



República Federativa do Brasil
Ministério do Desenvolvimento, Indústria
e do Comércio Exterior
Instituto Nacional da Propriedade Industrial.

(21) **PI1000099-2 A2**

(22) Data de Depósito: 27/01/2010
(43) Data da Publicação: 27/09/2011
(RPI 2125)



* B R P I 1 0 0 0 9 9 A 2 *

(51) *Int.Cl.:*
A61K 31/00
A61K 31/04
A61K 31/33

(54) Título: COMPOSTOS PEPTÍDEOS MIMÉTICOS
POTENCIALMENTE ATIVOS CONTRA VÍRUS DA
HEPATITE C E COMPOSIÇÃO FARMACÊUTICA
CONTENDO TAIS COMPOSTOS

(73) Titular(es): Universidade Federal Fluminense, Universidade
Federal do Rio de Janeiro , Universidade Federal do Rio de Janeiro

(72) Inventor(es): Amílcar Tanuri, Emmerson Corrêa Brasil da
Costa, Estela Maris Freitas Muri, Helena de Souza Pereira, José
Boullosa Alonso Neto, Octávio Augusto Ceva Antunes, Ronaldo da
Silva Mohana Borges, Sergio Pinheiro, Thalita Gonçalves Barros

(57) Resumo: COMPOSTOS PEPTÍDEOS MIMÉTICOS
POTENCIALMENTE ATIVOS CONTRA VÍRUS DA HEPATITE C E
COMPOSIÇÃO FARMACÊUTICA CONTENDO TAIS COMPOSTOS. A
presente invenção se refere à compostos peptídeo miméticos
potencialmente ativos contra vírus da hepatite C e composição
farmacêutica contendo tais compostos, desenhados como inibidores
de polimerases e serina protease do vírus da Hepatite C (HCV),
sintéticos, caracterizados por possuir, na porção central, uma estrutura
do tipo 1,4:3,6-dianidromanitol. As porções laterais são caracterizadas
por possuir ligações peptídeo miméticas provenientes do acoplamento
com diversos aminoácidos N-protégidos.



Relatório Descritivo de Patente de Invenção

COMPOSTOS PEPTÍDEOS MIMÉTICOS POTENCIALMENTE ATIVOS CONTRA VÍRUS DA HEPATITE C E COMPOSIÇÃO FARMACÊUTICA CONTENDO TAIS COMPOSTOS

5

Campo da Invenção

A presente invenção se refere à COMPOSTOS PEPTÍDEO MIMÉTICOS POTENCIALMENTE ATIVOS CONTRA VÍRUS DA HEPATITE C E COMPOSIÇÃO FARMACÊUTICA CONTENDO TAIS COMPOSTOS, desenhados como inibidores de polimerases e serina protease do vírus da Hepatite C (HCV), sintéticos, caracterizados por possuir, na porção central, uma estrutura do tipo 1,4:3,6-dianidromanitol. As porções laterais são caracterizadas por possuir ligações peptídeo miméticas provenientes do acoplamento com diversos aminoácidos N-
10 protegidos. Esses novos compostos, se ativos contra o vírus da hepatite C, poderão ser a base para a preparação de formulações antivirais capazes de cessar a
15 proliferação do HCV responsável pela flavivirose, a Hepatite C.

Antecedentes da Invenção

A família Flaviviridae compreende mais de 60 viroses, das quais muitas são patogênicas ao ser humano. Dentre estas viroses encontram-se aquelas relacionadas ao vírus da Hepatite C (HCV), da Febre do Oeste do Nilo (ou Febre do Nilo Ocidental), da febre amarela e da Dengue. No caso das hepatites virais, são pelo menos sete os tipos de vírus que já foram caracterizados: A, B, C, D, E, G e TT, que têm em comum o hepatotropismo e podem levar a inflamação e necrose
20 hepática. Hepatite é o termo genérico, com origem grega *hepato-* (fígado) e *-itis* (inflamação), que designa a inflamação do fígado.

As hepatites virais, particularmente, são causadas por diferentes agentes etiológicos, de distribuição global dentre eles o HCV (Craxi, A.; Laffi, G.; Zignego, A.L. *Mol. Aspects Med.* **2008**, 29, 85-95; Manns, M.P.; Foster, G.R.; Rockstroh, J.K.; Zeuzem, S.; Zoulim, F.; Houghton, M. *Nat. Rev. Drug Discov.* **2007**, 6, 991-
30 1000).

Em termos estruturais o HCV é um vírus envelopado, possuindo um genoma RNA, com aproximadamente 9.4Kb. O genoma possui uma única janela aberta de leitura que codifica três proteínas estruturais (cerne, E1, E2) e sete proteínas não estruturais (p7, NS2 a NS5B). Duas regiões não traduzidas (UTR) presentes em cada extremidade do genoma são importantes para as etapas de tradução e transcrição do genoma RNA. Foi descrita uma grande variedade na seqüência genômica do HCV. Os diferentes genótipos foram reunidos em seis grupos principais e vários subtipos. Há uma distribuição geográfica diferenciada em relação aos diferentes genótipos. No Brasil, os mais freqüentes são os genótipos 1, 2 e 3 com incidência de 70; 2,5 e 28 %, respectivamente.

O genoma viral codifica uma única poliproteína longa de aproximadamente 3000 aminoácidos. Esta poliproteína é processada subsequente por proteases codificadas pelo vírus e pelo hospedeiro, gerando 10 proteínas virais maduras. As proteínas de cápsula ("core") E1 e E2 são estruturais e estão envolvidas com a montagem da partícula viral, enquanto as proteínas NS2 a NS5B são chamadas não-estruturais e estão envolvidas com a propagação do vírus. Estas proteínas não-estruturais incluem a helicase vírus-específica NS3, a protease NS3-NS4A e a RNA polimerase RNA-dependente NS5B (RdRp, ou replicase).

A atual terapia baseia-se no uso do interferon alfa combinado com ribavirina. O tratamento apenas com o IFN-alfa apresenta apenas 10-19% de resposta sustentada. A Ribavirina é um análogo sintético da guanosina que tem ação direta contra vírus de RNA e DNA, por provável mecanismo de inibição da DNA polimerase vírus-dependente. A Ribavirina sozinha, no entanto, não tem qualquer efeito sobre a hepatite C. A combinação do interferon-alfa com a Ribavirina melhora a resposta virológica sustentada para 38-43%, com correspondente melhora na análise histológica (biópsia) e, possivelmente, nas complicações em longo prazo da hepatite, contudo não há estudos prospectivos convincentes (Heathcote, E.J. *J. Viral Hepat.* **2007**, *14*, Suppl 1, 82-8; Koike, K.J. *Infect. Chemother.* **2006**, *12*, 227-32; Toniutto, P.; Fabris, C.; Pirisi, M. *Expert. Opin. Pharmacother.* **2006**, *7*, 2025-35).

Mesmo com este arsenal terapêutico, a infecção pelo HCV é responsável por mais de 80% dos transplantes de fígado no mundo, e no Brasil. (Consenso da Sociedade Paulista de Infectologia (SPI) para Manuseio e Terapia da Hepatite C,

São Paulo, SP.) Diversos novos compostos têm sido avaliados para o tratamento das infecções pelo HCV. Esses compostos se encontram em fases iniciais de avaliação, ou seja, estudos *in vitro* ou pré-clínicos em animais. Porém, a maioria desses compostos ainda não foi analisada em fases de triagem envolvendo seres humanos (estudos clínicos). De forma geral, apenas 1 em cada 1.000 novos compostos chega a ser avaliado em etapas que envolvem seres humanos. Entre esses, somente 1 em 5 recebe a aprovação pelo Food and Drug Administration, FDA, escritório de alimentos e medicamentos do governo dos Estados Unidos da América.

Vários esforços têm se concentrado na lista de tratamentos que tem se mostrado promissores em estudos clínicos envolvendo seres humanos. A Tabela 1 abaixo mostra alguns compostos com potencial de inibir a infecção pelo HCV e as fases clínicas que se encontram.

Tabela 1 – Compostos com potencial de inibição da infecção pelo HCV e suas respectivas fases clínicas. (Soriano, V.; Madejon, A.; Vispo, E.; Labarga, P.; Garcia-Samaniego, J.; Martin-Carbonero, L.; Sheldon, J.; Bottecchia, M.; Tuma, P.; Barreiro, P. *Expert. Op. Emerg. Drugs* 2008, 13, 1-19).

Fase I	Fase II	Fase III	Fase IV
ANA971	XTL-6865 (formerly HepX-C)	REBIF	Infergen /Consensus
Interferon Alfa oral	E - 1	IP-501	Amantadine
ANA 975	Civacir	Viramidine*	
EMZ702	Omega Interferon	Zadaxin	
HCV/MF59	Multiferon	NM283*	
HCV-796*	IDN-6556		
Bavituxinab (Tarvacin)	Albuferon		
Alinia (nitrazoxanide)	IC41		
BLX-883 (Locteron)	Medusa Interferon		
R1626*	VX 950 **		
GGI-5005	CPG 10101		

NOV-205	BIVN-401 (Virostat)		
XTL-2125	MX-3253 (Celgosivir)		
G126270	SCH 503034**		
	VGX-410C		

* Inibidores da RNA polimerase

** Inibidores da protease

Os alvos da terapia anti-HCV estão concentrados nas diferentes etapas de replicação do RNA viral, e além desses as novas terapias estão direcionadas nas etapas de tradução (ribozimas, oligos anti-senso, RNAi), processamento proteolítico (inibidores da protease viral) e de replicação do genoma RNA (inibidores da RNA polimerase viral).

O Valopicitabine (Idenix Pharmaceuticals), já em fase avançada de testes clínicos, se caracteriza por ser um inibidor RNA-RNA polimerase viral, e a análise envolvendo 79 pacientes mostraram em duas semanas uma redução de 90% da carga viral, sendo que a maioria desses pacientes não respondia ao tratamento com interferon. O Valopicitabine será empregado como um terceiro medicamento no tratamento, junto com o interferon e a Ribavirina, para se obter uma maior resposta terapêutica. Duas outras drogas, das quais uma deverá ser utilizada como terceira droga no tratamento são os inibidores de protease: SCH-503034 (Schering-Plough) e o VX-950 (Vertex). Em estudo realizado pela Vertex em 34 voluntários com o VX-950, mostrou que após duas semanas de tratamento a diminuição da carga viral foi 250 vezes maior do que o Interferon Peguilado combinado a Ribavirina na redução da carga viral.

O HCV tem dois alvos potenciais para desenvolvimento de novas drogas antivirais. Um é a molécula de (NS5) RNA Polimerase RNA dependente que consegue replicar uma molécula de RNA em outra. Esta é uma atividade única dos vírus de RNA, não se encontrando essa atividade nas células hospedeiras. Dessa forma a RNA Polimerase RNA dependente é um alvo muito específico para o HCV. Além da replicase viral ainda temos a NS3 (serina protease) que é responsável pelo processamento da poliproteína viral. Apesar de ser uma serina protease, a NS3 tem

uma estrutura molecular muito diferente das serinas proteases das células humanas, o que possibilita o desenvolvimento de inibidores específicos para esta protease.

O peso molecular do monômero da protease NS3 do HCV é de 70 kDa. Sua estrutura ativa é um dímero e a estrutura terciária do monômero tem uma extensão na porção N-terminal, 2 domínios com 6 "beta-barrels" (conjunto de fitas beta-pregueadas) cada, assim como um domínio de troca e uma alfa hélice. O sítio ativo da protease está localizado na porção N-terminal. Comparando a sequência da NS3 de outros flavivírus podemos identificar três resíduos conservados (His-57, Asp-81, and Ser-139) que compõem o centro catalítico desta protease. O centro ativo da protease NS3 contém um sítio estabilizador de um oxianion tetraédrico, intermediário da reação, "oxyanion/stabilization loop", e uma fita E2 e precedida por uma fita E1. A NS3 cliva a poliproteína viral entre os resíduos de aminoácidos Cys/Ser (nos sítios 4B/5A e 5A/5B), Cys/Ala (no 4A/4B), ou Thr/Ser (no 3/4A).

