

(11) Número de Publicação: **PT 1481000 E**

(51) Classificação Internacional:  
**C07K 5/62** (2007.10) **C07K 5/65** (2007.10)  
**A61K 38/55** (2007.10)

**(12) FASCÍCULO DE PATENTE DE INVENÇÃO**

(22) Data de pedido: <b>2003.01.16</b>	(73) Titular(es): <b>DENDREON CORPORATION</b> <b>291 NORTH BERNARDO AVENUE MOUNTAIN</b> <b>VIEW, CA 94043</b> <b>US</b>
(30) Prioridade(s): <b>2002.01.18 US 52386</b>	<b>SCHERING CORPORATION</b> <b>US</b>
(43) Data de publicação do pedido: <b>2004.12.01</b>	(72) Inventor(es): <b>ANIL K. SAKSENA</b> <b>US</b> <b>RAYMOND G. LOVEY</b> <b>US</b> <b>YI-TSUNG LIU</b> <b>US</b> <b>ASHIT K. GANGULY</b> <b>US</b> <b>FRANK BENNETT</b> <b>US</b>
(45) Data e BPI da concessão: <b>2010.06.02</b> <b>160/2010</b>	(74) Mandatário: <b>ALBERTO HERMÍNIO MANIQUE CANELAS</b> <b>RUA VÍCTOR CORDON, 14 1249-103 LISBOA</b> <b>PT</b>

(54) Epígrafe: **NOVOS PÉPTIDOS COMO INIBIDORES DE SERINA PROTEASE NS3 DO VÍRUS DA HEPATITE C**

(57) Resumo:

**RESUMO**

**"NOVOS PÉPTIDOS COMO INIBIDORES DE SERINA PROTEASE NS3 DO  
VÍRUS DA HEPATITE C"**

A presente invenção descreve compostos novos que têm actividade inibidora de proteases de HCV bem como métodos para a preparação desses compostos. Noutra forma de realização, a invenção descreve composições farmacêuticas compreendendo esses compostos bem como métodos para a sua utilização para tratar doenças associadas às proteases de HCV.

**DESCRIÇÃO****"NOVOS PÉPTIDOS COMO INIBIDORES DE SERINA PROTEASE NS3 DO  
VÍRUS DA HEPATITE C"****CAMPO DA INVENÇÃO**

A presente invenção relaciona-se com novos inibidores de proteases do vírus da hepatite C ("HCV"), composições farmacêuticas contendo um ou mais desses inibidores, métodos de preparação desses inibidores e a utilização desses inibidores para tratar hepatite C e doenças relacionadas. Esta invenção especificamente descreve novos compostos peptídicos como inibidores da serina protease NS3/NS4a de HCV.

**ANTECEDENTES DA INVENÇÃO**

O vírus da hepatite C (HCV) é um vírus de ARN de cadeia simples de sentido (+) que foi implicado como o principal agente causal na hepatite não A, não B (NANBH), particularmente em NANBH associada ao sangue (BB-NANBH) (ver, publicação do pedido de patente internacional N° WO 89/04669 e publicação do pedido de patente europeia N° EP 381216). A NANBH distingue-se de outros tipos de doença hepática induzida por vírus, tal como o vírus da

hepatite A (HAV), o vírus da hepatite B (HBV), o vírus da hepatite delta (HDV), o citomegalovírus (CMV) e o vírus Epstein-Barr (EBV), bem como de outras formas de doença hepática tais como o alcoolismo e a cirrose biliar primária.

Recentemente, foi identificada, clonada e expressa uma protease de HCV necessária para o processamento de polipéptidos e a replicação viral; (ver, e.g., patente U.S. N° 5712145). Esta poliproteína contém aproximadamente 3000 aminoácidos, desde o terminal amina até ao terminal carboxilo, uma proteína nucleocapsídica (C), proteínas encapsuladas (E1 e E2) e várias proteínas não estruturais (NS1, 2, 3, 4a, 5a e 5b). A NS3 é uma proteína com aproximadamente 68 kda, codificada por aproximadamente 1893 nucleótidos do genoma do HCV, e tem dois domínios distintos: (a) um domínio de serina protease que consiste em aproximadamente 200 dos aminoácidos N-terminais; e (b) um domínio de ATPase dependente de ARN no terminal C da proteína. A protease NS3 é considerada um membro da família da quimiotripsina devido às semelhanças na sequência proteica, estrutura tridimensional global e mecanismo de catálise. Outras enzimas semelhantes a quimiotripsina são elastase, factor Xa, trombina, tripsina, plasmina, uroquinase, tPA e PSA. A serina protease NS3 de HCV é responsável pela proteólise do polipéptido (poliproteína) nas uniões NS3/NS4a, NS4a/NS4b, NS4b/NS5a e NS5a/NS5b e é por isso responsável por gerar quatro proteínas virais

durante a replicação viral. Isto tornou a serina protease NS3 de HCV um alvo atraente para quimioterapia antiviral.

Foi estabelecido que a proteína NS4a, um polipeptido com aproximadamente 6 kda, é um co-factor para a actividade de serina protease da NS3. A autoclivagem da união NS3/NS4a pela serina protease NS3/NS4 ocorre intramolecularmente (*i.e.*, *cis*) enquanto que os outros sítios de clivagem são processados intermolecularmente (*i.e.*, *trans*).

A análise dos sítios de clivagem natural da protease de HCV mostrou a presença de cisteína em P1 e de serina em P1' e que estes resíduos são estritamente conservados nas uniões NS4a/NS4b, NS4b/NS5a e NS5a/NS5b. A união NS3/NS4a contém uma treonina em P1 e uma serina em P1'. Está postulado que a substituição Cys→Thr em NS3/NS4a é responsável pelo requisito de processamento *cis* em vez de *trans* nesta união. Ver, *e.g.*, Pizzi *et al.* (1994) *Proc. Natl. Acad. Sci. (USA)* 91:888-892, Failla *et al.* (1996) *Folding & Design* 1:35-42. O sítio de clivagem de NS3/NS4a também é mais tolerante à mutagénese do que os outros sítios. Ver, *e.g.*, Kollykhalov *et al.* (1994) *J. Virol.* 68:7525-7533. Também se verificou que são necessários resíduos ácidos na região a montante do sítio de clivagem para uma clivagem eficiente. Ver, *e.g.* Komoda *et al.* (1994) *J. Virol.* 68:7351-7357.

