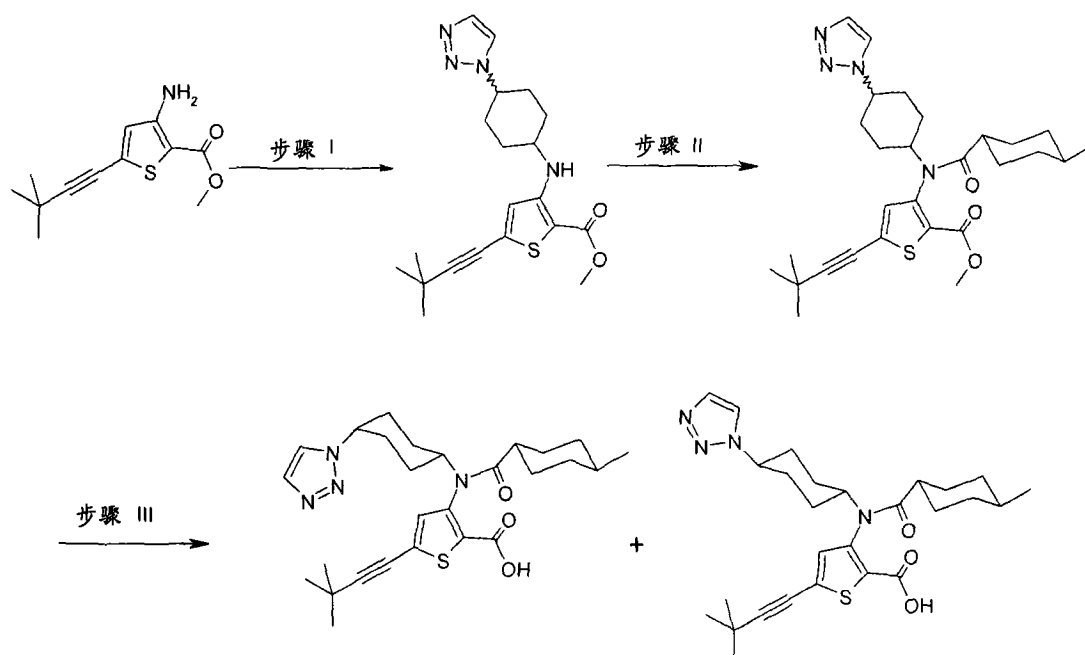
[0416] 根据与上文(实施例1,步骤VI)报告相同的方法,得到5-(3,3-二甲基-丁-1-炔基)-3-[(反式4-羟基-环己基)-(反式4-甲基-环己烷羰基)-氨基]-噻吩-2-甲酸。

[0417] MS实测值(电喷雾):(M-H):444.3

[0418] 实施例4:

[0419] 5-(3,3-二甲基-丁-1-炔基)-3-[(反式4-甲基-环己烷羰基)-(顺式-4-[1,2,3]三唑-1-基-环己基)-氨基]-噻吩-2-甲酸和5-(3,3-二甲基-丁-1-炔基)-3-[(反式4-甲基-环己烷-羰基)-(反式4-[1,2,3]三唑-1-基-环己基)-氨基]-噻吩-2-甲酸

[0420]



[0421] 步骤 I :

[0422] 向 3-氨基-5-(3,3-二甲基-丁-1-炔基)-噻吩-2-甲酸甲酯 (实施例 9) (0.387g, 1.6mmol) 和 4-[1,2,3] 三唑-1-基-环己酮 (0.27g, 1.6mmol) 在无水 THF 中的溶液加入二丁基锡二氯化物 (0.024g, 0.080mmol), 随后加入苯基硅烷 (0.276ml, 2.2mmol)。将混合物在室温搅拌过夜。将溶剂减压蒸发, 并将残余物用乙酸乙酯稀释。有机层用水和盐水洗涤, 用硫酸钠干燥, 过滤并且减压浓缩。残余物通过硅胶上的柱色谱法纯化, 使用含 50-100% 乙酸乙酯的己烷梯度洗脱, 得到 5-(3,3-二甲基-丁-1-炔基)-3-(4-[1,2,3] 三唑-1-基-环己基氨基)-噻吩-2-甲酸甲酯。

[0423] 步骤 II :

[0424] 向 5-(3,3-二甲基-丁-1-炔基)-3-(4-[1,2,3] 三唑-1-基-环己基氨基)-噻吩-2-甲酸甲酯 (0.20g, 0.50mmol) 在甲苯 (1ml) 中的溶液加入反式 4-甲基环己基甲酰氯的 1M 溶液 (1.0ml, 1.0mmol) 和吡啶 (0.046ml, 0.58mmol)。将混合物在 105℃ 搅拌过夜并用乙酸乙酯稀释。有机层用饱和 NaHCO_3 (2X) 和盐水洗涤。有机层用硫酸钠干燥, 过滤并且减压浓缩。残余物通过硅胶柱色谱法纯化 (20% 乙酸乙酯 / 己烷到 100% 乙酸乙酯, 随后用 10% MeOH / 乙酸乙酯), 得到 5-(3,3-二甲基-丁-1-炔基)-3-[(反式 4-甲基-环己烷羰基)-(4-[1,2,3] 三唑-1-基-环己基)-氨基]-噻吩-2-甲酸甲酯。

[0425] 步骤 III :

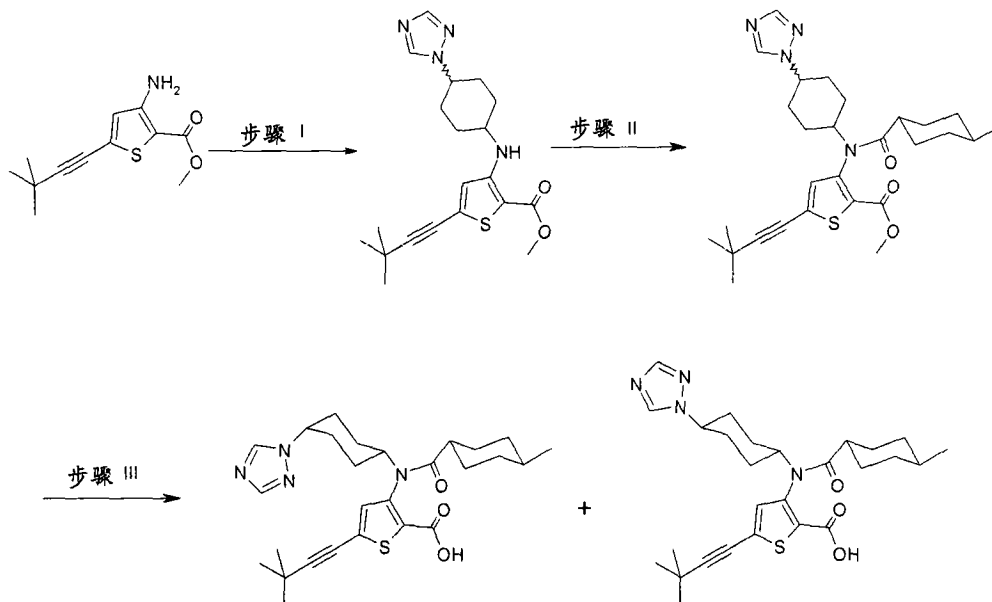
[0426] 如前所述 (实施例 1, 步骤 VI), 将 5-(3,3-二甲基-丁-1-炔基)-3-[(反式 4-甲基-环己烷羰基)-(4-[1,2,3] 三唑-1-基-环己基)-氨基]-噻吩-2-甲酸甲酯 (0.13g, 0.25mmol) 用氢氧化锂水解, 在 HPLC 纯化之后得到纯的异构体 5-(3,3-二甲基-丁-1-炔基)-3-[(反式 4-甲基-环己烷羰基)-(顺式-4-[1,2,3] 三唑-1-基-环己基)-氨基]-噻吩-2-甲酸和 5-(3,3-二甲基-丁-1-炔基)-3-[(反式 4-甲基-环己烷羰基)-(反式 4-[1,2,3] 三唑-1-基-环己基)-氨基]-噻吩-2-甲酸。

[0427] MS 实测值 (电喷雾): (M+H): 497.4

[0428] 实施例 5 :

[0429] 5-(3,3-二甲基-丁-1-炔基)-3-[(反式4-甲基-环己烷羰基)-(顺式-4-[1,2,4]三唑-1-基-环己基)-氨基]-噻吩-2-甲酸和5-(3,3-二甲基-丁-1-炔基)-3-[(反式4-甲基-环己烷-羰基)-(反式4-[1,2,4]三唑-1-基-环己基)-氨基]-噻吩-2-甲酸

[0430]



[0431] 步骤 I :

[0432] 使用二丁基锡二氯化物和苯基硅烷在与如前所述相同的条件下进行 3-氨基-5-(3,3-二甲基-丁-1-炔基)-噻吩-2-甲酸甲酯 (0.237g, 1.0mmol) 和 4-[1,2,4]三唑-1-基-环己酮 (0.170g, 1.0mmol) 的还原胺化, 得到 5-(3,3-二甲基-丁-1-炔基)-3-(4-[1,2,4]三唑-1-基-环己基氨基)-噻吩-2-甲酸甲酯。