A NS3 assume uma estrutura de dois conjuntos de fitas beta pregueadas. O primeiro localizado na porção N-terminal contém as fitas A1, B1, C1, D1, E1, e F1. O segundo barril beta é composto pelas fitas A2, B2, C2, D2, E2, e F2.

Vários trabalhos têm sido relatados sobre inibidores de serina protease. Recentemente, derivados hexapeptídicos contendo uma função eletrofílica α -ceto-amida têm sido descritos como potentes inibidores da serina protease de HCV (Arasappan, A.; Njoroge, F.G.; Chan, T.-Y.; Bennett, F.; Bogen, S.L.; Chen, K.; Gu, H.; Hong, L.; Jao, E.; Liu, Y.-T.; Lovey, R.G.; Parekh, T.; Pike, R.E.; Pinto, P.; Santhanam, B.; Venkatraman, S.; Vaccaro, H.; Wang, H.; Yang, X.; Zhu, Z.; Mckittrick, B.; Saksena, A.K.; Girijavallabhan, V.; Pichardo, J.; Butkiewicz, N.; Ingram, N.; Malcolm, B.; Prongay, A.; Yao, N.; Marten, B.; Madison, V.; Kemp, S.; Levy, O.; Lim-Wilby, M.; Tamura, S.; Ganguly, A.K. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2005**, 15, 4180-4184). Ainda dentro da classe das α -ceto-amidas, o VX-950 e o SCH503034 (Bocepravir), já mencionados anteriormente, encontram-se em desenvolvimento clínico. O VX-950 foi capaz de reduzir a carga viral plasmática de pacientes dosados com 750mg a cada 8h, e em alguns pacientes o vírus tornou-se indetectável após 14 dias de dosagem (Chen, K.X.; Vibulbhan, B.; Yang, W.; Cheng, K.-C.; Liu, R.; Pichardo, J.; Butkiewicz, N.; Njoroge, F.G. *Bioorg. Med. Chem.* **2008**, doi:10.1016/j.bmc.2007.11.002. Perni, R.B.; Almquist, S.J.; Byrn, R.A.; Chandorkar,

G.; Chaturvedi, P.R.; Courtney, L.F.; Decker, C.J.; Dinehart, K.; Gates, C.A.; Harbeson, S.L.; Heiser, A.; Kalkeri, G.; Kolaczowski, E.; Lin, K.; Luong, Y-P.; Rao, B.G.; Taylor, W.P.; Thomson, J.A.; Tung, R.D.; Wei, Y.; Kwong, A.D.; Lin, C. *Antimicrob. Agents Chemother.* **2006**, 50, 899-909).

5 Na literatura patentária foram encontrados documentos relacionados à presente invenção, porém sem infringir o escopo da mesma, sendo as mais relevantes descritas a seguir:

O documento WO2008137126 descreve um método de tratamento de infecção por HCV utilizando uma combinação terapêutica compreendendo um
10 inibidor de serina protease e um de polimerase. Não sendo um composto único como inibidor de ambas serina protease e polimerase do HCV, e tais compostos descritos fazem parte do estado da técnica.

O documento WO2007092616 descreve medicamentos, composições ou kits farmacêuticos e métodos, baseados em combinações de pelo menos um inibidor de
15 protease de HCV, e um inibidor de polimerase de HCV, para serem administrados no tratamento de sintomas causados por HCV. Os compostos que atuam como inibidores de protease e polimerase também estão descritos.

O documento US7105499 descreve compostos que atuam como inibidores de polimerase do HCV.

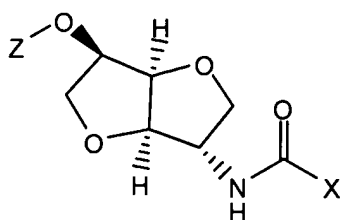
20 O documento US2007027071 descreve compostos macrocíclicos que atuam como inibidores de protease do HCV.

O documento PI0401908-3, de titularidade da UFRJ, descreve compostos inibidores de serina protease sintéticos, com um eixo de simetria C₂, utilizados como base para a preparação de formulações antivirais capazes de cessar a proliferação
25 dos vírus responsáveis pela maioria das flavirose, como por exemplo, hepatite C, Dengue e febre do oeste do Nilo.

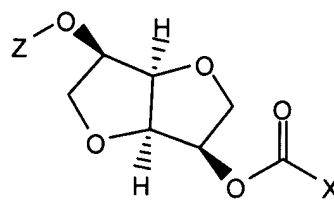
Como pode ser observado existem diversos documentos que descrevem ou inibidores de protease ou inibidores de polimerase, ou ainda uma combinação de ambos, porém nenhum consegue descrever um composto capaz de atuar como
30 inibidor de protease e polimerase, mais especificamente relacionado ao HCV.

Sumário da Invenção

O primeiro objeto da presente invenção refere-se a compostos inibidores da serina protease e potencialmente inibidores de RNA e DNA polimerases de fórmula geral (I) e (II):

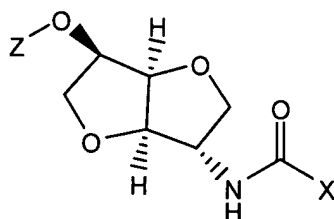


(I)



(II)

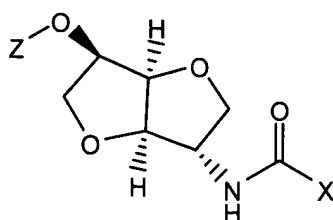
O segundo objeto dessa invenção refere-se a uma composição farmacêutica contendo o dito composto de fórmula molecular (I),



(I)

assim como seus derivados e/ou seus sais farmacêuticamente aceitáveis, para a produção de um medicamento usados como inibidores de DNA e RNA polimerases e/ou serina proteases.

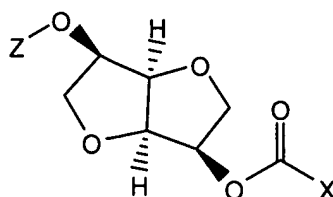
O terceiro objeto dessa invenção trata-se de uma composição farmacêutica contendo o composto de fórmula molecular (I),



(I)

assim como seus derivados e/ou seus sais farmaceuticamente aceitáveis, voltados para a produção de um medicamento usado no tratamento de doenças causadas pelos vírus da família Flaviviridae em mamíferos humanos e não humanos.

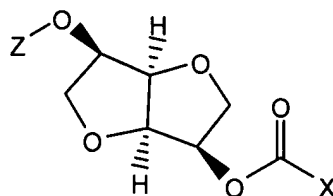
- 5 O quarto objeto dessa invenção trata-se de uma composição farmacêutica contendo o dito composto de fórmula molecular (II),



(II)

- assim como seus derivados e/ou seus sais farmaceuticamente aceitáveis, usados para a produção de um medicamento usados como inibidores de DNA e RNA polimerases e/ou serina proteases.
- 10

O último objeto dessa invenção trata-se de uma composição farmacêutica, contendo o dito composto de fórmula molecular (II),



(II)

- 15 assim como seus derivados e/ou seus sais farmaceuticamente aceitáveis, voltados para a produção de um medicamento usado no tratamento de doenças causadas pelos vírus da família Flaviviridae em mamíferos humanos e não humanos.

Descrição das Figuras

- 20 A **Figura 1** mostra através dos gráficos A e B os resultados da inibição da protease NS3/4A do HCV. Na avaliação do potencial inibitório do composto **22** na enzima NS3pro/4A, foram realizados ensaios de IC₅₀% que é uma medida que indica a concentração necessária da droga para inibir 50% da atividade *in vitro*. Em A, está representada a curva de inibição da NS3pro/4A com o composto **22**. Em B, a curva

de inibição apresenta diversos pontos que representam diversas concentrações do composto (0; 7,8; 15,6; 31,2; 62,5; 125,0; 250,0; 500,0; e 1000,0 μ M).

A **Figura 2** avalia se o composto 22 promove aumento ou redução da atividade proteolítica, realizado a partir de uma nova síntese química do composto.

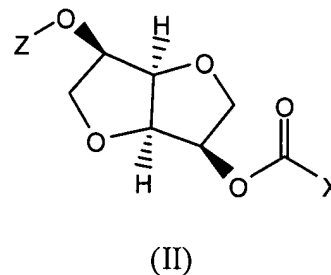
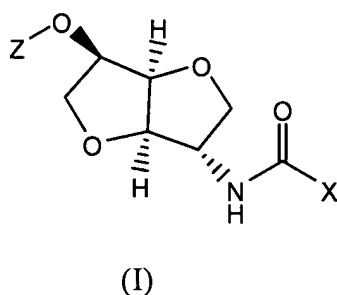
Um novo lote do composto 22 foi resuspendido em DMSO a 100% e os ensaios cinéticos realizados no mesmo dia. No gráfico A, cada ponto representa diversas concentrações do composto (0; 7,8; 15,6; 31,2; 62,5; 125,0; 250,0; 500,0; e 1000,0 μ M). No gráfico B, curva de inibição da NS3pro/4A com o composto 22 recém sintetizado mostra em Cada ponto a média de 4 medidas independentes de 4 replicatas em diversas concentrações (0; 0,08; 0,16; 0,63; 1,25; 2,5; 5,0 e 10,0 μ M) do composto 22.

Descrição Detalhada da Invenção

A presente invenção refere-se aos compostos de fórmula geral (I) e (II), desenhados como inibidores de polimerases e serina proteases.

Estes compostos são potencialmente ativos em vírus da família flaviviridae, preferencialmente; tais compostos são ativos na inibição da serina protease do HCV e vírus da dengue.

Para os compostos inibidores de polimerases e serina da presente invenção de fórmula geral (I) e (II),



X é definido como aminoácidos protegidos com grupamentos carboxi-*t*-butila (-Boc) e/ou carboxibenzila (-Cbz) que serão utilizados na síntese dos pseudopeptídeos. Sendo Z igual a benzila (-Bn), carboxibenzila (-Cbz) ou carboxi-*t*-

butila (-Boc); capazes de conferir rigidez ao inibidor, e que por sua natureza também podem atuar em polimerases, como DNA ou RNA polimerases, inibindo-as.

Os ditos compostos de fórmula molecular (I) e (II), assim como seus derivados e/ou sais farmaceuticamente aceitáveis são usados em uma composição farmacêutica como inibidores de DNA e RNA polimerases e serina proteases.

Tal composição farmacêutica apresenta uma concentração que varia na faixa de 10 μ M a 150 μ M do dito composto de fórmula molecular I e/ou II, assim como seus derivados e/ou sais farmaceuticamente aceitáveis.

Para fins dessa invenção os excipientes são todos aqueles compostos químicos que tem como objetivo dar forma, volume, estabilidade a composição farmacêutica. Todos os excipientes que aqui serão usados são aqueles das indústrias farmacêuticas tais como: adjuvantes, edulcorantes, solventes, estabilizantes, antioxidantes, conservantes, tampões, flavorizantes, tensoativos, umectantes, lubrificantes, dispersantes e todos aqueles conhecidos por um técnico na área.

Os tais excipientes podem ser empregados em diferentes formas farmacêuticas, tais como pós, comprimidos, cápsulas, nanocápsulas, nanoesferas, processos de hot-melt extrusion, co-cristais, ampolas, soluções orais, adesivos transdérmicos, soluções injetáveis musculares ou parenterais, pomadas, cremes, géis, suspensões, emulsões, aerosóis, tinturas, elexires, pastas, pastilhas, supositórios, ugüentos, óvulos, e todas aquelas conhecidas por um técnico da arte.

Tal composição farmacêutica que contém os compostos (I) e/ou (II), assim como seus derivados e sais farmaceuticamente aceitáveis, é empregada para a produção de um medicamento no tratamento de doenças causadas pelos vírus da família Flaviviridae, compreendendo os vírus dessa família os vírus da hepatite C, da dengue, da febre amarela, da febre do oeste ou febre do Nilo, sendo preferencialmente empregado no tratamento de doenças provocadas pelo vírus da dengue e da hepatite C. No caso da hepatite C estão compreendidos os seguintes vírus A, B, C, D, E, G e TT.