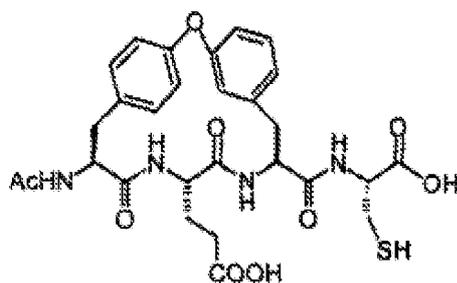
Os inibidores de protease de HCV que foram descritos incluem anti-oxidantes (ver publicação do pedido de patente internacional N° WO 98/14181), certos péptidos e análogos de péptidos (ver publicação do pedido de patente internacional N° WO 98/17679, Landro *et al.* (1997) *Biochem.* 36:9340-9348, Ingallinella *et al.* (1998) *Biochem.* 37:8906-8914, Llinas-Brunet *et al.* (1998) *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 8:1713-1718), inibidores baseados no polipéptido com 70 aminoácidos eglina c (Martin *et al.* (1998) *Biochem.* 37:11459-11468, afinidade de inibidores seleccionados do repertório de inibidores de tripsina de secreção pancreática humana (hPSTI-C3) e minicorpos (MBip) (Dimasi *et al.* (1997) *J. Virol.* 71:7461-7469), cV<sub>H</sub>E2 (um fragmento de anticorpo de domínio variável "camelizado") (Martin *et al.* (1997) *Protein Eng.* 10:607-614), e  $\alpha$ 1-antiquimiotripsina (ACT) (Elzouki *et al.*) (1997) *J. Hepat.* 27:42-28). Foi recentemente descrita uma ribozima concebida para destruir selectivamente o ARN do vírus da hepatite C (ver, *BioWorld Today* 9(217):4 (November 10, 1998)).

Faz-se também referência às publicações PCT N° WO 98/17679, publicada em 30 de Abril de 1998 (Vertex Pharmaceuticals Incorporated); WO 98/22496, publicada em 28 de Maio de 1998 (F. Hoffmann-La Roche AG); e WO 99/07734, publicada em 18 de Fevereiro de 1999 (Boehringer Ingelheim Canada Ltd.).

O HCV foi implicado na cirrose do fígado e na

indução de carcinoma hepatocelular. O prognóstico de doentes que sofrem de infecção por HCV é actualmente mau. A infecção por HCV é mais difícil de tratar do que outras formas de hepatite devido à falta de imunidade ou remissão associadas à infecção por HCV. Os dados actuais indicam uma taxa de sobrevivência inferior ao 50% aos quatro anos após o diagnóstico de cirrose. Os doentes diagnosticados com carcinoma hepatocelular ressectável localizado têm uma taxa de sobrevivência aos cinco anos de 10-30%, enquanto que os que têm carcinoma hepatocelular não ressectável localizado têm uma taxa de sobrevivência aos cinco anos inferior a 1%.

Faz-se referência a A. Marchetti *et al.*, *Synlett*, S1, 1000-1002 (1999) que descreve a síntese de análogos bicíclicos de um inibidor de protease NS3 de HCV. Um composto aí descrito tem a fórmula:



Faz-se também referência a W. Han *et al.*, *Bioorganic & Medicinal Chem. Lett.*, (2000) 10, 711-713, que descreve a preparação de certas  $\alpha$ -cetoamidas,  $\alpha$ -cetoésteres e  $\alpha$ -dicetonas contendo funcionalidades alilo e etilo.





*Proc. Assoc. Am. Physicians* 110(2):98-112. Estas terapêuticas sofrem de uma baixa taxa de resposta sustentada e de efeitos secundários frequentes. Ver, e.g., Hoofnagle et al. (1997) *N. Engl. J. Med.* 336:347. Actualmente, não está disponível nenhuma vacina para a infecção por HCV.

Os documentos US2002107181, US 2002016294, US 2002102235, US 2003036501, US 2002160962, US 2002147139 e US 2002068702 descrevem vários tipos de péptidos e/ou outros compostos como inibidores de serina protease NS-3 do vírus da hepatite C.

O documento WO 01/40262 descreve compostos cetoamidas e cetoésteres que se afirma serem úteis como inibidores de protease NS3 de HCV.

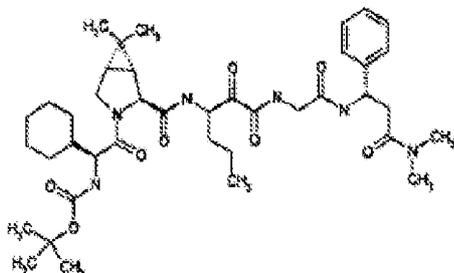
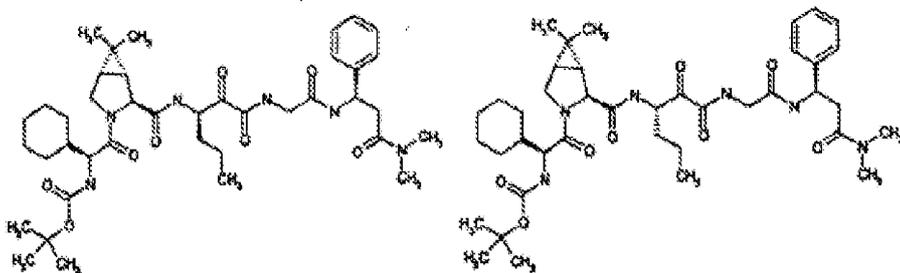
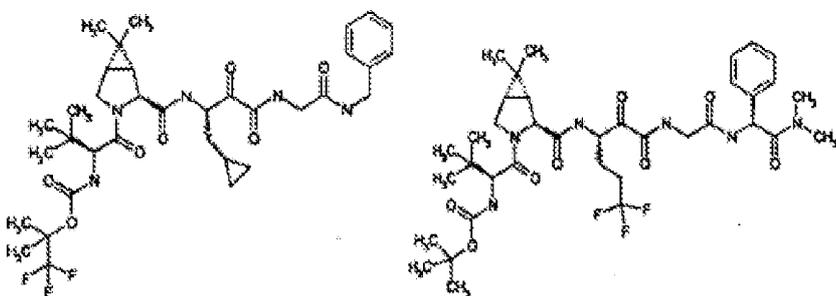
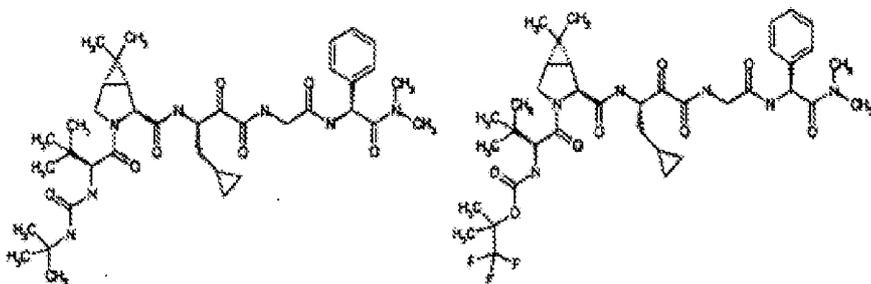
Existe necessidade de novos tratamentos e terapêuticas para a infecção por HCV. É portanto um objecto desta invenção proporcionar compostos úteis no tratamento ou prevenção ou melhoramento de um ou mais sintomas de hepatite C.