[0433] 步骤 II :

[0434] 如前所述, 用反式 4-甲基环己基甲酰氯将 5-(3,3-二甲基-丁-1-炔基)-3-(4-[1,2,4]三唑-1-基-环己基氨基)-噻吩-2-甲酸甲酯 (0.27g, 0.70mmol) 酰化, 得到 5-(3,3-二甲基-丁-1-炔基)-3-[(反式 4-甲基-环己烷羰基)-(4-[1,2,4]三唑-1-基-环己基)-氨基]-噻吩-2-甲酸甲酯。

[0435] 步骤 III :

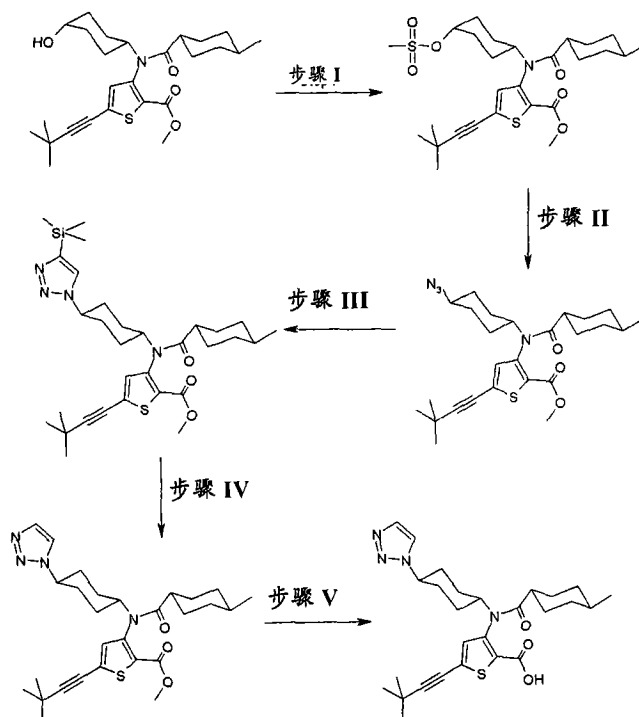
[0436] 如前所述 (实施例 1, 步骤 VI), 用氢氧化锂将 5-(3,3-二甲基-丁-1-炔基)-3-[(反式 4-甲基-环己烷羰基)-(4-[1,2,4]三唑-1-基-环己基)-氨基]-噻吩-2-甲酸甲酯 (0.244g, 0.48mmol) 水解, 在 HPLC 纯化之后得到纯的异构体 5-(3,3-二甲基-丁-1-炔基)-3-[(反式 4-甲基-环己烷羰基)-(顺式-4-[1,2,4]三唑-1-基-环己基)-氨基]-噻吩-2-甲酸和 5-(3,3-二甲基-丁-1-炔基)-3-[(反式 4-甲基-环己烷羰基)-(反式 4-[1,2,4]三唑-1-基-环己基)-氨基]-噻吩-2-甲酸。

[0437] MS 实测值 (电喷雾): (M+H): 497.4

[0438] 实施例 6 :

[0439] 5-(3,3-二甲基-丁-1-炔基)-3-[(反式 4-甲基-环己烷羰基)-(反式 4-[1,2,3]三唑-1-基-环己基)-氨基]-噻吩-2-甲酸

[0440]



[0441] 步骤 I :

[0442] 在 0℃ 向 5-(3,3-二甲基-丁-1-炔基)-3-[(顺式-4-羟基-环己基)-(反式-4-甲基-环己烷羧基)-氨基]-噻吩-2-甲酸甲酯 (0.92g, 2.0mmol) 在 10ml CH_2Cl_2 中的溶液加入甲烷磺酰氯 (0.31ml, 4.0mmol), 随后加入三乙胺 (0.56ml, 4.0mmol)。将反应混合物在室温搅拌 24 小时并用水处理。水层用 CH_2Cl_2 提取 2 次。有机层用硫酸钠干燥, 过滤并且减压浓缩, 得到 5-(3,3-二甲基-丁-1-炔基)-3-[(顺式-4-甲烷磺酰基氧基-环己基)-(反式-4-甲基-环己烷羧基)-氨基]-噻吩-2-甲酸甲酯。

[0443] 步骤 II :

[0444] 向 5-(3,3-二甲基-丁-1-炔基)-3-[(顺式-4-甲烷磺酰基氧基-环己基)-(反式-4-甲基-环己烷羧基)-氨基]-噻吩-2-甲酸甲酯 (1.16g, 2.00mmol) 在 10ml DMF 中的溶液加入叠氮化钠 (0.65g, 10mmol)。将反应混合物在 50℃ 搅拌 48 小时。混合物用乙酸乙酯稀释, 用水洗涤三次并用盐水洗涤一次。有机层用硫酸钠干燥, 过滤并且减压浓缩, 得到 3-[(反式-4-叠氮基-环己基)-(反式-4-甲基-环己烷羧基)-氨基]-5-(3,3-二甲基-丁-1-炔基)-噻吩-2-甲酸甲酯。

[0445] 步骤 III :

[0446] 将 3-[(反式-4-叠氮基-环己基)-(反式-4-甲基-环己烷羧基)-氨基]-5-(3,3-二甲基-丁-1-炔基)-噻吩-2-甲酸甲酯 (1.0g, 2.0mmol) 在三甲基甲硅烷基乙炔 (1.4ml, 10mmol) 中的溶液在微波中在 120℃ 处理 2 小时。将混合物减压浓缩并使残余物通过硅胶柱色谱法纯化 (5% 乙酸乙酯 / 己烷到 100% 乙酸乙酯), 得到 5-(3,3-二甲基-丁-1-炔基)-3-[(反式-4-甲基-环己烷羧基)-[反式-4-(4-三甲基甲硅烷基-[1,2,3]三唑-1-基)-环己基]-氨基]-噻吩-2-甲酸甲酯。

[0447] 步骤 IV :

[0448] 向 5-(3,3-二甲基-丁-1-炔基)-3-[(反式-4-甲基-环己烷羧基)-[反

式 4-(4-三甲基甲硅烷基-[1,2,3]三唑-1-基)-环己基]-氨基}-噻吩-2-甲酸甲酯 (0.48g, 0.82mmol) 在 THF (2.0ml) 中的溶液加入 TBAF 的 1.0M THF 溶液 (1.23ml, 1.23mmol)。将反应混合物搅拌 24 小时并用水和饱和的氯化铵溶液处理。水层用乙酸乙酯提取。有机层用盐水洗涤, 用硫酸钠干燥, 过滤并且减压浓缩。残余物通过硅胶柱色谱法纯化 (50% 乙酸乙酯/己烷到 100% 乙酸乙酯), 得到 5-(3,3-二甲基-丁-1-炔基)-3-[(反式 4-甲基-环己烷羰基)-(反式 4-[1,2,3]三唑-1-基-环己基)-氨基]-噻吩-2-甲酸甲酯。

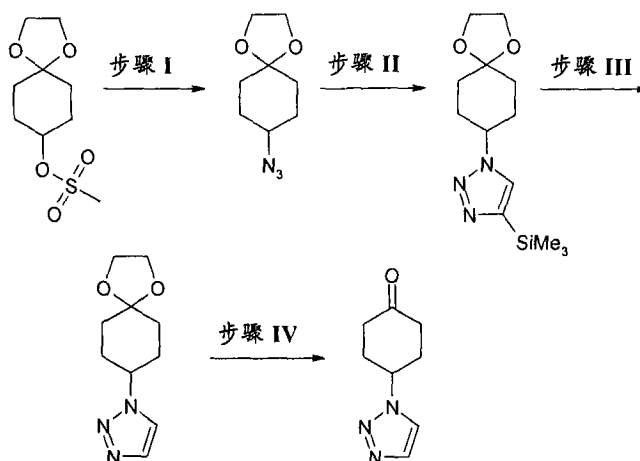
[0449] 步骤 V:

[0450] 如前所述 (实施例 1, 步骤 VI), 用氢氧化锂将 5-(3,3-二甲基-丁-1-炔基)-3-[(反式 4-甲基-环己烷羰基)-(反式 4-[1,2,3]三唑-1-基-环己基)-氨基]-噻吩-2-甲酸甲酯 (0.27g, 0.52mmol) 水解, 在 HPLC 纯化之后得到 5-(3,3-二甲基-丁-1-炔基)-3-[(反式 4-甲基-环己烷羰基)-(反式 4-[1,2,3]三唑-1-基-环己基)-氨基]-噻吩-2-甲酸。

[0451] MS 实测值 (电喷雾): (M+H): 497.4

[0452] 中间体 2: 4-[1,2,3]三唑-1-基-环己酮

[0453]



[0454] 步骤 I:

[0455] 将甲烷磺酸 1,4-二氧杂-螺[4.5]癸-8-酯 (2.80g, 11.9mmol) 和叠氮化钠 (3.86g, 59.3mmol) 在 50mL 无水 DMF 中的混合物在氮气下在 100℃ 搅拌 20 小时。将最终的混合物冷却到室温, 用盐水稀释并用三批乙醚提取。将有机的部分合并, 用 Na₂SO₄ 干燥并且浓缩, 得到 8-叠氮基-1,4-二氧杂-螺[4.5]癸烷。

[0456] 步骤 II:

[0457] 使 8-叠氮基-1,4-二氧杂-螺[4.5]癸烷 (1.00g, 5.43mmol) 和 1-(三甲基甲硅烷基)丙炔 (3.76mL, 27.1mmol) 的混合物在微波中在 120℃ 经过 2 小时。将混合物真空浓缩以除去过量的 1-(三甲基甲硅烷基)丙炔, 得到粗制的 1-(1,4-二氧杂-螺[4.5]癸-8-基)-4-三甲基甲硅烷基-1H-[1,2,3]三唑。

[0458] 步骤 III:

[0459] 将 1-(1,4-二氧杂-螺[4.5]癸-8-基)-4-三甲基甲硅烷基-1H-[1,2,3]三唑 (1.60g, 5.68) 在 41mL 无水 THF 中的溶液用氟化四丁基铵的 1M THF 溶液 (9.0mL,

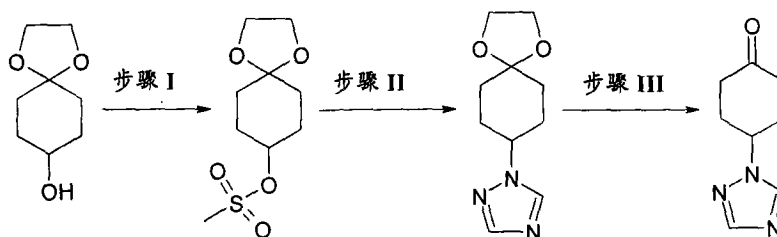
9.0mmol) 处理。将得到的混合物在氮气下在室温搅拌 48 小时。将其用 EtOAc 稀释, 用饱和氯化铵水溶液、水和盐水洗涤, 用 Na_2SO_4 干燥并且浓缩, 得到 1-(1,4-二氧杂-螺[4.5]癸-8-基)-1H-[1,2,3]三唑。

[0460] 步骤 IV:

[0461] 使 1-(1,4-二氧杂-螺[4.5]癸-8-基)-1H-[1,2,3]三唑 (1.06g, 5.06mmol) 经过与中间体 1 步骤 III 相同的过程, 得到 4-[1,2,3]三唑-1-基-环己酮, 为白色固体。

[0462] 中间体 1: 4-[1,2,4]三唑-1-基-环己酮

[0463]



[0464] 步骤 I:

[0465] 根据 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 制备甲烷磺酸 1,4-二氧杂-螺[4.5]癸-8-酯。

[0466] 步骤 II:

[0467] 将甲烷磺酸 1,4-二氧杂-螺[4.5]癸-8-酯 (567mg, 2.40mmol) 和 1,2,4-三唑 (232mg, 3.36mmol) 的无水 DMF 溶液 (5.00mL) 在室温在氮气下用氢化钠 60% (125mg, 3.12mmol) 处理。将得到的混合物在 65°C 搅拌 72 小时。将其倾倒在冰水 (75mL) 中, 用 3 批 75mL 的 EtOAc 提取。将有机的部分合并, 用无水 Na_2SO_4 干燥并且浓缩。固体通过硅胶柱色谱法纯化, 使用从 100% EtOAc 到 5% MeOH : EtOAc 的梯度洗脱剂作为洗脱剂, 得到最终的化合物 1-(1,4-二氧杂-螺[4.5]癸-8-基)-1H-[1,2,4]三唑, 为白色固体。

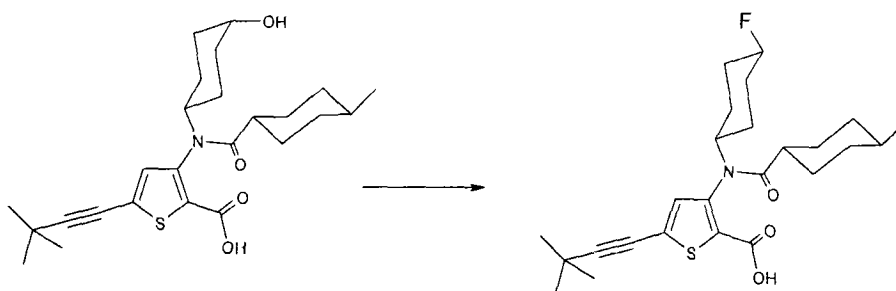
[0468] 步骤 III:

[0469] 将 1-(1,4-二氧杂-螺[4.5]癸-8-基)-1H-[1,2,4]三唑 (379mg, 1.81mmol) 溶解于 THF 和 3N HCl 水溶液的 1:1 混合物 (9mL) 中。将得到的混合物在 40°C 搅拌 5 小时。真空除去大部分的 THF, 然后使用 3N NaOH 水溶液将残余的混合物中和直到达到碱性的 pH。将其用 3 批 10mL 的二氯甲烷提取。将有机的部分合并, 用无水 Na_2SO_4 干燥并且浓缩, 得到 4-[1,2,4]三唑-1-基-环己酮, 为白色蜡状固体。

[0470] 实施例 7:

[0471] 5-(3,3-二甲基-丁-1-炔基)-3-[(反式 4-氟-环己基)-(反式 4-甲基-环己烷羰基)-氨基]-噻吩-2-甲酸的制备

[0472]



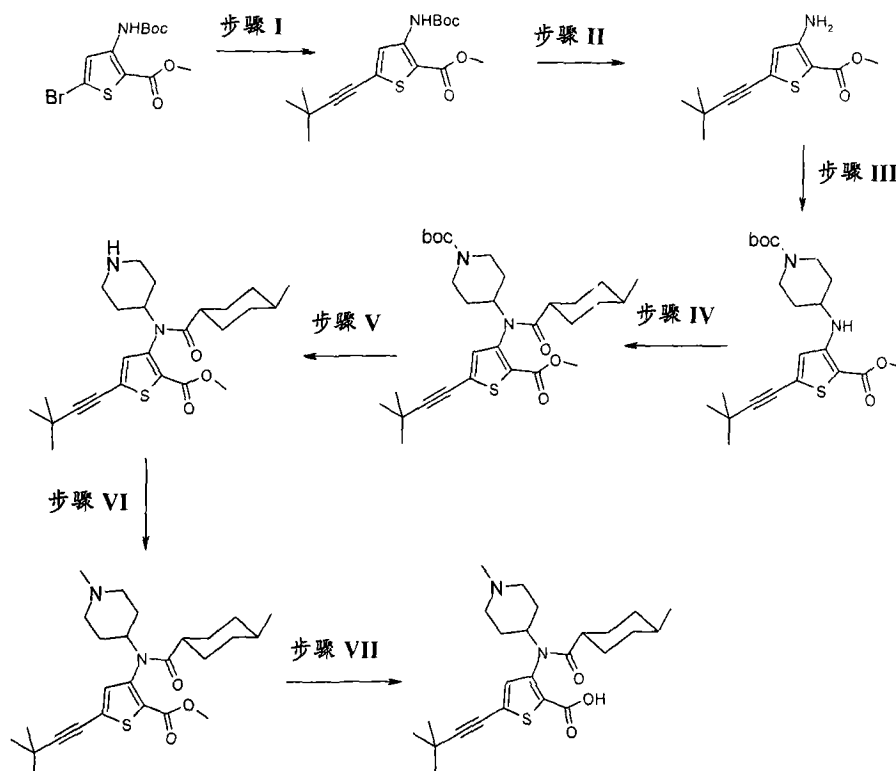
[0473] 向 5-(3,3-二甲基-丁-1-炔基)-3-[(顺式-4-羟基-环己基)-(反式-4-甲基-环己烷羰基)-氨基]-噻吩-2-甲酸 (102mg, 0.23mmol) 在无水 CH_2Cl_2 (2mL) 中的悬浮液加入 DAST (三氟化二乙基氨基硫) ($90\ \mu\text{L}$, 0.69mmol) 并将混合物在室温搅拌 4 小时。然后将其用 CH_2Cl_2 稀释, 向混合物加入水, 并将其剧烈搅拌 20 分钟。将有机部分分离, 用 Na_2SO_4 干燥, 浓缩, 并将残余物通过制备 HPLC 纯化, 得到 5-(3,3-二甲基-丁-1-炔基)-3-[(反式-4-氟-环己基)-(反式-4-甲基-环己烷羰基)-氨基]-噻吩-2-甲酸。

[0474] MS 实测值 (电喷雾): $[\text{M}+\text{H}]^+$: 448.30

[0475] 实施例 8:

[0476] 5-(3,3-二甲基-丁-1-炔基)-3-[(反式-4-甲基-环己烷羰基)-(1-甲基-哌啶-4-基)-氨基]-噻吩-2-甲酸盐酸盐的制备:

[0477]



[0478] 步骤 I:

[0479] 向 3-(叔-丁氧基羰基)氨基-5-溴-噻吩-2-甲酸甲酯 (4.566g, 13.58mmol) 在无水 DMF (40mL) 中的溶液加入碘化亚铜 (I) (52mg, 0.27mmol), Pd_2dba_3 (622mg, 0.68mmol) 和三乙胺 (9.46mL, 67.9mmol), 并通过对溶液通入氮气 10 分钟将混合物脱氧。然后向混合物加入叔-丁基乙炔 (6.62mL, 54.32mmol) 和 BINAP (676mg, 1.09mmol), 并将其在氮气下在 60°C 加热过夜。混合物用 H_2Cl_2 稀释并且在用 CH_2Cl_2 洗涤的情况下通过硅藻土过滤。滤液用

盐水洗涤,将有机部分分离,用 Na_2SO_4 干燥,浓缩,并将残余物通过硅胶上的柱色谱法纯化,用含 EtOAc 的己烷梯度洗脱,得到 5-(3,3-二甲基-丁-1-炔基)-3-(叔-丁氧基羰基)氨基-噻吩-2-甲酸甲酯。

[0480] ^1H NMR(CDCl_3) δ , ppm: 1.27(s, 9H), 1.51(s, 9H), 3.84(s, 3H), 7.87(s, 1H), 9.24(br. s, 1H)

[0481] MS 实测值(电喷雾): [M+H] 338.17

[0482] 步骤 II:

[0483] 向 5-(3,3-二甲基-丁-1-炔基)-3-(叔-丁氧基羰基)氨基-噻吩-2-甲酸甲酯(4.344g, 9.58mmol) 在 CH_2Cl_2 (30mL) 中的溶液加入三氟乙酸(30mL), 将混合物在室温搅拌过夜。然后将其蒸发到干燥, 将得到的残余物再溶解于 CH_2Cl_2 并用 NaHCO_3 水溶液和盐水洗涤。将有机部分分离, 用 Na_2SO_4 干燥, 并且浓缩, 得到 3.135g 的粗制的 5-(3,3-二甲基-丁-1-炔基)-3-氨基-噻吩-2-甲酸甲酯。

[0484] ^1H NMR(CDCl_3) δ , ppm: 1.28(s, 9H), 3.80(s, 3H), 5.36(br. s, 2H), 6.49(s, 1H)

[0485] MS 实测值(电喷雾): [M+H] 238.11

[0486] 步骤 III:

[0487] 向 5-(3,3-二甲基-丁-1-炔基)-3-氨基-噻吩-2-甲酸甲酯(1.512g, 5.97mmol) 和 N-叔-丁氧基羰基-哌啶-4-酮(1.189g, 5.97mmol) 在 2mL 无水 THF 中的溶液加入二丁基锡二氯化物(181mg, 0.60mmol), 将混合物在氮气下在室温搅拌 10 分钟。然后加入苯基硅烷(810 μL , 6.57mmol), 并将混合物在室温搅拌 24 小时。加入另外的 595mg 的 N-叔-丁氧基羰基-哌啶-4-酮, 90mg 的二丁基锡二氯化物和 405 μL 的苯基硅烷, 并将混合物搅拌另外的 24 小时。然后将混合物用 CH_2Cl_2 稀释, 用盐水洗涤, 将有机部分分离, 用 Na_2SO_4 干燥并且浓缩, 得到 5.142g 的粗制的 5-(3,3-二甲基-丁-1-炔基)-3-(N-叔-丁氧基羰基-哌啶-4-基)氨基-噻吩-2-甲酸甲酯。

[0488] 步骤 IV:

[0489] 将反式 4-甲基环己基甲酰氯(23.88mmol) 和吡啶(2.89mL, 35.82mmol) 加入到得自步骤 III 的 5-(3,3-二甲基-丁-1-炔基)-3-(N-叔-丁氧基羰基-哌啶-4-基)氨基-噻吩-2-甲酸甲酯(5.142g) 在无水甲苯(50mL) 中的溶液。将混合物回流 24 小时, 然后使其回到室温, 并且加入另外量的吡啶(1.0mL) 和 MeOH(5mL)。然后将混合物用 CH_2Cl_2 稀释, 用盐水洗涤, 将有机部分分离, 用 Na_2SO_4 干燥, 并且浓缩, 得到 5.198g 的粗制的 5-(3,3-二甲基-丁-1-炔基)-3-[(反式 4-甲基-环己烷羰基)-(N-叔-丁氧基羰基-哌啶-4-基)氨基]-噻吩-2-甲酸甲酯, 其包含不同量的 5-(3,3-二甲基-丁-1-炔基)-3-[(反式 4-甲基-环己烷羰基)-(哌啶-4-基)-氨基]-噻吩-2-甲酸甲酯。

[0490] 步骤 V:

[0491] 将得自步骤 IV 的产物(5.198g) 溶解于 30mL 的 CH_2Cl_2 中并用 20mL 三氟乙酸处理。将混合物在室温搅拌过夜, 然后将其蒸发到干燥, 将得到的残余物再溶解在 CH_2Cl_2 中并用 NaHCO_3 水溶液和盐水洗涤。将有机部分分离, 用 Na_2SO_4 干燥, 并且浓缩, 得到 5.340g 的粗制的 5-(3,3-二甲基-丁-1-炔基)-3-[(反式 4-甲基-环己烷羰基)-(哌啶-4-基)氨基]-噻吩-2-甲酸甲酯。

[0492] 步骤 VI:

[0493] 向得自步骤 V 的产物 (5.340g) 在 1,2-二氯乙烷 (60mL) 中的溶液加入甲醛 (1.94mL 的 37% 水溶液, 23.88mmol), 随后在 20 分钟内分批加入三乙酰氧基硼氢化钠 (2.403g, 11.34mmol)。将混合物在室温搅拌过夜, 然后向混合物加入水, 并将其用 CH_2Cl_2 提取。有机部分用 NaHCO_3 水溶液和盐水洗涤, 用 Na_2SO_4 干燥, 浓缩并通过硅胶上的柱色谱法纯化, 用含 0-10% MeOH 的 CH_2Cl_2 洗脱, 得到 5-(3,3-二甲基-丁-1-炔基)-3-[(反式 4-甲基-环己烷羰基)-(1-甲基-哌啶-4-基)-氨基]-噻吩-2-甲酸甲酯。

[0494] 步骤 VII:

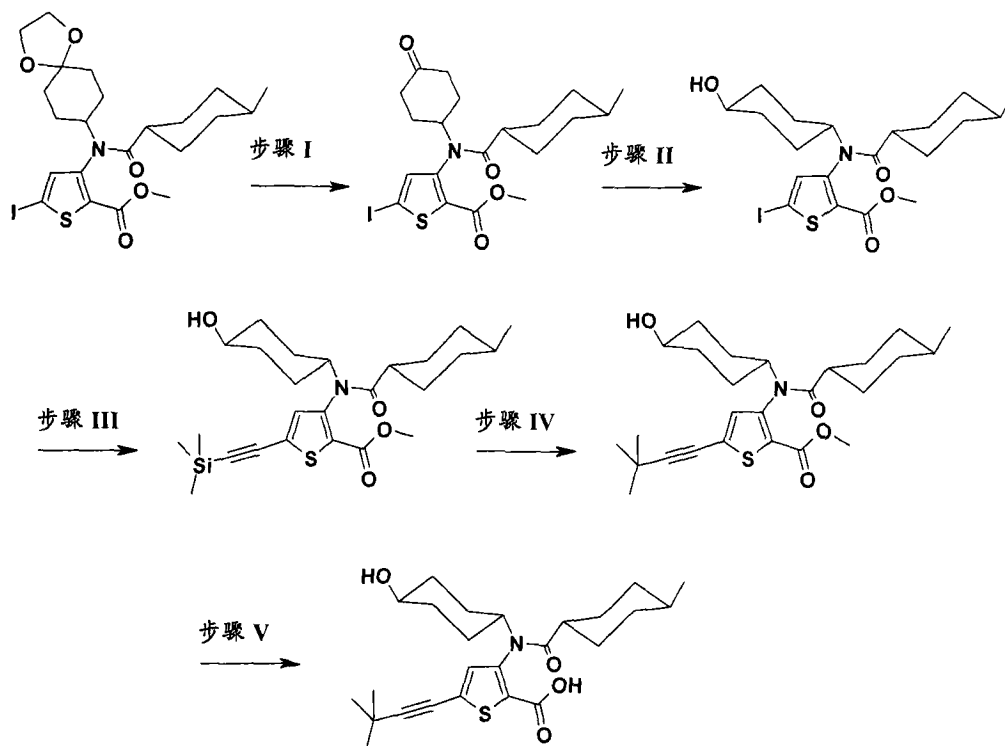
[0495] 如前所述 (实施例 1, 步骤 VI), 用氢氧化锂水解得自步骤 VI 的产物 (281mg, 0.61mmol), 在 HPLC 纯化之后得到 5-(3,3-二甲基-丁-1-炔基)-3-[(反式 4-甲基-环己烷羰基)-(1-甲基-哌啶-4-基)-氨基]-噻吩-2-甲酸盐酸盐。