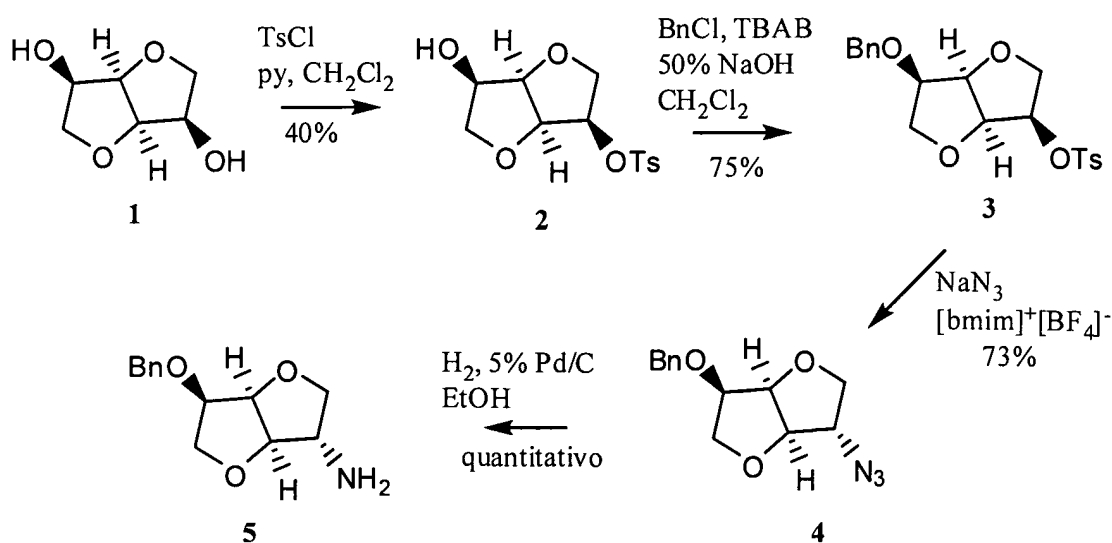
Compostos de fórmula geral (I) e (II) foram produzidos a partir do isomanídeo como análogos dos previamente publicados pelo grupo, com a analogia adicional a pró-nucleosídios, isto é, compostos capazes de inibir polimerases. Sua analogia

estrutural com dipeptídeos rígidos cíclicos o faz um excelente chassi, cerne rígido, “scaffold”. Além disto, pelo fato de apresentar um eixo C2 de simetria, pode ser homologado, em duas ou em uma posição, mantendo ou não o eixo de simetria, via reação com diferentes aminoácidos e diidroamino ácidos, por exemplo, via

A partir dos dados obtidos anteriormente passou-se, então, a etapa de síntese dos inibidores da serina protease previstos.

A primeira etapa na obtenção dos derivados de fórmula geral I consistiu na conversão do isomanídeo (**1**) no derivado mono-tosilado (**2**) por reação com cloreto de *p*-toluenosulfonila em piridina por 12h a temperatura ambiente. O tratamento do mono-tosilado (**2**) com cloreto de benzila em meio básico usando TBAB como catalisador de transferência de fases forneceu o derivado benzilado (**3**). Este reagiu com azida de sódio em [bmim]BF₄ a 120°C por 12h forneceu a azida (**4**), com inversão de configuração. Redução da azida (**4**) com paládio sobre carbono em etanol por 12h utilizando uma pressão de 40psi resultou na amina (**5**), que foi o substrato para a formação de novas amidas derivadas do isomanídeo (**10-22**) (Esquema 1).

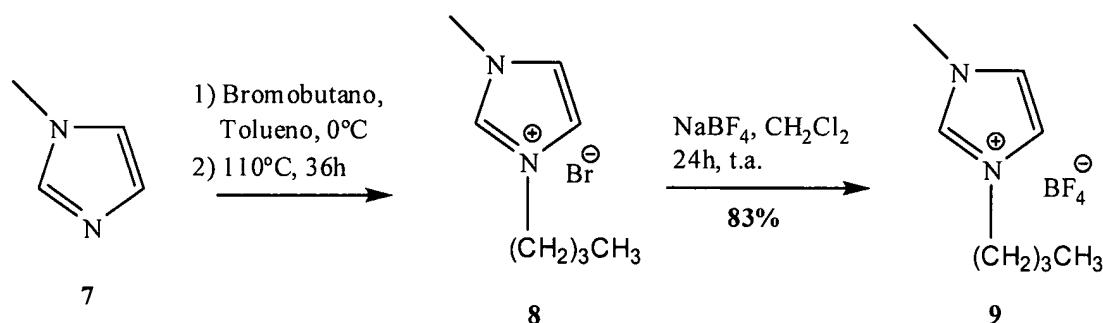
Esquema 1. Síntese dos compostos intermediários para a obtenção da amina (**5**).



Diferentes solventes podem ser usados na etapa de substituição nucleofílica, tais como, DMF e DMSO. Porém, o [bmim]BF₄, líquido iônico, apresenta muitas vantagens em relação aos solventes orgânicos convencionais, além de ter apresentado um melhor rendimento reacional. Os líquidos iônicos não possuem pressão de vapor mensurável à temperatura ambiente, e mesmo a temperaturas bastante elevadas degradam apenas acima de 400°C, podendo ser usados em vácuo sem que haja perda de solvente.

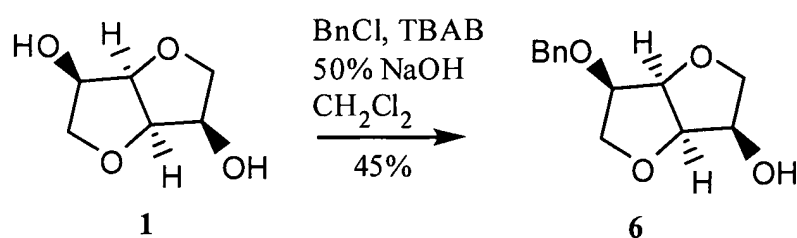
O líquido iônico, [bmim]BF₄ (**9**) foi sintetizado a partir do N-metilimidazol (**7**). Este reagiu com o 1-bromobutano formando o derivado (**8**) que, por troca iônica com NaBF₄, originou (**9**). O líquido iônico foi purificado por coluna cromatográfica em sílica gel tendo como eluente o diclorometano, sendo obtido em 83% de rendimento como mostrado no esquema 2.

Esquema 2. Síntese do líquido iônico [Bmim]⁺[BF₄]⁻



A síntese dos inibidores da serina protease previstos pela fórmula geral II iniciou-se pela mono benzilação do isomanídeo usando cloreto de benzila em meio básico formando o composto monobenzilado (**6**).

Esquema 3. Síntese do derivado mono benzilado (**6**).



A última etapa para obtenção dos compostos de fórmula geral I e II consistiu na reação de acoplamento da amina O-benzilada (**5**) e do mono benzil isomanídeo (**6**) com diversos amino ácidos (D- ou L-) contendo grupos de proteção N-BOC e/ou N-Cbz usando DCC como reagente de acoplamento e DMAP como catalisador em diclorometano (Esquema 4). A estrutura dos amino ácidos N-protegidos bem como os rendimentos das reações é mostrada na tabela 1.

Esquema 4. Síntese dos compostos (**10-22**) e (**23-31**)

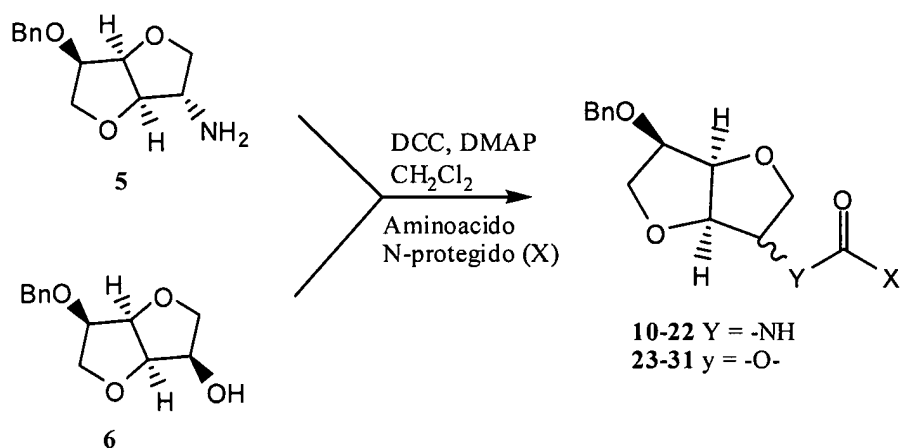
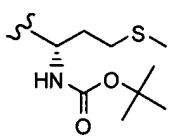
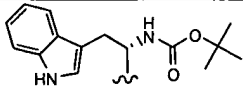
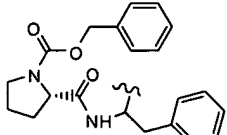
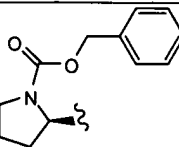
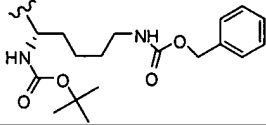
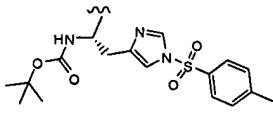
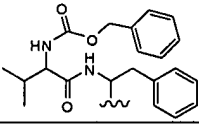
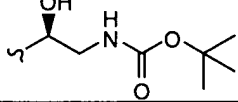
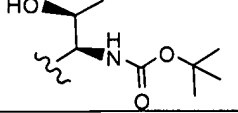
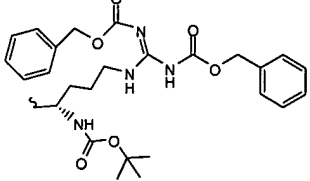
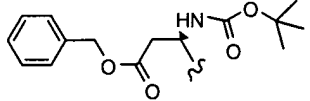


Tabela 1- Estruturas e rendimentos dos produtos (**10-22**) e (**23-31**)

Aminoácido N-protegido	Estrutura (X)	Nº	Rendimento(%)	Nº	Rendimento(%)
<i>N</i> - <i>t</i> Boc- L-Pro		10	31	23	50
<i>N</i> - <i>t</i> Boc-L-Val		11	40	24	60
<i>N</i> - <i>t</i> Boc-O-Benzyl- L-Ser		12	46	25	53

<i>N</i> - <i>t</i> Boc-L-Met		13	63	26	75
<i>N</i> - <i>t</i> Boc-L-Trp		14	67	27	75
<i>N</i> -CBz-Pro-Phe		15	97	28	46
<i>N</i> -CBz-D-Pro		16	63	29	63
<i>N</i> - α - <i>t</i> Boc- <i>N</i> ϵ -CBz-L-Lys		17	64	30	52
<i>N</i> - <i>t</i> Boc imTosyl-L-His		18	63		
<i>N</i> -CBz-Val-Phe		19	80		
<i>N</i> - <i>t</i> Boc- L-IsoSer		20	50		
<i>N</i> - <i>t</i> Boc- L-Thr		21	56		
<i>N</i> α - <i>t</i> Boc- <i>N</i> δ , <i>N</i> ω -di-Z-L-Arg		22	88		
<i>N</i> - <i>t</i> Boc-L-Asp-benzyl ester				31	60

A presente invenção será descrita detalhadamente através dos exemplos apresentados abaixo. É necessário frisar que a invenção não está limitada a esses exemplos e inclui variações e modificações dentro dos limites nos quais ela se aplica.

Exemplo 1: Ensaio de atividade e inibição da protease recombinante NS3pro/4A do HCV.

A avaliação da atividade proteolítica do HCV foi realizada com o kit *SensoLyte®520 HCV Protease Assay Kit *Fluorimetric** (AnaSpec,CA,USA). Este ensaio possibilita realizar a triagem de inibidores anti-HCV-NS3pro/4A com maior eficiência e sensibilidade, baseado no fenômeno de FRET (*fluorecence resonance energy transfer*), no qual o peptídeo derivado do sítio de clivagem NS4A/NS4B encontra-se marcado com fluoróforo 5-FAM/QXL^{TM520}, sendo a fluorescência do 5-FAM suprimida pela QXL^{TM520}. A quantificação da atividade proteolítica ocorre quando o peptídeo FRET sofre a clivagem em dois fragmentos pela NS3pro/4A, com isso, a fluorescência do 5-FAM pode ser monitorada em excitação/emissão igual a 490nm/520nm. A grande vantagem na utilização do peptídeo marcado com 5-FAM, é que a emissão de fluorescência ocorre em longo comprimento de onda, sofrendo menos interferência da autofluorescência dos compostos testados.