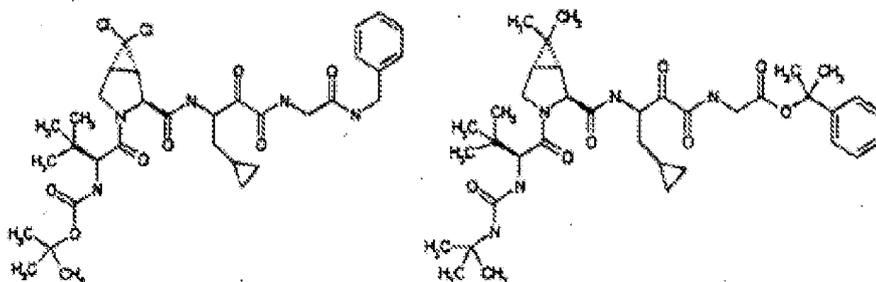
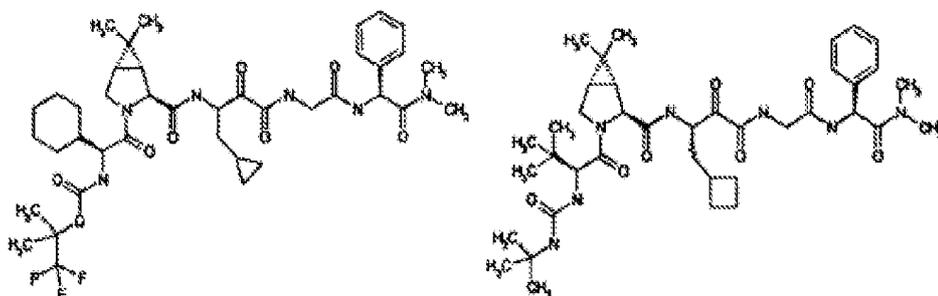
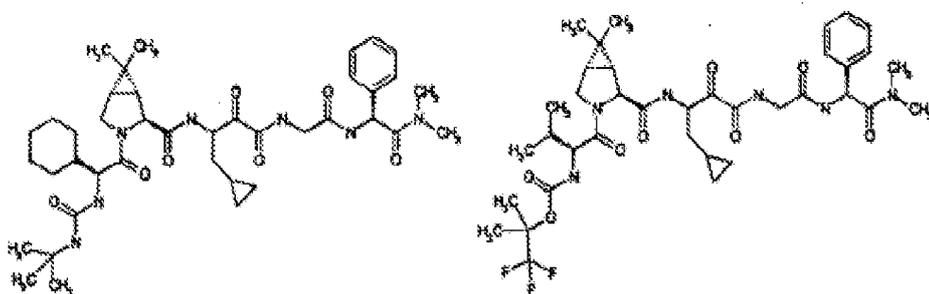
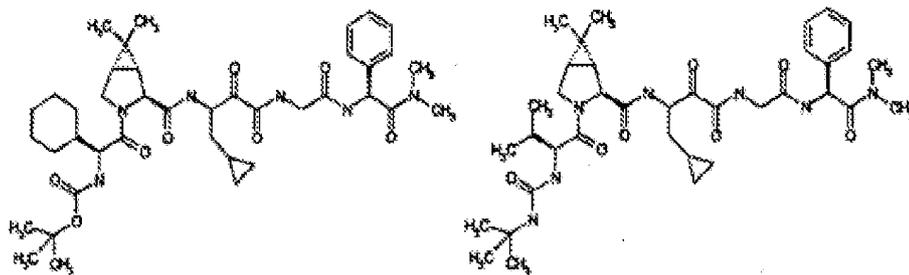
Outro objecto da presente invenção é proporcionar compostos úteis para modulação da actividade de serina proteases de HCV, particularmente a serina protease NS3/NS4 de HCV.