[0496] MS 实测值 (电喷雾): $[\text{M}+\text{H}]^+$: 445.29

[0497] 实施例 9:

[0498] 5-(3,3-二甲基-丁-1-炔基)-3-[(反式 4-羟基-环己基)-(反式 4-甲基-环己烷-羰基)-氨基]-噻吩-2-甲酸

[0499]



[0500] 步骤 I

[0501] 将 3-[(1,4-二氧杂-螺[4.5]癸-8-基)-(反式 4-甲基-环己烷羰基)-氨基]-5-碘-噻吩-2-甲酸甲酯 (得自实施例 3) 溶解于四氢呋喃并用 3N HCl 溶液处理。将反应在 40℃ 搅拌 3 小时。将反应混合物减压蒸发。将混合物溶解于 EtOAc 并用 NaHCO_3 饱和水溶液洗涤。将有机层分离, 用 Na_2SO_4 干燥, 过滤并且浓缩, 得到标题化合物。

[0502] 步骤 II

[0503] 在 N_2 气氛下向冷却 (0℃) 的 5-碘-3-[(反式 4-甲基-环己烷羰基)-(4-氧代-环己基)-氨基]-噻吩-2-甲酸甲酯在 MeOH 中的溶液分批加入 NaBH_4 并且搅拌。在

反应完成之后,加入 2% HCl 并且搅拌 15 分钟。将反应混合物真空浓缩到干燥。将残余物在水和 EtOAc 之间分配。将有机层分离,用 MgSO_4 干燥并且浓缩到干燥。残余物通过硅胶柱色谱法纯化,使用 EtOAc : 己烷作为洗脱剂,得到标题化合物。

[0504] 步骤 III

[0505] 向 3-[(反式 4-羟基-环己基)-(反式 4-甲基-环己烷羰基)-氨基]-5-碘-噻吩-2-甲酸甲酯和乙炔基-三甲基-硅烷在 DMF 中的溶液加入三乙胺和三(二亚苄基丙酮)二钯(0)并将反应混合物在 N_2 气氛下在 60°C 搅拌 16 小时。减压除去 DMF 和三乙胺并将残余物在水和乙酸乙酯之间分配。将有机层分离,干燥(Na_2SO_4),浓缩并将残余物通过柱色谱法纯化,使用乙酸乙酯和己烷(1 : 2)作为洗脱剂,得到标题化合物。

[0506] 步骤 IV

[0507] 将 3-[(反式 4-羟基-环己基)-(反式 4-甲基-环己烷羰基)-氨基]-5-三甲基-甲硅烷基乙炔基-噻吩-2-甲酸甲酯和 2-氯-2-甲基丙烷置于二氯甲烷中并在 -78°C 加入新升华的氯化铝。将反应混合物在相同温度下搅拌 6 小时。将反应混合物倾倒入水中,用二氯甲烷稀释。将有机层分离,干燥(Na_2SO_4)并且浓缩。残余物通过柱色谱法纯化,使用乙酸乙酯和己烷,得到标题化合物。

[0508] 参考: J. Chem. Soc., Chem. Commun., 1982, 959-960。

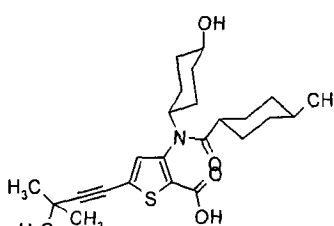
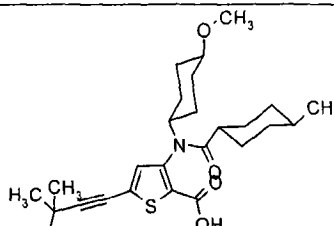
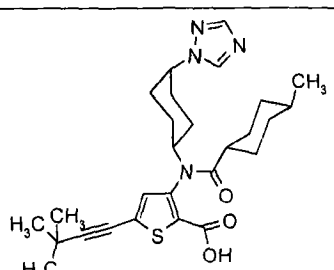
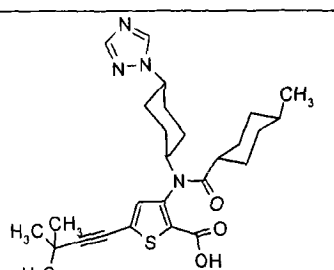
[0509] 步骤 V

[0510] 将 5-(3,3-二甲基-丁-1-炔基)-3-[(反式 4-羟基-环己基)-(反式 4-甲基-环己烷-羰基)-氨基]-噻吩-2-甲酸甲酯溶解于 THF : 甲醇 : H_2O 的 3 : 2 : 1 混合物中并用 1N 的 LiOH. H_2O 溶液处理。在 60°C 搅拌 2 小时之后,将反应混合物在旋转蒸发器上减压浓缩。将混合物在乙酸乙酯和水之间分配。使用 0.1N HCl 将水层酸化。将 EtOAc 层分离并且用 Na_2SO_4 干燥。除去溶剂并将残余物通过柱色谱法纯化,使用甲醇和二氯甲烷(1 : 9)作为洗脱剂,得到标题化合物。

[0511] 表 1

[0512] 本发明的化合物的列表

[0513]

	结构	化学命名	质谱*
1		5-(3,3-二甲基-丁-1-炔基)-3-[(反式 4-羟基-环己基)-(反式 4-甲基-环己烷羰基)-氨基]-噻吩-2-甲酸	(M-H): 444.3
2		5-(3,3-二甲基-丁-1-炔基)-3-[(反式 4-甲氧基-环己基)-(反式 4-甲基-环己烷羰基)-氨基]-噻吩-2-甲酸	(M-H): 458.3.
3		5-(3,3-二甲基-丁-1-炔基)-3-[(反式 4-甲基-环己烷羰基)-(顺式-4-[1,2,4]三唑-1-基-环己基)-氨基]-噻吩-2-甲酸	(M+H): 497.4
4		5-(3,3-二甲基-丁-1-炔基)-3-[(反式 4-甲基-环己烷羰基)-(反式 4-[1,2,4]三唑-1-基-环己基)-氨基]-噻吩-2-甲酸	(M+H): 497.4

[0514]

	结构	化学命名	质谱*
5		5-(3,3-二甲基-丁-1-炔基)-3-[(顺式-4-羟基-环己基)-(反式4-甲基-环己烷羰基)-氨基]-噻吩-2-甲酸	(M-H): 444.52
6		5-(3,3-二甲基-丁-1-炔基)-3-[(反式4-甲基-环己烷羰基)-(1-甲基-哌啶-4-基)-氨基]-噻吩-2-甲酸; 盐酸盐	(M+H): 445.29
7		5-(3,3-二甲基-丁-1-炔基)-3-[(反式4-甲基-环己烷羰基)-(4-顺式-[1,2,3]三唑-1-基-环己基)-氨基]-噻吩-2-甲酸	(M+H): 497.4
8		5-(3,3-二甲基-丁-1-炔基)-3-[(反式4-甲基-环己烷羰基)-(反式4-[1,2,3]三唑-1-基-环己基)-氨基]-噻吩-2-甲酸	(M+H): 497.4
9		5-(3,3-二甲基-丁-1-炔基)-3-[(反式4-氟-环己基)-(反式4-甲基-环己烷羰基)-氨基]-噻吩-2-甲酸	(M+H): 448.30

[0515] * 质谱分析是使用电喷射质谱分析法来记录的。

[0516] 实施例 10 : 在 HCV RNA- 依赖性 RNA 聚合酶试验中评价化合物

[0517] 将以下参考文献全部并入作为参考：

[0518] 1. Behrens, S., Tomei, L., De Francesco, R. (1996) EMBO 15, 12-22

[0519] 2. Harlow, E, 和 Lane, D. (1988) *Antibodies :A Laboratory Manual*. Cold Spring Harbord Laboratory. Cold Spring Harbord. NY.