Exemplo 2: Metodologia utilizada na dosagem da capacidade inibitória dos compostos inibidores de polimerases e serina proteases

Os compostos liofilizados foram resuspendidos em DMSO (100%) a uma concentração de 20mM. Posteriormente, 100µM dos compostos foram pré-incubados a 25°C por 15 min com 10ng da enzima HCV-NS3pro/4A em volume final de 50µL do tampão de reação do kit *SensoLyte®520 HCV Protease Assay Kit *Fluorimetric** (AnaSpec,CA,USA), seguindo o protocolo do fabricante. A reação foi iniciada com a adição do substrato Peptídeo 5-FAM/QXL^{TM520} FRET, cuja clivagem do peptídeo foi monitorada no leitor de placas *SpectraMax M2^e* (Molecular Devices) em excitação/emissão igual a 490nm/520nm medindo a fluorescência gerada a cada 30 segundos por 60 min.

Os parâmetros cinéticos de velocidade inicial (V_i) das reações foram calculados por regressões linear e/ou polinomial de 3ª ordem utilizando-se o

programa SigmaPlot versão 10.0 e Excel 2007, respectivamente, sendo os valores de Vi convertidos em atividade residual (%).

O teste cinético de 22 compostos (**10 a 31**) está mostrado na Tabela 3. Podemos verificar que os compostos **19, 20, 21, 22, e 23** tiveram atividade inibitória para a protease NS3/4A do HCV, sendo que o composto **22** foi o mais ativo, com uma capacidade inibitória de 64%.

A inibição parcial da NS3pro/4A em altas concentrações do composto **22**, pode ser explicada devido a ausência do domínio helicase da NS3 e/ou do complexo replicativo (ensaio *in vitro*). Eles podem estar contribuindo para a correta orientação da molécula e/ou acentuando a interação do composto **22** com a protease NS3/4A (ensaio *in vivo*). Na Figura 1A ocorreu uma completa inibição da NS3pro/4A com o inibidor padrão ($IC_{50}=0,80\pm0,37\mu M$). Entretanto, o composto **22** em altas concentrações inibiu parcialmente (~45%) a atividade proteolítica da NS3/4A.

A inibição parcial da NS3pro/4A em altas concentrações do composto **22**, pode ser explicada devido a ausência do domínio helicase da NS3 e/ou do complexo replicativo (ensaio *in vitro*). Eles podem estar contribuindo para a correta orientação da molécula e/ou acentuando a interação do composto **22** com a protease NS3/4A (ensaio *in vivo*). Contudo, quando realizamos os ensaios *in vitro* com o composto **22** armazenado a -20°C não observamos essa ativação (**Figura 1A**). Esses dados sugerem que o composto **22** não seja estável quando armazenado a 4°C, e que seu produto aumente a atividade proteolítica da NS3/4A.

É importante ressaltar que quando iniciamos a avaliar, *in vitro*, a atividade inibitória do composto **22** armazenada a 4°C, observamos que o mesmo em baixas concentrações, aumentava a atividade proteolítica da NS3/4A em 2,5X(Figura 2A). Contudo, quando realizamos os ensaios *in vitro* com o composto **22** armazenado a -20°C não observamos essa ativação (Figura 1A). Esses dados sugerem que o composto **22** não seja estável quando armazenado a 4°C, e que seu produto aumente a atividade proteolítica da NS3/4A.

Com o objetivo de avaliar se o composto **22** promove aumento ou redução da atividade proteolítica, foi realizada uma nova síntese química do composto. Esse novo lote do composto **22** foi resuspendido em DMSO a 100% e os ensaios cinéticos realizados no mesmo dia. Nossos dados revelam que em baixas concentrações do

composto **22** (recém sintetizado) a atividade proteolítica da NS3/4A aumentou aproximadamente 15% (Figura 2B).

Tabela 3 - Atividade inibitória dos 22 compostos da patente frente à protease NS3/4A do HCV numa reação *in vitro* com o kit SensoLyte® 520 HCV Protease Assay Kit (Anaspec, CA, USA).

Composto Testado	Inibição enzimática na concentração de 100µM (%)	Composto Testado	Inibição enzimática na concentração de 100µM (%)
Controle-Peptídeo inibidor (20µM)	75	Controle-Peptídeo inibidor (20µM)	75
10	Zero	21	36
11	Zero	22	64
12	Zero	23	23
13	Zero	24	Zero
14	Zero	25	Zero
15	Zero	26	Zero
16	Zero	27	Zero
17	Zero	28	Zero
18	Zero	29	Zero
19	51	30	Zero
20	48	31	Zero

10 Exemplo 3: Obtenção do 1,4:3,6-dianidro-mono(4-metilbenzenosulfonato)-D-manitol (2)

A uma solução do isomanideo (1g, 6mmol) e piridina (1,10mL) em CH₂Cl₂ (10mL) foi adicionado cloreto de *p*-toluenosulfonila (1,49g, 7mmol) a 0°C. A reação
 15 foi agitada a temperatura ambiente por 12h e após foi diluída com CH₂Cl₂ (20mL). A solução foi lavada com água, HCl 1N e solução saturada de cloreto de sódio. Após

evaporação do solvente, o sólido foi recristalizado com uma mistura de metanol/isopropanol fornecendo o produto como um sólido branco em 40% de rendimento. PF: 103-104°C.

RMN¹H δ ppm (CDCl₃, 300MHz): 7,84 (d, 2H, J = 8,1 Hz); 7,34 (d, 2H, J = 8,1 Hz);
 5 4,91 (dd, 1H, J = 6,6/ 5,5 Hz); 4,42 (t, 1H, J = 5,1 Hz); 4,49 (t, 1H, J = 4,8 Hz); 4,29-
 4,25 (m, 1H); 4,04-3,95 (m, 2H); 3,79 (t, 1H, J = 7,8 Hz); 3,55 (dd, 1H, J = 7,2/1,8 Hz); 2,46 (s, 3H).

IV ν cm⁻¹(KBr): 3526, 2933, 2866, 1596, 1359, 1189, 1173, 1050, 1019, 818, 663.

Exemplo 4: Obtenção do 1,4:3,6-dianidro-5-O-(benzil)-2-(4-metilbenzenosulfonato)-D-manitol (3)

A uma solução de (2) (10g, 33mmol), solução aquosa de KOH 50% e TBAB (0,322g, 1mmol) em CH₂Cl₂ (80mL), foi adicionado cloreto de benzila (6,54g, 38mmol). Após agitação por 12h, a mistura foi diluída com água (10mL) e a fase
 15 orgânica foi separada. A fase aquosa foi extraída com CH₂Cl₂ e seca com Na₂SO₄. O produto foi purificado por coluna cromatográfica em sílica gel tendo como eluente uma mistura de hexano e acetato de etila, fornecendo o produto como um óleo incolor em 75% de rendimento.

RMN¹H δ ppm (CDCl₃, 300MHz): 7,81 (d, 2H, J = 8,4 Hz); 7,35-7,32 (m, 7H); 4,91-
 20 4,89 (m, 1H); 4,69 (d, 1H, J = 12,0 Hz); 4,50 (d, 1H, J = 12,0 Hz); 4,47 (t, 2H, J = 2,1 Hz); 4,04-3,79 (m, 4H); 3,62 (t, 1H, J = 8,4 Hz); 2,44 (s, 3H).

IV ν cm⁻¹(filme): 3063, 2977, 2950, 2879, 1598, 1454, 1366, 1190, 1178, 1141, 1027, 853.

α_D^{20} = +98 (c, 0.1) DMSO.

25

Exemplo 5: Obtenção do 1,4:3,6-dianidro-2-azido-2-deoxi-5-O-(benzil)-D-Glucitol (4)

Uma mistura de (3) (1,86g, 4mmol), [bmim]⁺[BF₄]⁻ previamente seco sob
 30 vácuo a 90°C (4,8mL, 23mmol) e NaN₃ (0,93g, 14mmol) foi aquecida a 120°C por 12h. Adicionou-se água e a fase aquosa foi extraída com éter etílico. O produto foi

purificado por coluna cromatográfica flash (hexano/acetato de etila), obtendo um óleo amarelo claro em 73% de rendimento.

RMN¹H δ ppm (CDCl₃, 300MHz): 7,36-7,26 (m, 5H); 4,75 (d, 1H, J = 11,7 Hz); 4,66 (t, 1H, J = 4,5 Hz); 4,54 (d, 1H, J = 11,7 Hz); 4,48 (d, 1H, J = 4,2 Hz); 4,15-4,00 (m, 4H); 3,86 (dd, 1H, J = 6,3/2,7 Hz); 3,66 (t, 1H, J = 7,8 Hz).

RMN ¹³C δ ppm (CDCl₃, 75,4 MHz): 137,4 (-C), 128,3 (-CH), 127,8 (-CH), 127,7 (-CH), 86,4 (-CH), 80,5 (-CH), 78,8 (-CH), 72,6 (-CH₂), 72,4 (-CH₂), 70,7 (-CH₂), 66,2 (-CH).

IV ν cm⁻¹ (filme): 3063, 3031, 2946, 2878, 2102, 1455, 1320, 1256, 1135, 1100, 1083, 1021, 739.

HRMS calculada para C₁₃H₁₅N₃O₃Na, 284,1011; encontrada, 284,1025.

α_D^{20} = +92 (c, 0.1) DMSO.

Exemplo 6: Obtenção do 1,4:3,6-dianidro-2-amino-2-deoxi-5-O-(benzil)-D-Glucitol (5)

A uma solução de **(4)** (0,870g, 3mmol) em etanol (25mL) foi adicionado Pd/C 5% (0,3mmol) e a mistura foi hidrogenada sob 40psi por 5h. Após esse tempo a suspensão foi filtrada em XAD-4 e lavada com etanol. Evaporado o solvente obteve-se um óleo incolor em rendimento quantitativo.

RMN¹H δ ppm (CDCl₃, 300MHz): 7,37-7,35 (m, 5H); 4,76 (d, 1H, J = 11,4 Hz); 4,68 (t, 1H, J = 4,2 Hz); 4,54 (d, 1H, J = 12,0 Hz); 4,27 (d, 1H, J = 4,2 Hz); 4,06-4,02 (m, 1H); 3,85 (dd, 1H, J = 6,3/2,4 Hz); 3,76 (d, 1H, J = 9,3 Hz); 3,64 (t, 1H, J = 7,8 Hz); 3,53 (d, 1H, J = 4,2 Hz); 3,45 (s, 1H).

RMN ¹³C δ ppm (CDCl₃, 75,4 MHz): 137,9 (-C), 128,6 (-CH), 128,0 (-CH), 127,8 (-CH), 90,0 (-CH), 80,1 (-CH), 79,4 (-CH), 76,3 (-CH₂), 72,6 (-CH₂), 70,5 (-CH₂), 58,8 (-CH).

IV ν cm⁻¹(filme): 3360, 2876, 1605, 1455, 1369, 1209, 1065, 1017, 751, 700.

HRMS calculada para C₁₃H₁₇NO₃Na, 236,1287; encontrada, 236,1284.

Exemplo 7: Obtenção do 1,4:3,6-dianidro-5-O-(benzil)-2-(hidroxi)-D-manitol (6)

Uma mistura de isomanideo (1g, 6,85 mmol), KOH (0,44g, 6,85 mmol) e água (3,5 mL) foi refluxada por 20min. Após esse tempo a reação foi resfriada a temperatura ambiente e foi adicionado cloreto de benzila (0,78 mL, 6,85 mmol). A mistura foi refluxada por 3h. Ao final desse tempo, foi adicionado HCl 2N (4 mL) e o produto foi extraído com acetato de etila. O produto foi obtido em 45% de rendimento após purificação por coluna cromatográfica. $P_f = 93^\circ\text{C}$.