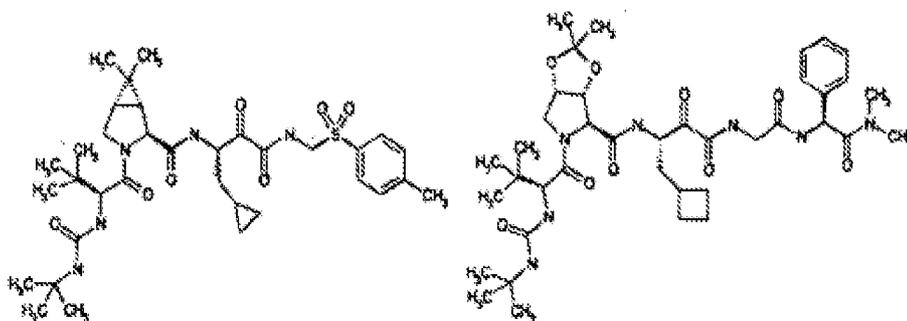
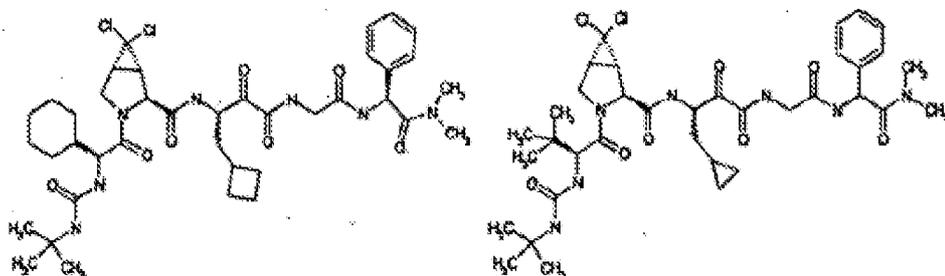
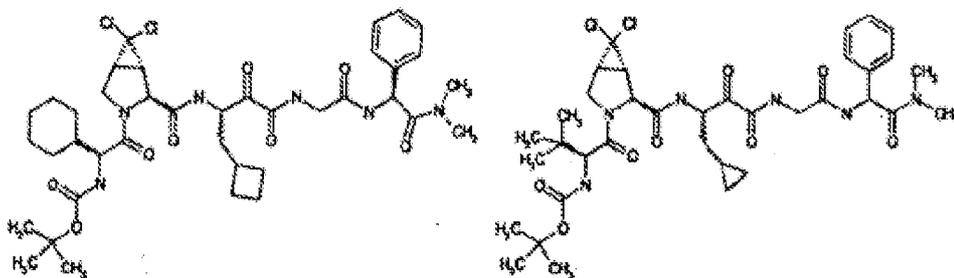
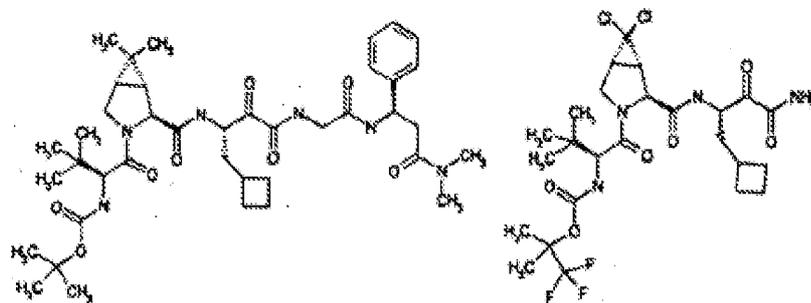
Outro objecto aqui é proporcionar compostos úteis para modulação do processamento do polipéptido de HCV.

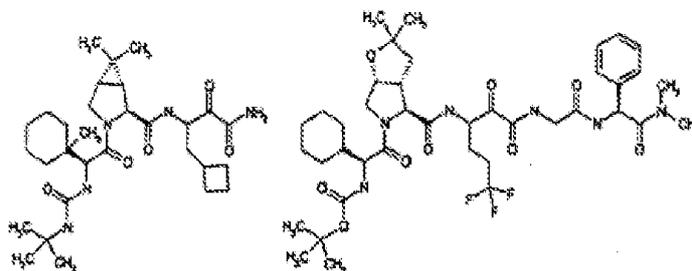
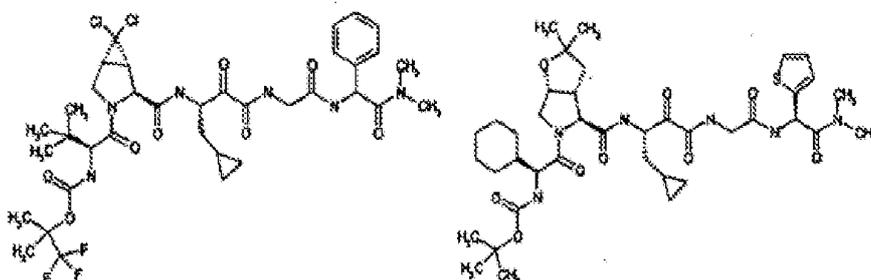
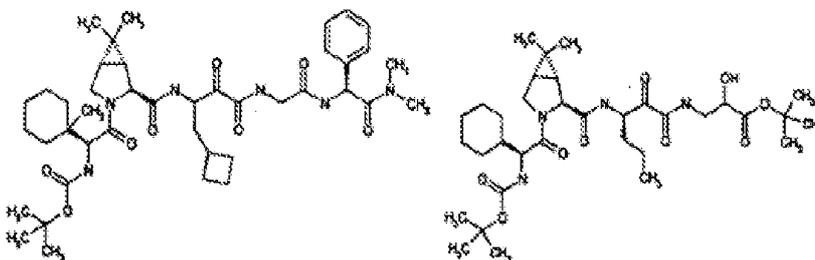
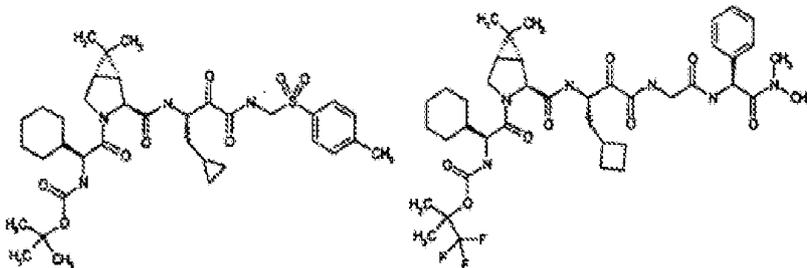
### **SUMÁRIO DA INVENÇÃO**