[0520] 3. Lohmann, V. , **Körner**, F. , Herian, U. , 和 Bartenschlager, R. (1997) *J. Virol.* 71, 8416-8428

[0521] 4. Tomei, L. , Failla, C. , Santolini, E. , De Francesco, R. , 和 La Monica, N. (1993) *J Virol* 67, 4017-4026

[0522] 使用包含纯化的重组 HCV RNA- 依赖性 RNA 聚合酶 (NS5B 蛋白) 的体外聚合酶试验评价化合物。使用重组的杆状病毒作为载体在昆虫细胞中表达 HCV NS5B。用于 HCV NS5B 蛋白的克隆、表达和纯化的实验步骤描述如下。以下是用于测试化合物的 RNA- 依赖性 RNA 聚合酶试验的细节。

[0523] 在昆虫细胞中表达 HCV NS5B 蛋白：

[0524] 使用引物 NS5Nhe 5' (5' -GCTAGCGCTAGCTCAATGTCCTACACATGG-3') 和 XhoNS53' (5' -CTCGAGCTCGAGCGTCCATCGGTTGGGGAG-3') 和质粒 pCD3. 8-9. 4 作为模板 (Tomei 等人, 1993) 通过 PCR 扩增编码 HCV-Bk 毒株 1b 基因型的整个 NS5B 蛋白的 cDNA。NS5Nhe5' 和 XhoNS53' 分别在它们的 5' 末端包含两个 NheI 和 XhoI 位点 (下划线的序列)。将扩增的 DNA 片段克隆在细菌表达质粒 pET-21b (Novagen) 中的限制性位点 NheI 和 XhoI 之间, 以生成质粒 pET/NS5B。这个质粒随后用作模板进行 NS5B 编码区的 PCR 扩增, 所述扩增使用引物 NS5B-H9 (5' -ATACATATGGCTAGCATGTCAATGTCCTACACATGG-3') 和 NS5B-R4 (5' -GGATCCGGATCCCGTTCATCGTTGGGGAG-3')。NS5B-H9 跨越质粒 pET-21b 中的 15 核苷酸的区域, 随后是翻译起始密码子 (ATG) 和对应于 NS5B 编码区 (在登录号 M58335 的 HCV 序列中的 nt. 7590-7607) 的 5' 末端的 8 个核苷酸。NS5B-R4 包含两个 BamHI 位点 (下划线的部分), 随后是对应于 HCV 基因组 (nt. 9365-9347) 中终止密码子周围区域的 18 个核苷酸。扩增的 1.8kb 的序列用 NheI 和 BamHI 进行消化并且连接于预先消化的 pBlueBacII 质粒 (Invitrogen)。将得到的重组质粒命名为 pBac/NS5B。如生产商的规程中所述将 Sf9 细胞与 1 μg 的线性化杆状病毒 DNA (Invitrogen) 用 3 μg 的 pBac/NS5B 共同转染。在两轮噬斑纯化之后, 分离得到 NS5B- 重组的杆状病毒 BacNS5B。通过对 BacNS5B- 感染的 Sf9 细胞进行蛋白质印迹分析 (Harlow 和 Lane, 1988) 确定重组, NS5B 蛋白的存在, 使用所产生的针对在大肠杆菌 (E. Coli) 中表达的 NS5B 蛋白的 His- 标签形式增强的兔多克隆抗血清 (抗 NS5B)。使用这个噬斑纯化的病毒感染 Sf9 细胞是在 1 升的旋动烧瓶中进行的, 细胞密度为 1.2×10^6 细胞 / 毫升和感染复数为 5。

[0525] 可溶性重组 NS5B 蛋白质的制备：

[0526] 如上所述使 Sf9 细胞感染。在感染后六十小时, 收获细胞, 然后用磷酸盐缓冲盐水 (PBS) 洗涤两次。在增加一些改进的情况下如 Lohmann 等人 (1997) 所述将总的蛋白质溶解。简而言之, 使用裂解缓冲液 (LB) I、LBII 和 LBIII (Lohmann 等人, 1997) 用 3 个步骤提取蛋白质。改变 LBII 的组成以包含 0.1% triton X-100 和 150mM NaCl, 以降低在这个步骤中的溶解的 NS5B 蛋白质的量。另外, 在整个程序中避免对细胞提取物进行声处理, 以保持蛋白质结构的完整性。

[0527] 使用快速蛋白质液相色谱法 (FPLC) 进行重组 NS5B 的纯化：

[0528] 对 S3 级分中的可溶性 NS5B 蛋白质进行稀释, 以降低 NaCl 浓度到 300mM, 然后将

其分批与 DEAE 琼脂糖凝胶珠 (Amersham-Pharmacia) 在 4℃ 培养 2 小时, 如 Behrens 等人 (1996) 所述。通过使用 SW41 离心机转子 (Beckman) 在 4℃ 以 25000rpm 离心 15 分钟, 清除未结合的材料。将对上层清液进行进一步的稀释, 以降低 NaCl 浓度到 200mM, 并且随后以 1ml/min 的流速加载在连接于 FPLC® 系统 (Amersham-Pharmacia) 的 5ml HiTrap® 肝素柱 (Amersham-Pharmacia) 上。使用连续的 0.2 到 1M 的 NaCl 梯度以 1ml 的级分洗脱结合的蛋白质, 总共为 25ml 的体积。如下鉴别包含 NS5B 的级分: 使用十二烷基硫酸钠聚丙烯酰胺凝胶电泳 (SDS-PAGE), 随后使用 1 : 2000 稀释度的抗 NS5B 抗血清进行蛋白质印迹法。使用 PD-10 柱 (Amersham-Pharmacia) 将阳性的级分汇合并将洗脱缓冲液相对于 50mM NaPO₄ pH 7.0, 20% 甘油、0.5% triton X-100 和 10mM DTT 进行交换。然后将样品以 0.1ml/min 的流速加载在 1ml HiTrap® SP 柱 (Amersham-Pharmacia) 上。使用连续的 0-1M NaCl 梯度洗脱结合的蛋白质, 总共进行 15ml 的体积。通过 SDS-PAGE 和蛋白质印迹法分析洗脱的级分。做为选择, 在 SDS-PAGE 之后, 通过使用 Silver Stain Plus 试剂盒 (BioRad) 如生产商所述进行银染色来使蛋白质显影。对阳性级分测试 RdRp 活性 (参见以下所述) 并将最具活性的那些汇集, 并且作为甘油中的 40% 溶液储存在 -70℃。

[0529] 用于评价类似物的体外 HCV RdRp 闪烁板 (Flashplate) 闪烁亲近测定法 (STREP-FLASH ASSAY):

[0530] 这个试验在于测量在涂覆有链霉抗生物素的包埋了闪烁体的微量滴定板闪烁板™ (NEN Life Science Products inc, MA, USA, SMP 103A) 表面上捕获的 polyrA/生物素酰化的 - 低聚 dT 模板 - 引物中的 [³H] 放射标记的 UTP 的结合。简而言之, 将 400ng/μl polyrA 溶液 (Amersham Pharmacia Biotech) 与 20pmol/μl 的 5' 生物素 - 低聚 dT¹⁵ 按体积比混合。将模板和引物在 95℃ 变性 5 分钟, 然后在 37℃ 培养 10 分钟。随后将经过退火的模板 - 引物在包含 Tris-HCl 的缓冲液中稀释并且让其结合于涂覆有链霉抗生物素的闪烁板过夜。将未结合的物质弃去, 将化合物加入 10 μl 溶液中加入, 随后 10 μl 的包含 50mM MgCl₂, 100mM Tris-HCl pH 7.5, 250mM NaCl 和 5mM DTT 的溶液。通过加入包含酶和底物的 30 μl 溶液以得到以下浓度来引发酶促反应: 25 μM UTP, 1 μCi [³H]UTP 和 100nM 重组 HCV NS5B。使 RdRp 反应在室温下进行 2 小时, 之后将孔用 250 μL 的 0.15M NaCl 溶液洗涤三次, 在 37℃ 空气干燥, 并且使用液体闪烁计数器 (Wallac Microbeta Trilex, Perkin-Elmer, MA, USA) 进行计数。

[0531] 实施例 11

[0532] 基于细胞的荧光素酶报道基因 HCV RNA 复制试验细胞培养物

[0533] 本发明的化合物是 HCV 聚合酶抑制剂。令人意料之外的是, 已经发现本发明的具有特定取代型式的化合物相对于其它噻吩类似物表现出改善的治疗指数。

[0534] 如 Krieger, N; Lohmann, V; Bartenschlager, R. Enhancement of hepatitis C virus RNA replication by cell culture-adaptive mutations. J. Virol. 2001, 75, 4614-4624 所一般性描述的, 将衍生自 Huh-7 肝癌细胞系的复制子细胞系 Huh-7, 5.2 和 ET 保持在培养物中。所述 Huh-7, 5.2 包含高度适应细胞培养的复制子 I³⁸⁹luc-ubi-neo/NS3-3' /5.1 构建体, 所述构建体携带有除新霉素基因之外的整合到萤火虫荧光素酶基因的拷贝 Krieger, N; Lohmann, V; Bartenschlager, R. Enhancement of hepatitis C virus RNA replication by cell culture-adaptive mutations. J. Virol. 2001, 75,