RMN¹H (300MHz, CDCl₃): 7,36-7,27 (m, 5H); 4,79 (d, 1H, $J = 12,0$ Hz); 4,58 (d, 1H, $J = 12,0$ Hz); 4,57-4,53 (m, 1H); 4,48 (t, 1H, $J = 5,1$ Hz); 4,27 (br s, 1H); 4,11-3,95 (m, 3H); 3,76-3,68 (m, 2H); 2,82 (br s, 1H).

RMN¹³C (50 MHz, CDCl₃): 137,5; 128,4; 127,9; 127,8; 81,7; 80,6; 78,9; 74,7; 72,5; 72,2; 71,3.

IV ν (cm⁻¹) (KBr): 3459, 3404, 2920, 2865, 1459, 1419, 1329, 1266, 1200, 1118, 1068, 1021, 820.

Exemplo 8: Obtenção do Líquido Iônico [Bmim]⁺BF₄⁻ (composto 9).

A uma solução de N-metil imidazol (200mmol, 16mL) em tolueno (25mL), a 0°C, foi adicionado 1-Bromobutano (230mmol, 25mL) lentamente e com agitação. A mistura foi deixada em refluxo (110°C) por 36 h. Foram formadas duas fases: a mais densa (viscosa) e a mais leve. Elas foram separadas. A fase viscosa foi lavada com éter etílico (3 x 50mL) e acetato de etila (3x50mL). Logo após, foi adicionado CH₂Cl₂ (150mL) e NaBF₄ (164mmol, 18g). A mistura ficou agitando por 24h à temperatura ambiente. Após este tempo, a mistura foi filtrada 2 vezes, adicionado o carvão ativo e deixada por mais 24h sob agitação. Ao final, a mistura foi filtrada, evaporada e por fim filtrada em alumina neutra lavando bem com CH₂Cl₂. O produto foi obtido como um óleo amarelo claro em 83% de rendimento.

RMN ¹H δ ppm (CDCl₃, 300 MHz): 9,27 (s, 1H); 7,38 (s, 1H); 7,32 (s, 1H); 4,22 (t, 2H, $J = 7,2$ Hz); 3,99 (s, 3H); 1,91-1,80 (m, 2H); 1,43-1,30 (m, 2H); 0,94 (t, 3H, $J = 7,2$ Hz).

IV ν cm⁻¹(KBr): 3606, 3418, 3161, 3119, 2964, 2939, 2877, 1634, 1574, 1467, 1385, 1338, 1286, 1170, 1062, 848, 754, 623.

Exemplo 9: Processo geral para obtenção das amidas (10-22) e ésteres (23-31)

A uma solução da amina benzilada (**5**) ou isomanideo mono benzilado (**6**) (1,27 mmol) em CH_2Cl_2 (10 mL) foram adicionados o respectivo aminoácido N-protetido (1,27 mmol), e a 0°C , DCC (1,27 mmol) e DMAP (0,12 mmol). Após agitação por 12h a temperatura ambiente, a mistura foi filtrada e o filtrado foi seco em vácuo. O produto foi purificado por coluna cromatográfica usando hexano e acetato de etila como solvente.

Exemplo 10: Obtenção do 1,4:3,6-dianidro-5-O-(benzil)-2-N-(N-*t*-butoxicarbonil-L-prolina)-D-glucitol (10)

RMN ^1H δ ppm (CDCl_3 , 300 MHz): 7,40-7,25 (m, 5H); 4,77-4,74 (m, 1H); 4,66 (t, 1H, $J = 4,8$ Hz); 4,57 (d, 1H, $J = 11,4$ Hz); 4,41-4,40 (m, 1H); 4,25-4,24 (m, 1H); 4,16-4,12 (m, 2H); 4,10-4,01 (m, 1H); 3,87-3,82 (m, 1H); 2,21-1,92 (m, 2H); 1,92-1,86 (m, 2H); 1,41 (s, 9H).

RMN ^{13}C (50 MHz, CDCl_3): 175,7; 155,9; 139,4; 129,4; 129,0; 128,8; 88,4; 81,9; 81,4; 80,7; 74,0; 73,5; 71,7; 61,4; 58,5; 32,6; 28,7; 25,4; 24,7.

IV ν (cm^{-1}) filme (CH_2Cl_2): 3055, 2986, 1684, 1604, 1423, 1159, 987, 896, 741.

$\alpha_{\text{D}}^{20} = +91$ (c 0,1 DMSO). Aspecto: óleo incolor.

HRMS calculada para $\text{C}_{23}\text{H}_{32}\text{N}_2\text{O}_6\text{Na}$, 455,2158; Encontrada, 455,2164.

Exemplo 11: Obtenção do 1,4:3,6-dianidro-5-O-(benzil)-2-N-(N-*t*-butoxicarbonil-L-valina)-D-glucitol (11)

RMN ^1H δ ppm (CDCl_3 , 300 MHz): 7,38-7,24 (m, 5H); 6,23 (br s, 1H); 5,01 (br s, 1H); 4,76 (d, 1H, $J = 11,7$ Hz); 4,60-4,53 (m, 2H); 4,42 (q, 2H, $J = 3,9$ Hz); 4,08-4,02 (m, 2H); 3,88-3,81 (m 3H); 3,69-3,63 (m, 1H); 2,15-2,09 (m, 1H); 1,44 (s, 9H); 0,95 (d, 3H, $J = 6,9$ Hz); 0,91 (d, 3H, $J = 6,9$ Hz).

RMN ^{13}C (50 MHz, CDCl_3): 171,4; 155,9; 137,6; 128,4; 127,9; 127,8; 86,9; 80,3; 80,2; 80,0; 79,0; 72,5; 70,8; 59,9; 56,8; 30,6; 28,2; 19,3; 17,8.

IV ν (cm^{-1}) KBr: 3335, 2968, 2934, 2879, 1687, 1654, 1529, 1461, 1368, 1299, 1250, 1169, 1092, 1052, 1018, 738.

PF = $102-103^\circ\text{C}$

$\alpha_{\text{D}}^{20} = +67$ (c 0,1 DMSO). Aspecto: sólido branco.

HRMS calculada para $\text{C}_{23}\text{H}_{34}\text{N}_2\text{O}_6\text{Na}$, 457,2315; Encontrada, 457,2324.

Exemplo 12: Obtenção do 1,4:3,6-dianidro-5-O-(benzil)-2-N-(N-*t*-butoxicarbonil-O-benzil-L-serina)-D-glucitol (12)

RMN ^1H δ ppm (CDCl_3 , 300 MHz): 7,35-7,27 (m, 10H); 4,73 (d, 1H, $J = 12$ Hz); 4,54-4,45 (m, 3H); 4,40-4,38 (m, 2H); 4,32-4,31 (m, 1H); 4,23-4,21 (m, 1H); 4,05-3,95 (m, 2H); 3,91-3,81 (m, 3H); 3,67-3,57 (m, 1H); 3,64 (dd, 1H, $J = 7,5; 8,7$ Hz); 3,61-3,54 (m, 1H); 1,44 (s, 9H).

RMN ^{13}C (50 MHz, CDCl_3): RMN ^{13}C : 169,9; 155,7; 137,6; 137,3; 128,5; 128,4; 128,0; 127,9; 127,8; 86,8; 80,4; 80,1; 79,1; 73,5; 73,2; 72,4; 70,7; 69,8; 56,8; 51,9; 28,2.

IV ν (cm^{-1}) KBr: 3289, 2968, 2974, 2873, 1690, 1650, 1553, 1511, 1299, 1310, 1243, 1168, 1133, 1049, 864, 742.

PF = 116-117°C

$\alpha_D^{20} = +57$ (c 0,1 DMSO). Aspecto: sólido branco.

HRMS calculada para $\text{C}_{28}\text{H}_{36}\text{N}_2\text{O}_7\text{Na}$, 535,2420; Encontrada, 535,2400.

Exemplo 13: Obtenção do 1,4:3,6-dianidro-5-O-(benzil)-2-N-(N-*t*-butoxicarbonil-L-metionina)-D-glucitol (13)

RMN ^1H δ ppm (CDCl_3 , 300 MHz): 7,35-7,30 (m, 5H); 6,55 (br s, 1H); 5,16 (br s, 1H); 4,77 (d, 1H, $J = 12$ Hz); 4,59-4,52 (m, 2H); 4,42-4,38 (m, 2H); 4,24-4,17 (m, 1H); 4,08-4,02 (m 2H); 3,87-3,82 (m, 2H); 3,67 (dd, 1H, $J = 7,5; 9,0$ Hz); 2,55-2,52 (m, 2H); 2,10 (s, 3H); 2,06-2,03 (m, 2H); 1,44 (s, 9H).

RMN ^{13}C (50 MHz, CDCl_3): 171,3; 155,6; 137,6; 128,4; 127,8; 127,8; 86,9; 80,4; 80,2; 73,2; 72,4; 70,8; 56,8; 53,4; 31,2; 30,2; 28,2; 15,2.

IV ν (cm^{-1}) KBr: 3297, 2974, 2931, 2873, 1660, 1650, 1530, 1452, 1368, 1249, 1168, 1092, 860, 742.

PF = 91-93°C

$\alpha_D^{20} = +34$ (c 0,1 CH_2Cl_2). Aspecto: sólido branco.

HRMS calculada para $\text{C}_{23}\text{H}_{32}\text{N}_2\text{O}_6\text{NaS}$, 489,2035; Encontrada, 489,2038.

Exemplo 14: Obtenção do 1,4:3,6-dianidro-5-O-(benzil)-2-N-(N-*t*-butoxicarbonil-L-triptofano)-D-glucitol (14)

RMN ^1H δ ppm (CDCl_3 , 300 MHz): 8,24 (br s, 1H); 7,64 (d, 1H, $J = 7,8$ Hz); 7,36-7,29 (m, 6H); 7,19-7,07 (m, 3H); 5,70 (br s, 1H); 5,29 (br s, 1H); 4,48 (q, 1H, $J = 12$ Hz); 4,39-4,36 (m, 1H); 4,23-4,21 (m, 1H); 3,84-3,65 (m, 5H); 3,55-3,49 (m 3H); 3,29 (dd, 1H, $J = 5,7$; 14,4 Hz); 3,10 (dd, 1H, $J = 8,4$; 14,4 Hz); 1,44 (s, 9H).

5 RMN ^{13}C (50 MHz, CDCl_3): 171,4; 155,4; 137,6; 136,1; 128,4; 127,9; 127,7; 127,3; 123,2; 122,2; 119,7; 118,9; 111,2; 110,6; 86,3; 80,1; 79,6; 79,0; 72,6; 72,3; 70,4; 56,4; 55,6; 28,6; 28,3.

IV ν (cm^{-1}) KBr: 3321, 2974, 2933, 2881, 1685, 1646, 1523, 1455, 1366, 1250, 1169, 1095, 1018, 863, 743.

10 PF = 161-162°C

$\alpha_{\text{D}}^{20} = +44$ (c 0,1 CH_2Cl_2). Aspecto: sólido branco.

HRMS calculada para $\text{C}_{20}\text{H}_{35}\text{N}_3\text{O}_6\text{Na}$, 544,2424; Encontrada, 544,2408.

Exemplo 15: Obtenção do 1,4:3,6-dianidro-5-O-(benzil)-2-N-(N-carbobenziloxi-prolina-fenilalanina)-D-glucitol (15)

15 RMN ^1H δ ppm (CDCl_3 , 300 MHz): 7,27-7,02 (m, 15H); 6,61 (br s, 1H); 6,29 (br s, 1H); 5,06-4,90 (m, 2H); 4,66 (d, 2H, $J = 12$ Hz); 4,45 (d, 2H, $J = 12$ Hz); 4,31-4,27 (m, 2H); 4,18-4,15 (m, 1H); 3,99-3,91 (m, 2H); 3,78-3,72 (m, 2H); 3,56 (t, 1H, $J = 8,1$ Hz); 3,44-3,30 (m, 3H); 3,10-3,03 (m 1H); 1,93-1,60 (m, 4H).