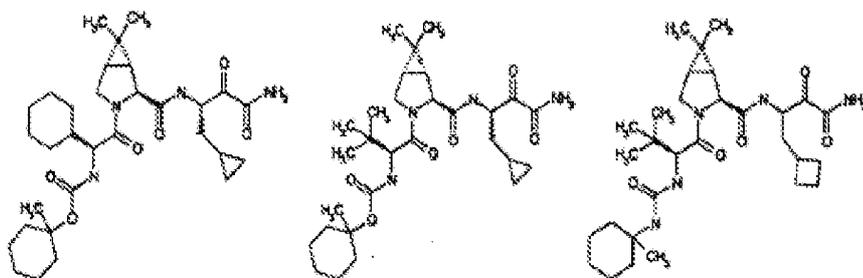
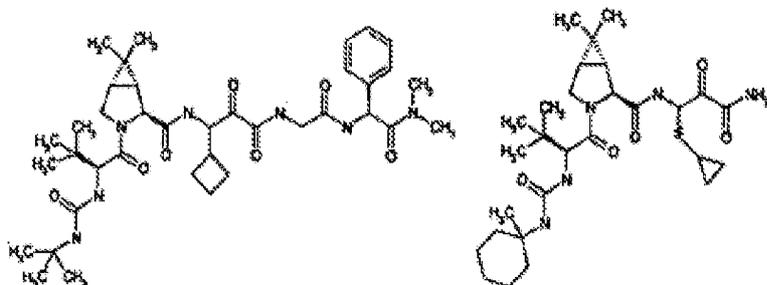
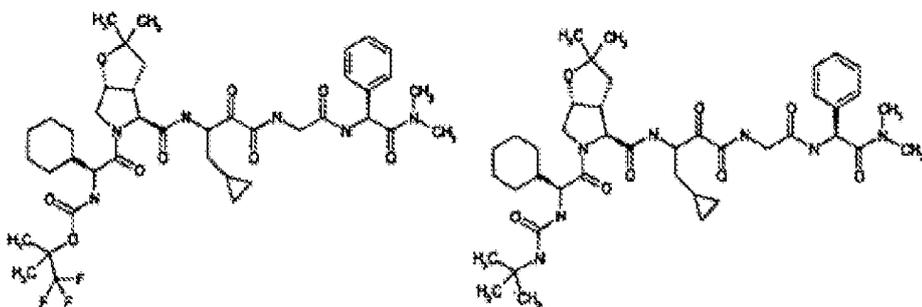
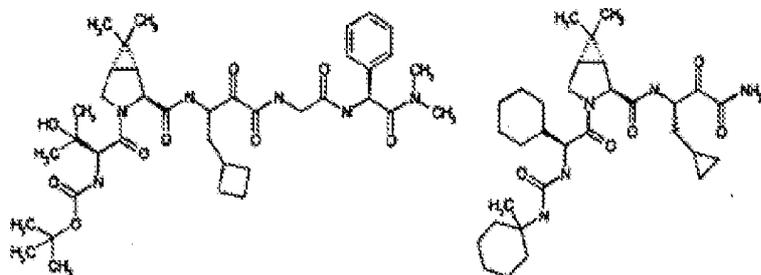
Nas suas muitas formas de realização, a presente invenção proporciona novos inibidores de protease de HCV, composições farmacêuticas contendo um ou mais dos compostos, e métodos de preparação de formulações farmacêuticas compreendendo um ou mais desses compostos, e são também descritos métodos de tratamento, prevenção ou melhoramento de um ou mais dos sintomas de hepatite C. Também são descritos métodos de modulação da interacção de um polipéptido de HCV com protease de HCV. Entre os compostos aqui proporcionados, são preferidos os compostos que inibem a actividade de serina proteases NS3/NS4 de HCV. O presente pedido proporciona um composto que apresenta actividade inibidora de protease de HCV, ou enantiómeros, estereoisómeros, rotâmeros, tautómeros ou racematos do referido composto, ou sais ou solvatos farmacêuticamente aceitáveis do referido composto, sendo o referido composto seleccionado de estruturas listadas adiante:

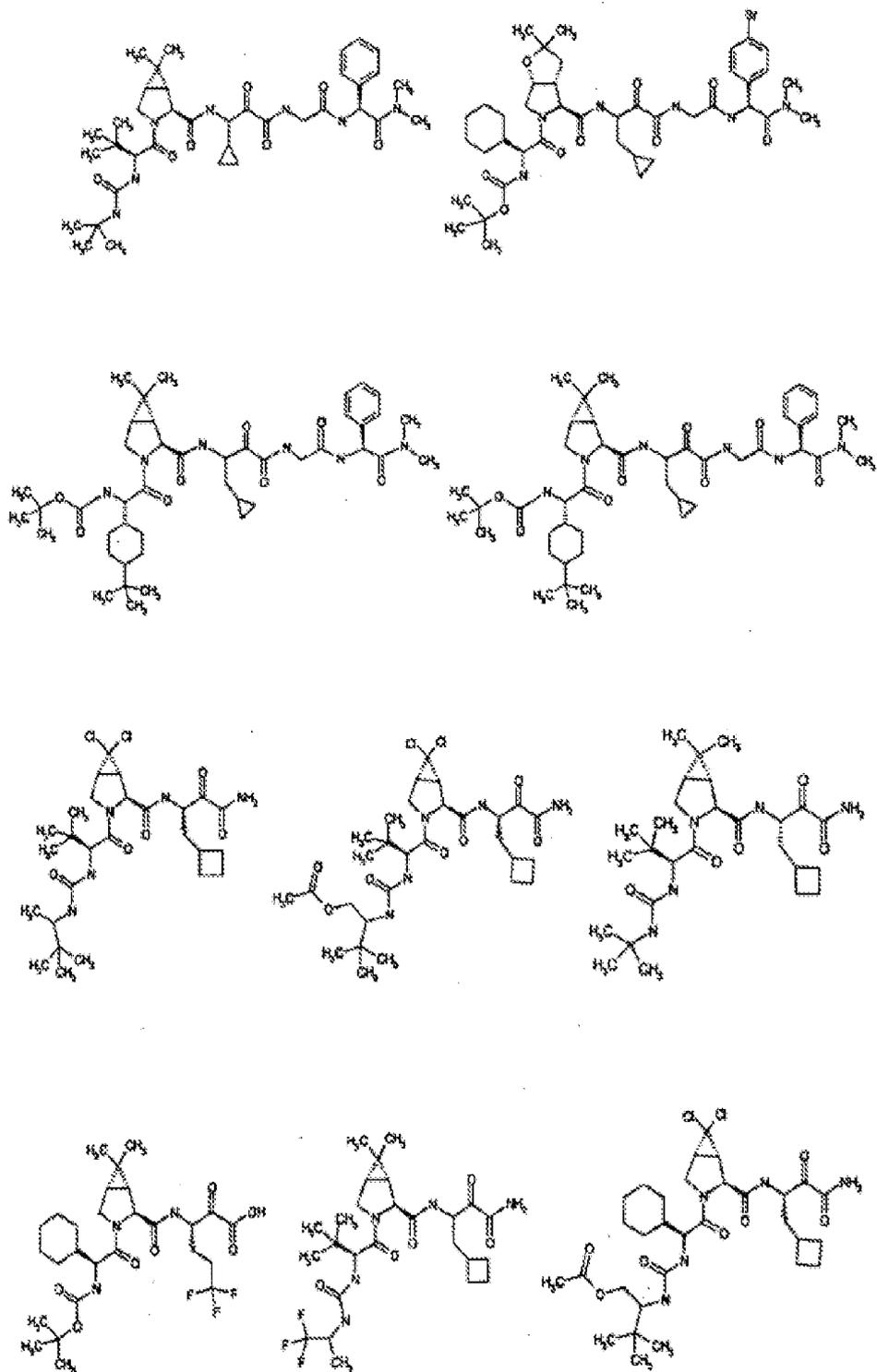


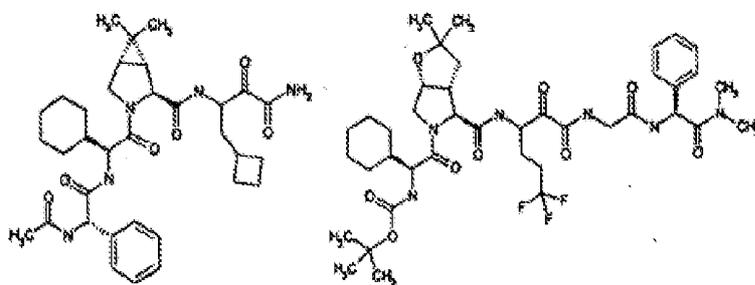
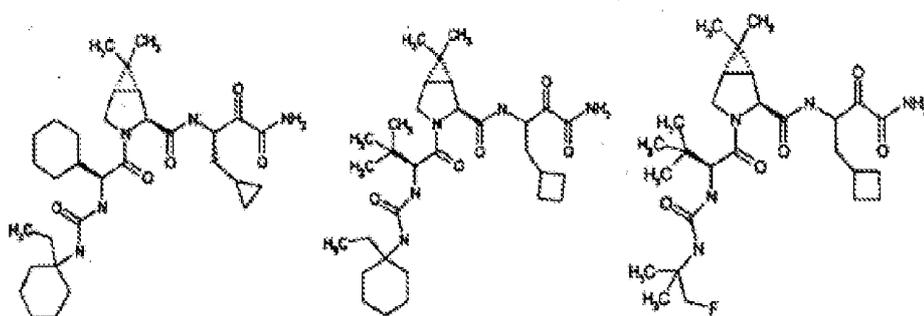
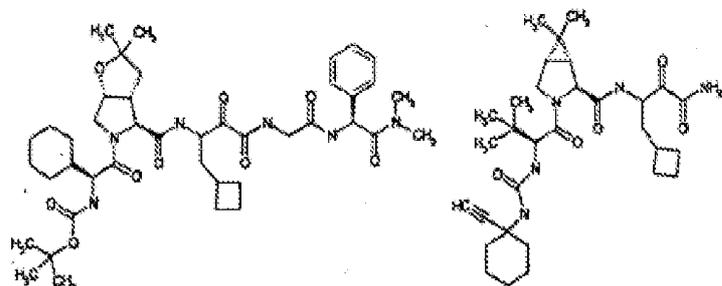


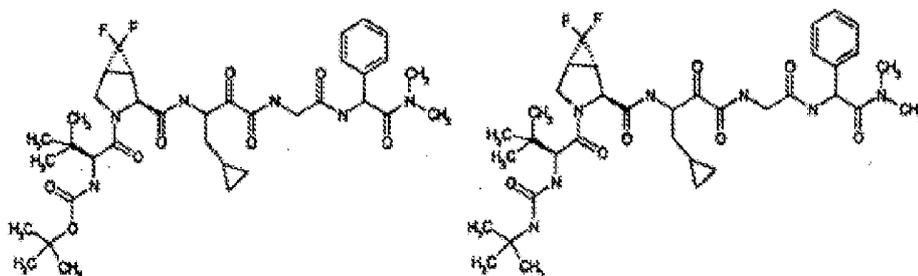
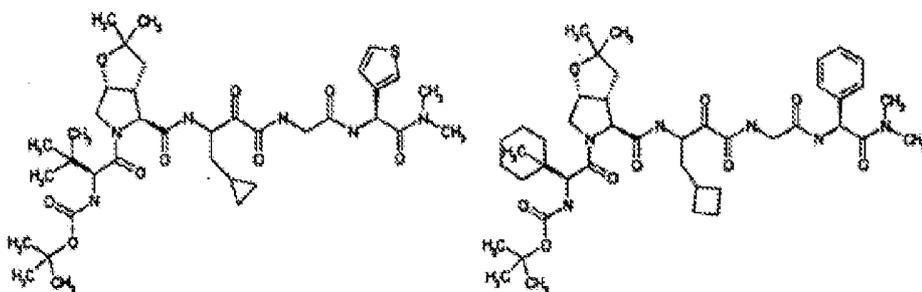
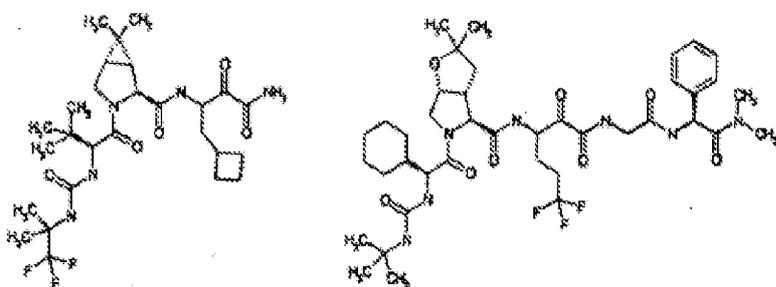
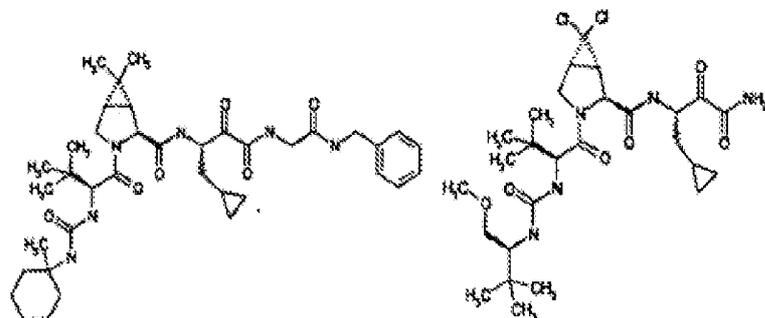