4614-4624)。这个细胞系允许通过测量萤光素酶活性来测量 HCV RNA 的复制和翻译。以前已经表明,在这些细胞中,萤光素酶活性紧密地跟随复制子 RNA 水平 (Krieger, N; Lohmann, V; Bartenschlager, R. Enhancement of hepatitis C virus RNA replication by cell culture-adaptive mutations. J. Virol. 2001, 75, 4614-4624)。所述 Huh-7, ET 细胞系具有与对于 Huh-7, 5.2 细胞系所提及的相同的特征,不同之处在于 ET 细胞更强健并且包含 HCV NS4B 基因而不是 NS5A 的适应性突变。将两种细胞系都以低于汇合 (sub-confluent) 水平 ($< 85\%$) 保持在培养物中,因为在活跃地增殖的细胞中复制子 RNA 的水平是最高的。用于细胞传代的培养基由补充有 10% 胎牛血清的 DMEM (Gibco BRL Laboratories, Mississauga, ON) 组成,其包含 1% 青霉素 / 链霉素, 1% 谷氨酰胺, 1% 丙酮酸钠, 1% 非必需氨基酸, 和 350 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 的 G418 最终浓度。将细胞在 5% CO_2 的气氛中在 37°C 培养,

[0535] 并且每周传代两次,以保持低于汇合水平。

[0536] 将大约 3000 个有活力的 Huh-7, 5.2 或 ET 细胞 ($100 \mu\text{l}$) 在白色的不透明 96 孔微量滴定板中铺板在每个孔中。用于试验的细胞培养基与如上所述的相同,不同之处在于它不包含 G418 并且不含酚红。在 37°C 5% CO_2 的保温箱中经过 3-4 小时的孵育期之后,加入不同浓度的化合物 ($100 \mu\text{l}$)。然后将细胞进一步在 37°C、5% CO_2 保温箱中培养 4 天。其后,去除培养基并通过加入 95 μl 的萤光素酶缓冲液 (在缓冲的去垢剂中的萤光素底物) 将细胞溶胞。将细胞溶胞产物在室温下培养并且避免直射光至少 10 分钟。使用光度计 (Wallac MicroBeta Trilux, Perkin ElmerTM, MA, USA) 读取板的萤光素酶计数。

[0537] 一式两份使用每种化合物的 11 个浓度从剂量反应曲线测定抑制作用的 50% 抑制浓度 (IC_{50})。使用非线性回归分析为数据点拟合曲线,并且使用 GraphPad Prism 软件 2.0 版 (GraphPad Software Inc., San Diego, CA, USA) 从得到的曲线内推得到 IC_{50} 。

[0538] 实施例 12: 在羧基末端截短 21 个氨基酸的 HCV NS5B 基因型 1b 毒株 BK 酶测定法中评价化合物

[0539] 将以下参考文献全部并入作为参考:

[0540] ○ Tomei, L., Failla, C., Santolini, E., De Francesco, R., 和 La Monica, N. (1993) J Virol 67, 4017-4026

[0541] ○ Lesburg, C. A. 等人, 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)。

[0542] ○ Ferrari, E. 等人, Characterization of soluble hepatitis C virus RNA-dependent RNA polymerase expressed in Escherichia coli. J. Virol. 73, 1649-1654 (1999)。

[0543] 使用包含在细菌细胞中表达的纯化的重组 HCV RNA- 依赖性 RNA 聚合酶 (NS5B 蛋白) 的体外聚合酶试验评价化合物。用于 HCV NS5B 蛋白的克隆、表达和纯化的实验步骤描述如下。以下是用于测试化合物的 RNA- 依赖性 RNA 聚合酶测定法的细节。

[0544] 在昆虫细胞中表达 HCV NS5B 蛋白:

[0545] HCV NS5B 蛋白的表达和纯化

[0546] 克隆包含氨基末端六组氨酸标签的代表 21 氨基酸羧基末端截短的 HCV NS5B 基因型 1b 毒株 BK 酶 (Tomei 等人, 1993) 的重组的可溶性形式并在大肠杆菌 BL21 (DE3) 中表

达。在进行了小的改进的情况下如 Lesburg 等人 (1999) 和 Ferrari 等人 (1999) 所述纯化所述截短的酶。简而言之,将可溶性的细菌溶胞产物加载在 HiTrap 镍螯合性亲和柱 (GE Healthcare, Baie d'Urfe, QC, 加拿大) 上。使用咪唑梯度洗脱结合的酶。然后使用 PD-10 脱盐柱 (GE Healthcare, Baie d'Urfe, QC, 加拿大) 将咪唑从汇集的活性级分的缓冲液中除掉。通过将蛋白质制备物通过阳离子交换 HiTrap SP 琼脂糖凝胶柱 (GE Healthcare, Baie d'Urfe, QC, 加拿大) 实现进一步的纯化,使用 NaCl 梯度进行洗脱。其后,使用 PD-10 柱将缓冲液转换为 10mM Tris pH 7.5, 10% 甘油, 5mM DTT, 600mM NaCl。对阳性级分进行 RNA- 依赖性聚合酶活性活性的测试并将最有活性的级分汇集并且储存在 -70°C。

[0547] 体外 NS5B 试验

[0548] 通过使用均聚 RNA 模板 / 引物评价由新合成的 RNA 中的酶结合的放射性标记的 UTP 的量来测量化合物对 HCV NS5B 聚合活性的抑制作用。简而言之,将复性到均聚的聚 rA RNA 模板上的 15- 聚体的 5' - 生物素酰化的 DNA 寡核苷酸 (低聚 dT) 引物捕获在涂覆有链霉抗生物素的小珠 (GE Healthcare, Baie d'Urfe, QC, 加拿大) 的表面上。基本上,将化合物以多种浓度 (0.005-200 μ M) 在 50 μ L 的反应混合物最终容积中进行试验,所述反应混合物包括 20mM Tris-HCl pH 7.5, 5mM $MgCl_2$, 1mM DTT, 50mM NaCl, 50nM 纯化的 NS5B 酶, 250ng 的聚 rA/ 低聚 dT15 (Invitrogen, Burlington, Ontario, 加拿大), 15- μ M 的非放射性的 UTP, 和 1 μ Ci 的 [^{3} H]UTP (3000Ci/mmol; GE Healthcare, Baie d'Urfe, QC, 加拿大)。通过测量在生长的引物 3' 末端上结合的放射性标记的 [^{3} H]UTP 底物来量化 HCV NS5B 酶的聚合活性并且检测是使用液体闪烁计数器 (Wallac MicroBeta Trilux, Perkin ElmerTM, MA, USA) 通过计数信号来进行的。

[0549] [^{3} H] 胸苷结合试验

[0550] 将总共 1,000-2,000 细胞 / 孔接种在 96 孔簇培养皿中的补充有 10% FBS (HyClone Laboratories, Inc., Logan, Utah) 和 2mM 谷氨酰胺 (Life Technologies, Inc.) 的 150 μ L 体积的 DMEM (Life Technologies, Inc., Gaithersburg, Md.) 中。加入青霉素和链霉素 (Life Technologies, Inc.) 使最终浓度分别为 500U/mL 和 50 μ g/mL。在 37°C 在 5% CO_2 的气氛中培养 18 小时之后,除去培养基并且用在培养基中稀释的化合物来代替。对六个连续的两倍稀释的药物进行一式三份的试验。在进一步 72 小时的培养之后,加入体积为 50 μ L 的在培养基中的 [^{3} H] 甲基胸苷的 10 μ Ci/mL 溶液 (Amersham LifeScience, Inc., Arlington Heights, Ill.; 2Ci/mmol) 并将板在 37°C 培养另外的 18 小时。然后将细胞用磷酸盐缓冲盐水 (PBS) 洗涤,胰蛋白酶消化 2 分钟,并且使用 Tomtec 细胞收集器 (Tomtec, Orange, Conn.) 收集到玻璃纤维过滤器上。将过滤器在 37°C 干燥 1 小时并且置于具有 4.5mL 液体闪烁混合液 (Wallac Oy, Turku, 芬兰) 的袋中。使用液体闪烁计数器 (1450-Microbeta; Wallac Oy) 测量代表有活力的复制性细胞的 [^{3} H] 甲基胸苷的蓄积。参考 SOP:265-162-03。对于这个实验,使用的细胞系是:Huh-7ET (得自 Huh-7 细胞系 (肝细胞癌,人) 并且包含 HCV 亚基因组复制子的细胞), Mol-4 (外周血,急性淋巴母细胞性白血病,人), DU-145 (前列腺癌,转移到脑,人), Hep-G2 (肝细胞癌,人), 和 SH-SY5Y (神经母细胞瘤,人) 细胞。

[0551] 数据分析

[0552] 从一式三份使用每个化合物的六到八个浓度得到的剂量反应曲线测定细胞毒性的 50% 细胞毒浓度 (CC_{50})。使用非线性回归分析为数据点拟合曲线,并且使用 GraphPad

Prism 软件 2.0 版 (GraphPad Software Inc, San Diego, CA, USA) 从得到的曲线内推得到 IC50 值。

[0553] TI :得自实施例 12 的在 HCV 复制子细胞 (Huh-7ET 细胞) 中的 CC50/IC50 比值。在多次测试化合物时,提供的是 TI 的平均值。