20 RMN ^{13}C (50 MHz, CDCl_3): 171,2; 170,2; 155,9; 137,6; 136,4; 135,9; 129,0; 128,6; 128,5; 128,3; 128,2; 127,7; 127,0; 86,8; 80,1; 79,0; 73,4; 72,3; 70,4; 67,5; 61,2; 57,0; 53,4; 47,0; 37,3; 29,3; 24,3.

IV ν (cm^{-1}) KBr: 3279, 3069, 2949, 2878, 1704, 1649, 1554, 1448, 1415, 1355, 1247, 1093, 1023, 914, 743.

25 PF = 141-143°C

$\alpha_{\text{D}}^{20} = -15$ (c 0,1 CH_2Cl_2). Aspecto: sólido branco.

HRMS calculada para $\text{C}_{35}\text{H}_{39}\text{N}_3\text{O}_7\text{Na}$, 636,2686; Encontrada, 636,2697.

Exemplo 16: Obtenção do 1,4:3,6-dianidro-5-O-(benzil)-2-N-(N-carbobenziloxi-D-prolina)-D-glucitol (16)

30

RMN ^1H δ ppm (CDCl_3 , 300 MHz): 7,36-7,26 (m, 6H); 5,15-5,13 (m, 2H); 4,75 (d, 1H, $J = 11,7$ Hz); 4,56 (d, 1H, $J = 12$ Hz); 4,30-4,26 (m, 2H); 4,00-3,91 (m, 2H); 3,85-3,80 (m, 2H); 3,66-3,62 (m, 1H); 3,61-3,44 (m, 4H); 2,34-1,85 (m, 4H).

RMN ^{13}C (50 MHz, CDCl_3): 171,1; 156,5; 137,6; 136,4; 128,5; 128,4; 128,1; 127,8; 86,9; 80,1; 78,9; 73,4; 72,4; 70,6; 67,3; 60,2; 56,8; 47,0; 27,9; 24,6.

IV ν (cm^{-1}) KBr: 3345, 3034, 2974, 2926, 2873, 1679, 1531, 1451, 1421, 1356, 1253, 1208, 1122, 1091, 952, 866, 758.

PF = 89-90°C

$\alpha_{\text{D}}^{20} = +94$ (c 0,1 CH_2Cl_2). Aspecto: sólido branco.

HRMS calculada para $\text{C}_{26}\text{H}_{30}\text{N}_2\text{O}_6\text{Na}$, 489,2002; Encontrada, 489,2011.

Exemplo 17: Obtenção do 1,4:3,6-dianidro-5-O-(benzil)-2-N-(N_α -*t*-butoxicarbonil- N_ϵ -carbобензилокси-L-lisina)-D-glucitol(17)

RMN ^1H δ ppm (CDCl_3 , 300 MHz): 7,34-7,30 (m, 10H); 6,55 (br s, 1H); 5,29 (s, 2H); 5,09-5,02 (m, 1H); 4,75 (d, 1H, $J = 11,7$ Hz); 4,58 (t, 1H, $J = 4,5$ Hz); 4,51 (d, 1H, $J = 12$ Hz); 4,41-4,36 (m, 2H); 4,07-4,00 (m, 2H); 3,86-3,81 (m, 2H); 3,65 (dd, 1H, $J = 7,5; 8,7$ Hz); 3,17 (q, 2H, $J = 6,0$ Hz); 1,84-1,82 (m, 2H); 1,64-1,50 (m, 2H); 1,43 (s, 9H); 1,39-1,34 (m, 2H).

RMN ^{13}C (50 MHz, CDCl_3): 172,0; 156,6; 155,8; 137,6; 136,5; 128,4; 128,3; 128,0; 127,9; 127,8; 86,9; 80,2; 80,1; 79,0; 73,2; 72,4; 70,7; 66,6; 56,8; 54,3; 40,1; 31,5; 29,4; 28,2; 22,4.

IV ν (cm^{-1}) KBr: 3360, 2972, 2937, 2879, 1694, 1659, 1459, 1366, 1254, 1168, 1087, 1015, 908, 749.

PF = 62-63°C

$\alpha_{\text{D}}^{20} = +23$ (c 0,1 CH_2Cl_2). Aspecto: sólido branco.

HRMS calculada para $\text{C}_{32}\text{H}_{43}\text{N}_3\text{O}_8\text{Na}$, 620,2948; Encontrada, 620,2958.

Exemplo 18: Obtenção do 1,4:3,6-dianidro-5-O-(benzil)-2-N-(N_α -*t*-butoxicarbonil- $\text{N}_\square$ -tosil-L-histidina)-D-glucitol (18)

RMN ^1H δ ppm (CDCl_3 , 300 MHz): 7,93 (s, 1H); 7,81 (d, 2H, $J = 8,4$ Hz); 7,35-7,29 (m, 7H); 7,08 (s, 1H); 6,77 (br s, 1H); 5,87 (br s, 1H); 4,71 (d, 1H, $J = 11,7$ Hz); 4,55 (d, 1H, $J = 11,7$ Hz); 4,46 (t, 1H, $J = 4,5$ Hz); 4,34-4,23 (m, 3H); 4,04 (q, 1H, $J = 6,9$

Hz); 3,92-3,80 (m, 2H); 3,65-3,59 (m, 2H); 3,04 (dd, 1H, $J = 5,1; 14,7$ Hz); 2,85 (dd, 1H, $J = 6,3; 14,7$ Hz); 2,42 (s, 3H); 1,42 (s, 9H).

RMN¹³C (50 MHz, CDCl₃): 170,8; 155,4; 146,4; 140,4; 137,6; 134,5; 130,4; 128,3; 127,8; 127,3; 114,9; 86,7; 81,7; 80,1; 79,1; 72,9; 72,4; 70,7; 56,6; 53,9; 30,4; 28,2; 21,6.

IV ν (cm⁻¹) KBr: 3290, 3073, 2974, 2934, 2879, 1661, 1527, 1376, 1300, 1248, 1174, 1088, 814, 744.

PF = 91-93°C

$\alpha_D^{20} = +55$ (c 0,1 CH₂Cl₂). Aspecto: sólido branco.

HRMS calculada para C₃₁H₃₈N₄O₈NaS, 649,2308; Encontrada, 649,2321.

Exemplo 19: Obtenção do 1,4:3,6-dianidro-5-O-(benzil)-2-N-(N-carbobenziloxivalina-fenilalanina)-D-glucitol (19)

RMN ¹H δ ppm (CDCl₃, 300 MHz): 7,33-7,12 (m, 15H); 6,77 (br s, 1H); 5,59-5,57 (m, 1H); 5,12-5,01 (m, 2H); 4,80 (q, 1H, $J = 7,8$ Hz); 4,65 (dd, 1H, $J = 4,5; 12$ Hz); 4,45-4,38 (m, 1H); 4,32-4,27 (m, 2H); 4,01-3,80 (m, 3H); 3,77-3,70 (m, 2H); 3,66-3,57 (m, 1H); 3,10-2,98 (m, 2H); 2,11-1,95 (m, 1H); 0,91 (d, 3H, $J = 6,6$ Hz); 0,84 (d, 3H, $J = 6,6$ Hz).

RMN¹³C (50 MHz, CDCl₃): 171,6; 170,5; 156,6; 137,8; 136,3; 136,2; 129,4; 129,3; 128,5; 128,4; 128,3; 128,1; 127,7; 126,9; 126,7; 87,0; 80,3; 78,9; 72,9; 72,2; 70,8; 67,1; 60,7; 56,6; 53,7; 39,2; 31,2; 19,3; 18,1.

IV ν (cm⁻¹) KBr: 3290, 3066, 2962, 1708, 1646, 1544, 1393, 1241, 1132, 1091, 1023, 914, 741.

PF = 81-83°C

$\alpha_D^{20} = +26$ (c 0,1 CH₂Cl₂). Aspecto: sólido branco.

HRMS calculada para C₃₅H₄₁N₇O₇Na, 638,2842; Encontrada, 638,2862.

Exemplo 20: Obtenção do 1,4:3,6-dianidro-5-O-(benzil)-2-N-(N-*t*-butoxicarbonil-L-isoserina)-D-glucitol (20)

RMN ¹H δ ppm (CDCl₃, 300 MHz): 7,36-7,18 (m, 5H); 5,37 (br s, 1H); 5,20 (br s, 1H); 4,77 (d, 1H, $J = 12$ Hz); 4,64 (t, 1H, $J = 4,5$ Hz); 4,53 (d, 1H, $J = 12$ Hz); 4,43-4,41

(m, 2H); 4,17 (br s, 1H); 4,11-4,02 (m, 2H); 3,88-3,81 (m, 2H); 3,70-3,64 (m, 1H); 3,61-3,44 (m, 2H); 1,74 (br s, 1H); 1,43 (s, 9H).

RMN¹³C (50 MHz, CDCl₃): 171,8; 158,9; 137,6; 128,4; 127,8; 87,0; 80,7; 80,3; 79,0; 73,6; 73,4; 72,4; 70,7; 56,5; 44,7; 28,2.

5 IV ν (cm⁻¹) KBr: 3398, 3315, 2975, 2936, 2889, 1708, 1640, 1547, 1515, 1399, 1325, 1256, 1171, 1110, 1043, 882, 731.

PF = 133-134°C

$\alpha_D^{20} = +4$ (c 0,1 CH₂Cl₂). Aspecto: sólido branco.

HRMS calculada para C₂₁H₃₀N₂O₇Na, 445,1951; Encontrada, 445,1947.

10

Exemplo 21: Obtenção do 1,4:3,6-dianidro-5-O-(benzil)-2-N-(N-*t*-butoxicarbonil-L-treonina)-D-glucitol (21)

RMN ¹H δ ppm (CDCl₃, 300 MHz): 7,35-7,29 (m, 5H); 6,92 (br s, 1H); 5,51 (br s, 1H); 4,73 (d, 1H, *J* = 12 Hz); 4,63-4,61 (m, 1H); 4,56 (d, 1H, *J* = 12 Hz); 4,43-4,35 (m, 3H);
 15 4,08-4,04 (m, 2H); 4,00 (dd, 1H, *J* = 2,1; 8,1 Hz); 3,88-3,81 (m, 2H); 3,67 (dd, 1H, *J* = 7,5; 9,0 Hz); 1,46 (s, 9H); 1,17 (d, 3H, *J* = 6,3 Hz).

RMN¹³C (50 MHz, CDCl₃): 171,2; 156,6; 137,6; 128,4; 127,9; 127,8; 86,9; 80,5; 80,3; 78,9; 73,2; 72,4; 70,5; 66,6; 58,2; 56,9; 28,2; 18,3.

20 IV ν (cm⁻¹) film (CH₂Cl₂): 3944, 3755, 3691, 3056, 2987, 1682, 1604, 1424, 1265, 1159, 986, 896, 742.

$\alpha_D^{20} = +6$ (c 0,1 CH₂Cl₂). Aspecto: óleo incolor.

HRMS calculada para C₂₂H₃₂N₂O₇Na, 459,2107; Encontrada, 459,2085.

Exemplo 22: Obtenção do 1,4:3,6-dianidro-5-O-(benzil)-2-N-(N _{α} -*t*-butoxicarbonil-N _{δ} ,N _{ω} -di-carbobenziloxi-L-arginina)-D-glucitol (22)

25 RMN ¹H δ ppm (CDCl₃, 300 MHz): 9,42 (br s, 1H); 7,43-7,29 (m, 15H); 6,68 (br s, 1H); 5,64 (br s, 1H); 5,29 (s, 2H); 5,24 (s, 2H); 5,19-5,10 (m, 2H); 4,73 (d, 1H, *J* = 12 Hz); 4,52 (d, 1H, *J* = 12 Hz); 4,33-4,20 (m, 3H); 3,96-3,90 (m, 2H); 3,78 (dd, 1H, *J* = 7,5; 9,0 Hz); 3,63-3,57 (m, 1H); 1,94-1,70 (m, 2H); 1,68-1,58 (m, 4H); 1,43 (s, 9H).