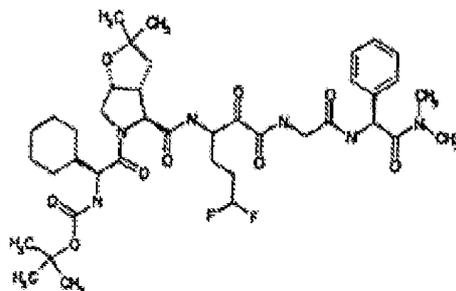
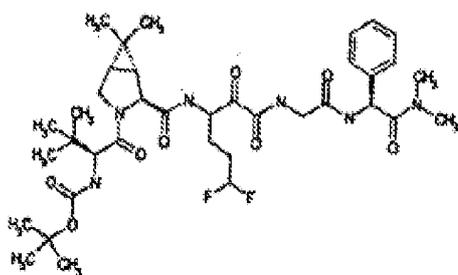
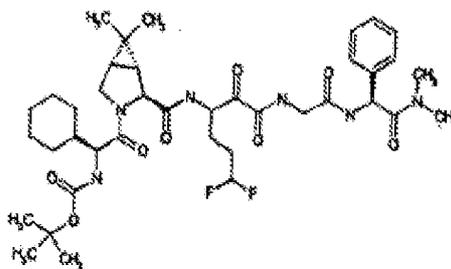
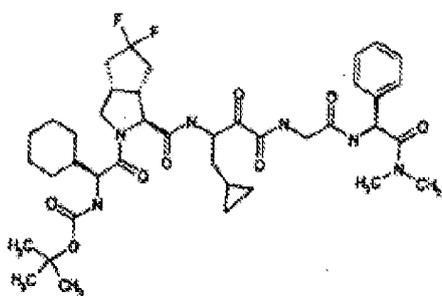
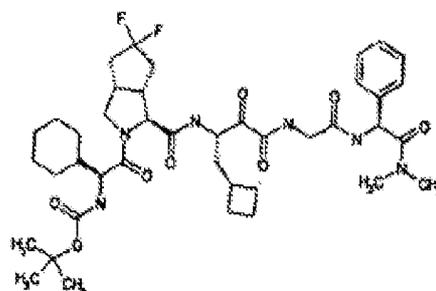
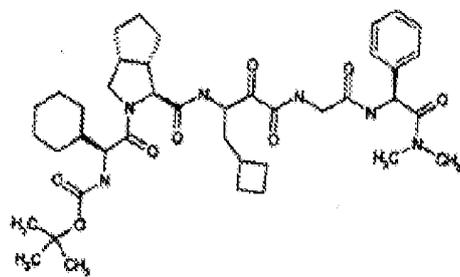
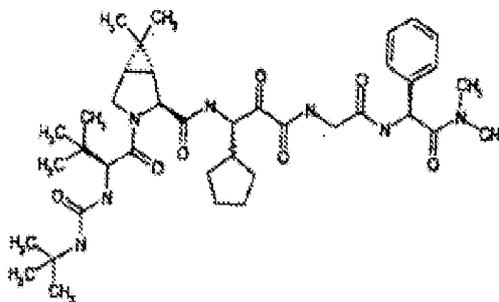
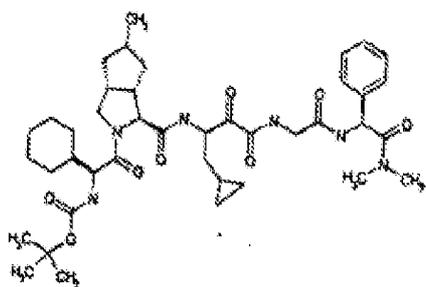


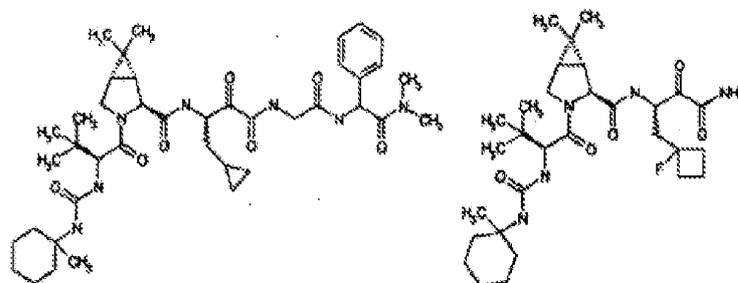
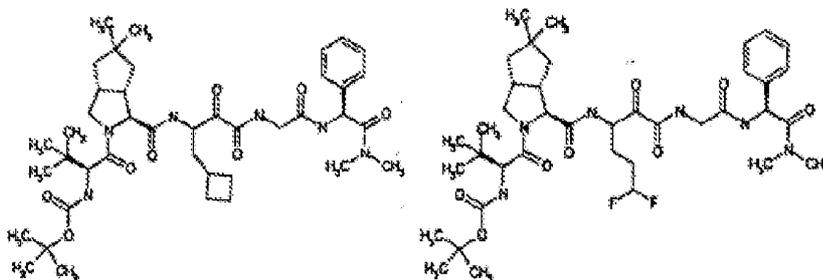
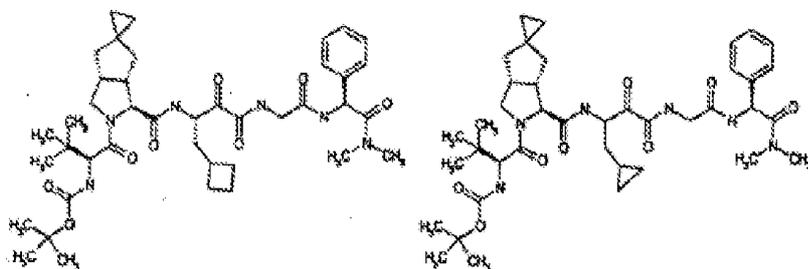
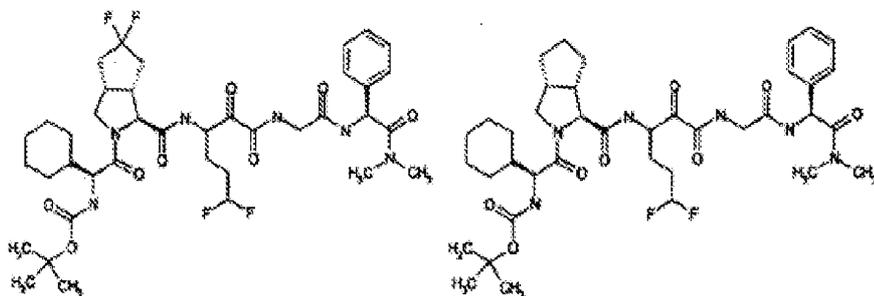