[0554] 表 2 列出了所选本发明的代表性化合物相对于其它噻吩类 HCV 聚合酶抑制剂的治疗指数 (Ti)。

[0555] 表 2

化合物	TI
1	++++++
2	+++
3	++++++
4	++++
5	++++++
6	++++++
7	+++++
8	++++++
9	++++++
A	++
B	++
C	+
D	++++
E	+++
F	++
G	+++
H	+
I	++

[0557] TI

[0558] + : < 100

[0559] ++ : 100-1000

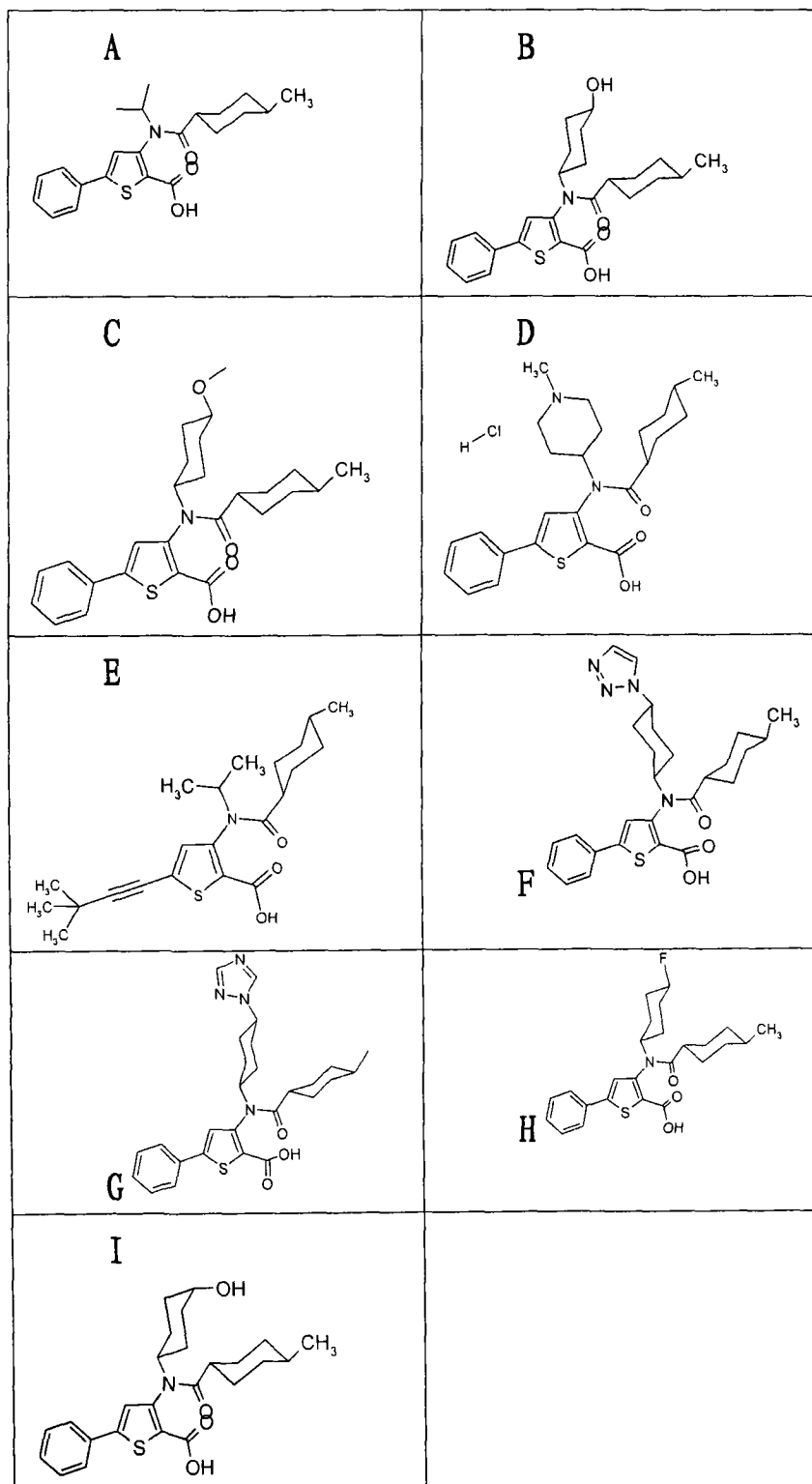
[0560] +++ : 1000-2000

[0561] ++++ : 2000-4000

[0562] +++++ : 4000-6000

[0563] ++++++ : > 6000

[0564]



[0565] 化合物 A 到 I 可以如美国专利第 6, 881, 741 号, W002/100851, W02004/052885, 或 WO 2006/072347 中所述合成。

[0566] 实施例 13 在人和大鼠微粒体中的稳定性和在培养的人肝细胞中的诱导

[0567] 本发明的具有特定取代型式的某些化合物相对于其它噻吩类似物表现出在人肝细胞中的改善的微粒体稳定性和 / 或诱导。例如, 化合物 1 和 2 相对于化合物 E 表现出更

好的微粒体稳定性特征和诱导特征。

[0568] 在人和大鼠微粒体中的稳定性

[0569] 将每种化合物在肝微粒体 (1.6mg/mL) 中在氧化和葡萄糖醛酸化条件 (含 1.5mM NADPH 和 1.5mM UDPGA 的磷酸盐缓冲液, pH = 7.4) 下在 37° 培养。将不含 NADPH 和不含 UDPGA 的培养用作对照。将化合物以 50uM 的浓度温育 0 和 60 分钟。通过加入等体积的乙腈终止反应。将混合物离心并通过 HPLC/UV 或 MS/MS 分析上清液。剩余的母体的百分比相应于在 60 分钟培养中的母体化合物面积与在 0 分钟培养中的母体化合物面积的比值 x100。

[0570] 在培养的人肝细胞中的诱导

[0571] 在冷藏的或新鲜培养的人肝细胞中进行诱导。将细胞在胶原上培养 48 小时。在此期间之后,为细胞添加新掺杂的包含试验化合物或阳性对照诱导物利福平的培养基。培养中的试验化合物的最终浓度为 1、10 和 100mM,而阳性对照以 10mM 进行试验。阴性对照 (NC) 是将细胞与 0.1% DMSO 最终含量进行培养。细胞处理总共进行 48 小时,每天更换掺杂了试验化合物或对照诱导物的新鲜培养基。在诱导期结束时,将包含诱导物的培养基除去并将细胞用包含 12mM HEPES 的 200uL 的 Krebs-Henseleit 缓冲液 pH 7.4 (KH 缓冲液) 洗涤两次。然后通过使用睾酮作为底物的活性和通过 mRNA 水平测量 CYP3A4 的诱导。对于 CYP3A4 活性,加入掺杂了 200mM 睾酮的新鲜 KH 缓冲液并将细胞在 37°C 培养 30 分钟。在孵育期结束时,将培养基除去并通过用于 6-β-羟基睾酮测定的 HPLC/MS 进行分析。用 10mM 利福平处理确定最大诱导 (100% 诱导)。将试验化合物引起 CYP3A 诱导的能力描述为使用经典诱导物得到的最大诱导的百分率。对于 mRNA 水平测定,收获肝细胞并且使用 Qiagen RNeasy 纯化试剂盒 (Mississauga, ON) 根据生产商的说明书制备总 RNA。使用具有通用引物 (Roche Diagnostic, 德国) 的 M-MLV 逆转录酶 (Invitrogen, Carlsbad, CA) 从总 RNA 合成肝细胞的 cDNA。使用 Applied Biosystem's ABI Prism 7700 序列检测系统通过定量的实时 PCR 进行总 RNA 样品中的特异性 mRNA 表达的分析。用于 CYP3A4 的引物为作为正向引物的 5'-TCA GCC TGG TGC TCC TCT ATCTAT-3' 和作为反向引物的 5'-AAG CCC TTA TGG TAG GAC AAA ATATTT-3'。使用的探针是 5'-/56-FAM/TCC AGG GCC CAC ACC TCT GCCT/36-TAMSp/-3'。通过实时检测将数据归一化为核糖体的 18SmRNA (VIC)。使用 Microsoft® Excel 进行数据分析和统计检验。结果可以根据下式报告为与对照组相比较的折叠变化基因表达:

[0572] $\Delta Ct = Ct_{FAM} - Ct_{VIC}$

[0573] $\Delta \Delta Ct = \Delta Ct_{\text{药物候选物}} - \Delta Ct_{\text{对照}}$

[0574] 折叠诱导: $2^{-\Delta \Delta Ct}$

[0575] 可以通过用本发明一般性或具体地描述的反应物和 / 或操作条件替换用于前述实施例中的那些来重复前述实施例,并且取得类似的成功。

[0576] 通过前面的描述,本领域技术人员可以容易地确定本发明的必要特征,并且在不脱离本发明的精神实质和范围的前提下进行各种改变和改进以使其适应各种用途和状况。