30 RMN¹³C (50 MHz, CDCl₃): 171,8; 163,4; 160,7; 155,8; 155,6; 137,7; 136,6; 134,5; 128,8; 128,7; 128,5; 128,4; 128,3; 127,9; 127,8; 127,7; 86,9; 80,0; 79,9; 78,9; 72,9; 72,3; 70,4; 68,9; 67,0; 56,9; 49,0; 43,9; 28,4; 25,5; 24,7.

IV ν (cm^{-1}) KBr: 3387, 3328, 2929, 2857, 1717, 1656, 1615, 1510, 1451, 1376, 1252, 1093, 744.

PF = 81-83°C

$\alpha_D^{20} = +34$ (c 0,1 CH_2Cl_2). Aspecto: sólido branco.

5 HRMS calculada para $\text{C}_{40}\text{H}_{49}\text{N}_5\text{O}_{10}\text{Na}$, 782,3377; Encontrada, 782,3405.

Exemplo 23: Obtenção do 1,4:3,6-dianidro-5-O-(benzil)-2-O-(N-*t*-butoxicarbonil-L-prolina)-D-manitol (23)

10 RMN ^1H δ ppm (CDCl_3 , 300 MHz): 7,30-7,21 (m, 5H); 5,06-4,95 (m, 1H); 4,76-4,68 (m, 2H); 4,57 (s, 1H); 4,53-4,46 (m, 1H); 4,39-4,30 (m, 1H); 4,07-3,99 (m, 1H); 3,95-3,84 (m, 2H); 3,51-3,35 (m, 2H); 2,23-2,19 (m, 2H); 2,04-1,86 (m, 2H); 1,40 (s, 9H).

RMN ^{13}C (50 MHz, CDCl_3): 172,5; 153,7; 137,5; 128,4; 127,9; 80,6; 80,4; 79,9; 78,8; 74,3; 72,5; 70,8; 70,5; 59,0; 46,5; 30,9; 28,3; 24,2.

15 IV ν (cm^{-1}) filme (CH_2Cl_2): 2974, 2880, 1746, 1697, 1454, 1398, 1261, 1128, 1090, 1028, 885, 819.

$\alpha_D^{20} = +91$ (c, 0.1 DMSO). Aspecto: óleo incolor.

HRMS calculada para $\text{C}_{23}\text{H}_{31}\text{NO}_7\text{Na}$, 456,1998; Encontrada, 456,2009.

20 **Exemplo 24: Obtenção do 1,4:3,6-dianidro-5-O-(benzil)-2-O-(N-*t*-butoxicarbonil-L-valina)-D-manitol (24)**

RMN ^1H δ ppm (CDCl_3 , 300 MHz): 7,40-7,25 (m, 5H); 5,14 (q, 1H, $J = 6,0$ Hz); 5,01-4,98 (m, 1H); 4,76-4,68 (m, 2H); 4,58 (s, 1H); 4,49 (t, 1H, $J = 4,8$ Hz); 4,31-4,26 (m, 1H); 4,13-4,00 (m, 2H); 3,95-3,90 (m, 2H); 3,62 (t, 1H, $J = 8,5$ Hz); 1,44 (s, 9H); 0,98 (d, 3H, $J = 6,9$ Hz); 0,90 (d, 3H, $J = 6,9$ Hz).

25 RMN ^{13}C (50 MHz, CDCl_3): 171,7; 155,5; 137,5; 128,4; 127,9; 80,5; 80,3; 79,7; 78,7; 74,8; 72,5; 71,0; 70,5; 58,5; 31,2; 28,3; 18,9; 17,4.

IV ν (cm^{-1}) filme (CH_2Cl_2): 3350, 2970, 2880, 1713, 1502, 1461, 1367, 1251, 1161, 1090, 1023, 866, 740.

$\alpha_D^{20} = +107$ (c, 0.1 DMSO). Aspecto: óleo incolor.

30 HRMS calculada para $\text{C}_{23}\text{H}_{33}\text{NO}_7\text{Na}$, 458,2155; Encontrada, 458,2163.

Exemplo 25: Obtenção do 1,4:3,6-dianidro-5-O-(benzil)-2-O-(N-*t*-butoxicarbonil-O-benzil-L-serina)-D-manitol (25)

RMN ^1H δ ppm (CDCl_3 , 300 MHz): 7,36-7,27 (m, 10H); 5,43-5,40 (m, 1H); 5,13 (q, 1H, $J = 5,7$ Hz); 4,74-4,70 (m, 2H); 4,57-4,43 (m, 4H); 4,04-3,88 (m, 5H); 3,86-3,60 (m, 1H); 3,51-3,46 (m, 1H), 1,44 (s, 9H).

RMN ^{13}C (50 MHz, CDCl_3): 170,1; 155,3; 137,5; 137,4; 128,4; 128,3; 127,9; 127,8; 127,7; 127,6; 80,5; 80,3; 79,9; 78,7; 75,1; 73,2; 72,5; 71,0; 70,4; 69,8; 53,9; 28,3.

IV ν (cm^{-1}) filme (CH_2Cl_2): 3328, 2974, 2928, 2876, 1749, 1713, 1499, 1363, 1245, 1166, 1098, 1028, 859, 742.

$\alpha_D^{20} = +92$ (c, 0.1 DMSO). Aspecto: óleo incolor.

HRMS calculada para $\text{C}_{28}\text{H}_{35}\text{NO}_8\text{Na}$, 536,2260; Encontrada, 536,2278.

Exemplo 26: Obtenção do 1,4:3,6-dianidro-5-O-(benzil)-2-O-(N-*t*-butoxicarbonil-L-metionina)-D-manitol (26)

RMN ^1H δ ppm (CDCl_3 , 300 MHz): 7,36-7,32 (m, 5H); 5,13 (q, 2H, $J = 5,7$ Hz); 4,76-4,69 (m, 2H); 4,59 (s, 1H); 4,49-4,46 (m, 1H); 4,07-4,04 (m, 3H); 3,95-3,90 (m, 1H); 3,60 (t, 1H, $J = 8,5$ Hz); 2,57-2,51 (m, 2H); 2,10-2,05 (m, 2H); 2,08 (s, 3H); 1,44 (s, 9H).

RMN ^{13}C (50 MHz, CDCl_3): 171,5; 155,1; 137,4; 128,4; 127,9; 127,8; 80,5; 80,3; 79,9; 78,6; 75,0; 72,5; 71,1; 70,4; 52,8; 32,0; 29,7; 28,2; 15,4.

IV ν (cm^{-1}) filme (CH_2Cl_2): 3339, 2974, 2923, 2876, 1710, 1509, 1450, 1366, 1253, 1166, 1069, 1028, 864, 743.

$\alpha_D^{20} = +116$ (c 0,1 CH_2Cl_2). Aspecto: óleo incolor.

HRMS calculada para $\text{C}_{22}\text{H}_{33}\text{NO}_7\text{NaS}$, 490,1875; Encontrada, 490,1895.

Exemplo 27: Obtenção do 1,4:3,6-dianidro-5-O-(benzil)-2-O-(N-*t*-butoxicarbonil-L-triptofano)-D-manitol (27)

RMN ^1H δ ppm (CDCl_3 , 300 MHz): 7,56 (d, 1H); 7,35-7,25 (m, 7H); 7,17-7,02 (m, 2H); 4,99 (q, 1H, $J = 5,7$ Hz); 4,75-4,46 (m, 5H); 4,13-4,01 (m, 1H); 3,90-3,85 (m, 2H); 3,80-3,67 (m, 1H); 3,58 (t, 1H, $J = 8,4$ Hz); 3,31-3,90 (m, 2H); 1,42 (s, 9H).

RMN¹³C (50 MHz, CDCl₃): 171,7; 155,0; 137,5; 135,9; 128,4; 127,9; 127,6; 127,5; 122,9; 121,9; 119,4; 118,6; 111,1; 110,0; 81,7; 80,6; 80,5; 80,2; 79,7; 78,6; 74,9; 72,5; 60,3; 54,3; 28,2.

IV ν (cm⁻¹) filme (CH₂Cl₂): 3344, 2974, 2933, 2876, 1740, 1706, 1500, 1455, 1366, 1247, 1166, 1068, 1023, 858, 743.

$\alpha_D^{20} = +114$ (c 0,1 CH₂Cl₂). Aspecto: óleo incolor.

HRMS calculada para C₂₉H₃₄N₂O₇Na, 545,2264; Encontrada, 545,2283.

Exemplo 28: Obtenção do 1,4:3,6-dianidro-5-O-(benzil)-2-O-(N-carbobenziloxi-prolina-fenilalanina)-D-manitol (28)

RMN ¹H δ ppm (CDCl₃, 300 MHz): 7,40-7,00 (m, 15H); 5,12-5,09 (m, 2H); 4,90 (q, 1H, $J = 7,2$ Hz); 4,75-4,72 (m, 2H); 4,54-4,46 (m, 2H); 4,35-4,29 (m, 1H); 4,07-3,90 (m, 4H); 3,70-3,60 (m, 1H); 3,49-3,38 (m, 3H); 3,20-3,02 (m, 2H); 1,90-1,65 (m, 4H).

RMN¹³C (50 MHz, CDCl₃): 171,0; 170,7; 155,9; 137,4; 136,3; 135,9; 129,2; 128,4; 127,8; 126,9; 126,8; 80,3; 80,1; 78,6; 74,9; 72,4; 70,9; 70,7; 70,4; 67,2; 60,1; 53,0; 46,7; 37,7; 27,7; 23,3.

IV ν (cm⁻¹) filme (CH₂Cl₂): 3413, 3316, 3060, 2952, 2881, 1744, 1694, 1524, 1448, 1416, 1355, 1200, 1122, 1029, 918, 738.

$\alpha_D^{20} = +53$ (c 0,1 CH₂Cl₂). Aspecto: óleo incolor.

HRMS calculada para C₃₅H₃₈N₂O₈Na, 637,2526; Encontrada, 637,2542.

Exemplo 29: Obtenção do 1,4:3,6-dianidro-5-O-(benzil)-2-O-(N-carbobenziloxi-D-prolina)-D-manitol (29)

RMN ¹H δ ppm (CDCl₃, 300 MHz): 7,36-7,29 (m, 10H); 5,18-5,07 (m, 1H); 4,98 (q, 1H, $J = 5,7$ Hz); 4,79-4,64 (m, 2H); 4,54 (dd, 1H, $J = 2,4; 11,7$ Hz); 4,49-4,42 (m, 1H); 4,38 (dd, 1H, $J = 3,9; 8,4$ Hz); 4,06-3,89 (m, 2H); 3,88-3,80 (m, 2H); 3,70-3,45 (m, 4H); 2,19-1,96 (m, 2H); 1,94-1,68 (m, 2H).

RMN¹³C (50 MHz, CDCl₃): 172,3; 160,1; 137,5; 136,6; 128,5; 138,4; 128,3; 127,9; 127,8; 127,7; 80,6; 80,2; 78,6; 74,5; 72,5; 71,4; 70,1; 66,9; 58,8; 46,4; 30,8; 23,4.

IV ν (cm⁻¹) (KBr): 3405, 2964, 2869, 1739, 1708, 1465, 1411, 1351, 1197, 1124, 1071, 880, 746.

Pf = 71-72°C.

$\alpha_D^{20} = +158$ (c 0,1 CH₂Cl₂). Aspecto: sólido branco.

HRMS calculada para $C_{26}H_{29}NO_7Na$, 490,1842; Encontrada, 490,1824.

Exemplo 30: Obtenção do 1,4:3,6-dianidro-5-O-(benzil)-2-O-(N_α -*t*-butoxicarbonil- N_ϵ -carbобензилокси-L-lisina)-D-manitol (30)

5 RMN 1H δ ppm ($CDCl_3$, 300 MHz): 7,35-7,27 (m, 10H); 5,15-5,08 (m, 2H); 4,89 (br s, 1H); 4,74-4,68 (m, 2H); 4,57 (d, 1H, $J = 11,7$ Hz); 4,47-4,44 (m, 1H); 4,32 (br s, 1H); 4,03-3,89 (m, 4H); 3,60 (t, 1H, $J = 8,4$ Hz); 3,18 (q, 2H, $J = 6,3$ Hz); 1,90-1,181 (m, 2H); 1,66-1,52 (m, 2H); 1,50 (s, 9H); 1,48-1,42 (m, 2H).

10 RMN ^{13}C (50 MHz, $CDCl_3$): 171,9; 156,4; 155,3; 137,5; 136,5; 128,5; 128,4; 128,0; 127,9; 127,8; 127,7; 80,5; 80,2; 79,8; 78,6; 74,8; 72,5; 71,0; 70,4; 66,5; 53,3; 40,5; 32,2; 29,9; 28,2; 22,2.

IV ν (cm^{-1}) filme (CH_2Cl_2): 3344, 3033, 2938, 2874, 1710, 1522, 1455, 1366, 1255, 1165, 1091, 1024, 859, 737.

$\alpha_D^{20} = +79$ (c 0,1 CH_2Cl_2). Aspecto: óleo incolor.

15 HRMS calculada para $C_{32}H_{42}N_2O_9Na$, 621,2788; Encontrada, 621,2784.

Exemplo 31: Obtenção do 1,4:3,6-dianidro-5-O-(benzil)-2-O-(N -*t*-butoxicarbonil-L-ácido aspártico éster benzílico)-D-manitol (31)

20 RMN 1H δ ppm ($CDCl_3$, 300 MHz): 7,36-7,31 (m, 10H); 5,51 (d, 1H, $J = 8,1$ Hz); 5,11-5,06 (m, 3H); 4,75 (d, 1H, $J = 12$ Hz); 4,70-4,61 (m, 2H); 4,57 (d, 1H, $J = 11,7$ Hz); 4,53 (t, 1H, $J = 4,8$ Hz); 4,05-3,99 (m, 1H); 3,93-3,81 (m, 3H); 3,56 (t, 1H, $J = 8,4$ Hz); 3,02 (dd, 1H, $J = 4,5$; 17 Hz); 2,93 (dd, 1H, $J = 4,5$; 17 Hz); 1,43 (s, 9H).

25 RMN ^{13}C (50 MHz, $CDCl_3$): 170,0; 170,4; 155,2; 137,5; 135,4; 128,5; 128,4; 128,3; 128,2; 127,9; 127,8; 80,5; 80,2; 80,0; 78,6; 75,2; 72,5; 70,9; 70,3; 66,7; 49,8; 36,7; 28,2.

IV ν (cm^{-1}) filme (CH_2Cl_2): 3361, 2975, 2881, 1732, 1501, 1457, 1362, 1212, 1158, 1089, 1065, 1028, 859, 744.

$\alpha_D^{20} = +92$ (c 0,1 CH_2Cl_2). Aspecto: óleo incolor.

30 HRMS calculada para $C_{29}H_{35}NO_7Na$, 564,2210; Encontrada, 564,2190.

Exemplo 32: Obtenção do 1,4:3,6-dianidro-5-O-(benzil)-2-O-(N -*t*-butoxicarbonil-L-ácido aspártico éster benzílico)-D-manitol (31)

RMN ^1H δ ppm (CDCl_3 , 300 MHz): 7,36-7,31 (m, 10H); 5,51 (d, 1H, $J = 8,1$ Hz); 5,11-5,06 (m, 3H); 4,75 (d, 1H, $J = 12$ Hz); 4,70-4,61 (m, 2H); 4,57 (d, 1H, $J = 11,7$ Hz); 4,53 (t, 1H, $J = 4,8$ Hz); 4,05-3,99 (m, 1H); 3,93-3,81 (m, 3H); 3,56 (t, 1H, $J = 8,4$ Hz); 3,02 (dd, 1H, $J = 4,5$; 17 Hz); 2,93 (dd, 1H, $J = 4,5$; 17 Hz); 1,43 (s, 9H).

5 RMN ^{13}C (50 MHz, CDCl_3): 170,0; 170,4; 155,2; 137,5; 135,4; 128,5; 128,4; 128,3; 128,2; 127,9; 127,8; 80,5; 80,2; 80,0; 78,6; 75,2; 72,5; 70,9; 70,3; 66,7; 49,8; 36,7; 28,2.

IV ν (cm^{-1}) filme (CH_2Cl_2): 3361, 2975, 2881, 1732, 1501, 1457, 1362, 1212, 1158, 1089, 1065, 1028, 859, 744.

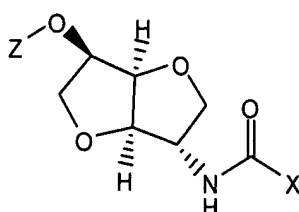
10 $\alpha_D^{20} = (c)$. Aspecto: óleo incolor.

HRMS calculada para $\text{C}_{29}\text{H}_{35}\text{NO}_7\text{Na}$, 564,2210; Encontrada, 564,2190.

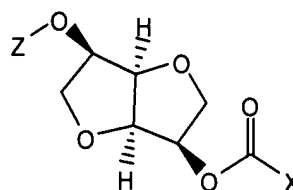
A descrição acima da presente invenção bem como os exemplos que foram apresentados atua com o propósito de ilustração e não limitam a invenção à forma
 15 aqui revelada e exemplificada. Em consequência; variações e modificações compatíveis com os ensinamentos acima; e a habilidade ou conhecimento da técnica relevante; estão dentro do escopo da presente invenção. As modalidades acima descritas e exemplificadas têm a intenção de melhor explicar os modos conhecidos para a prática da invenção e para permitir que os técnicos na área
 20 utilizem a invenção em tais; ou outras; modalidades e com várias modificações necessárias pelas aplicações específicas ou usos da presente invenção. É a intenção que a presente invenção inclua todas as modificações e variações da mesma; dentro do escopo descrito no relatório e nas reivindicações anexas.

REIVINDICAÇÕES

1-Compostos inibidores de polimerases e serina **caracterizados por** possuírem as fórmulas gerais I e II,



(I)



(II)

onde X pode ser D ou L-aminoácidos N-protégidos com BOC e/ou CBz e Z pode ser Benzil, carboxibenzil, carboxi-t-butil, hidrogênio, alquil ou aril:

2-Compostos de acordo com a reivindicação 1 **caracterizado por** Z ser preferencialmente benzil.

3-Composições farmacêuticas **caracterizadas por** conter uma quantidade farmacêuticamente aceitável em suas formulações, como ingredientes ativos, os compostos descritos nas reivindicações 1 e 2, assim como seus derivados e/ou sais isolados ou combinados.

4-Composições farmacêuticas de acordo com a reivindicação 3 **caracterizadas por** apresentarem uma concentração ativa dos compostos inibidores de serina proteases e DNA e RNA polimerases, compreendida entre 10µM a 150µM.

5-Composições farmacêuticas de acordo com a reivindicação 4 **caracterizadas por** apresentarem uma concentração preferencial de 10µM a 100 µM.

6-Composições farmacêuticas de acordo com a reivindicação 3 **caracterizadas pelos** excipientes empregados serem: adjuvantes, edulcorantes, solventes, estabilizantes, antioxidantes, conservantes, tampões, flavorizantes, tensoativos, umectantes, lubrificantes, dispersantes.

7-Composições farmacêuticas de acordo com a reivindicação 3 **caracterizada pelos** excipientes empregados serem dotados para produção de medicamentos antivirais nas formas farmacêuticas destinadas ao uso externo, oral ou parenteral.

- 5 8- Composições farmacêuticas de acordo com a reivindicação 7, **caracterizada por** serem empregadas no preparo de medicamentos para o tratamento de doenças causadas por vírus da família *flaviviridae*, compreendendo os vírus dessa família os vírus da hepatite C, da dengue, da febre amarela, da febre do oeste ou febre do Nilo.

10

9-Composições farmacêuticas de acordo com a reivindicação 9, **caracterizadas por** serem empregadas, mais especificamente, no tratamento de doenças causadas pelo vírus da hepatite C (HCV) e vírus da Dengue.

15

20

Figuras

Figura 1

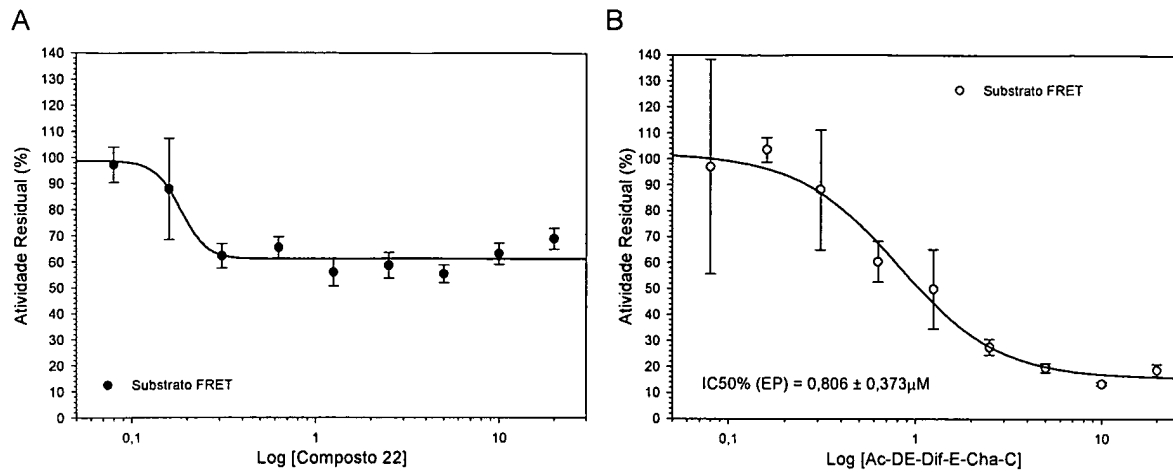
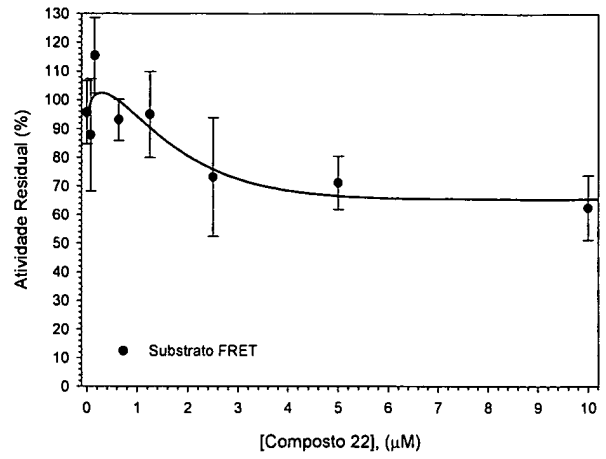
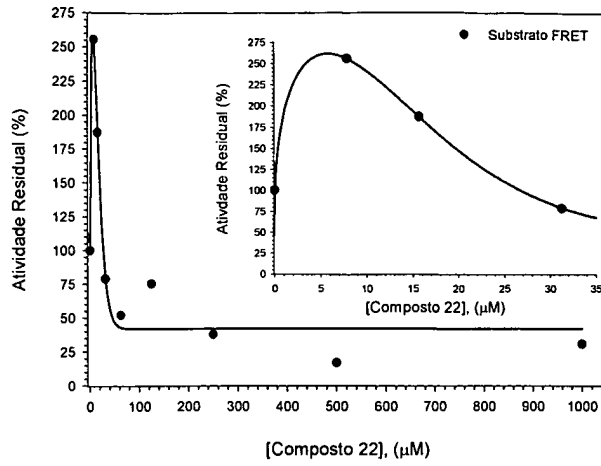


Figura 2

A

B



R 1000098-2

Resumo**COMPOSTOS PEPTÍDEOS MIMÉTICOS POTENCIALMENTE ATIVOS CONTRA
VÍRUS DA HEPATITE C E COMPOSIÇÃO FARMACÊUTICA CONTENDO TAIS**

5

COMPOSTOS

A presente invenção se refere à compostos peptídeo miméticos potencialmente ativos contra vírus da hepatite C e composição farmacêutica contendo tais compostos, desenhados como inibidores de polimerases e serina protease do vírus da Hepatite C (HCV), sintéticos, caracterizados por possuir, na
10 porção central, uma estrutura do tipo 1,4:3,6-dianidromanitol. As porções laterais são caracterizadas por possuir ligações peptídeo miméticas provenientes do acoplamento com diversos aminoácidos N-protegidos.