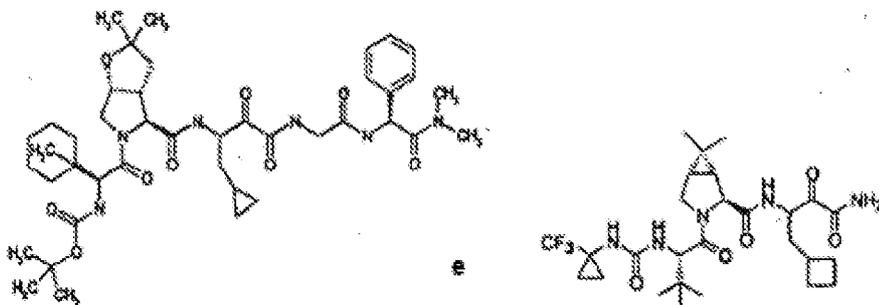
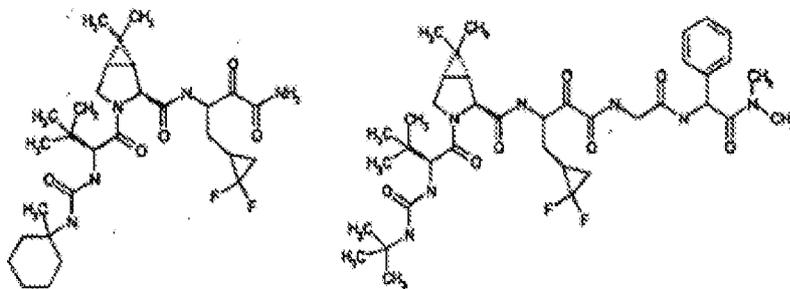
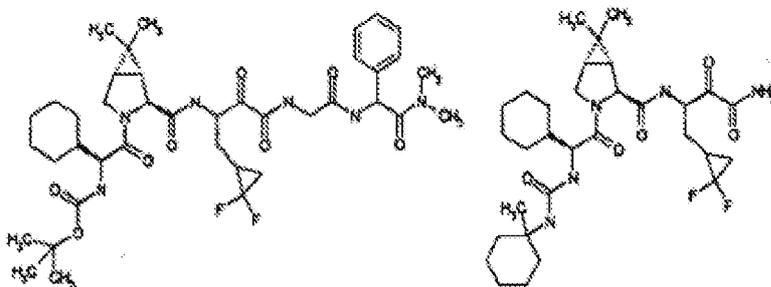
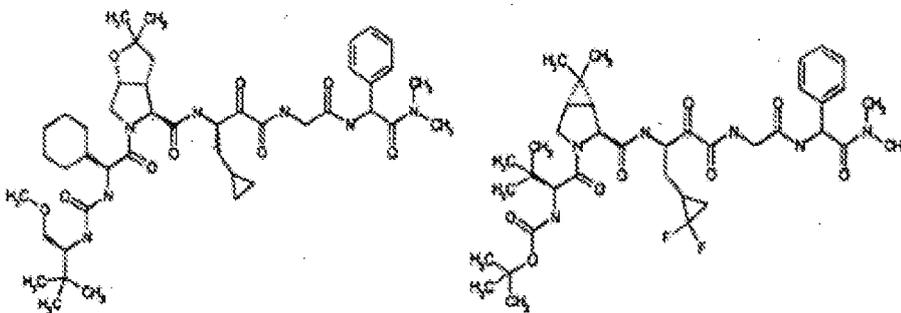












Também estão incluídos na invenção os tautômeros,

rotâmeros, enantiómeros e outros isómeros ópticos de compostos da invenção, bem como sais, solvatos e os seus derivados farmacêuticamente aceitáveis.

Uma outra característica da invenção são composições farmacêuticas contendo como ingrediente activo um composto da invenção (ou seu sal, solvato ou isómeros) conjuntamente com um veículo ou excipiente farmacêuticamente aceitável.

A invenção também proporciona métodos para preparação de compostos da invenção, bem como descreve métodos para o tratamento de doenças associadas ao HCV. Os métodos de tratamento compreendem a administração a um doente que sofre da referida doença ou doenças de uma quantidade terapêuticamente eficaz de um composto da invenção, ou de composições farmacêuticas compreendendo um composto da invenção.

Também se descreve a utilização de um composto da invenção para o fabrico de um medicamento para tratamento de uma doença associada a HCV.

Também se descreve um método de tratamento de uma doença associada ao vírus da hepatite C, compreendendo a administração de uma quantidade eficaz de um ou mais compostos da invenção.

Também se descreve um método de modulação da

actividade da protease do vírus da hepatite C (HCV), compreendendo fazer contactar protease de HCV com um ou mais compostos da invenção, em que o referido método é um método que não um método terapêutico de tratamento do corpo humano ou animal.

Também se descreve um método de tratamento, prevenção ou melhoramento de um ou mais sintomas de hepatite C, compreendendo a administração de uma quantidade eficaz de um ou mais compostos da invenção. A protease de HCV é a protease NS3 ou NS4a. Os compostos da invenção inibem essa protease. Também modulam o processamento do polipéptido do vírus da hepatite C (HCV).

#### **DESCRIÇÃO PORMENORIZADA DE FORMAS DE REALIZAÇÃO PREFERIDAS**

Numa forma de realização, a presente invenção descreve compostos da invenção como inibidores de protease HCV, especialmente a serina protease de HCV NS3/NS4a, ou um seu derivado farmacêuticamente aceitável.

Dependendo da sua estrutura, os compostos da invenção podem formar sais farmacêuticamente aceitáveis com ácidos orgânicos ou inorgânicos ou bases orgânicas ou inorgânicas. Exemplos de ácidos adequados para a formação desses sais são os ácidos clorídrico, sulfúrico, fosfórico, acético, cítrico, malónico, salicílico, málico, fumárico, succínico, ascórbico, maleico, metanossulfónico e outros

ácidos minerais e carboxílicos bem conhecido pelos peritos na técnica. Para a formação de sais com bases, as bases adequadas são, por exemplo, NaOH, KOH,  $\text{NH}_4\text{OH}$ , hidróxido de tetraalquilamónio e outras semelhantes.

Noutra forma de realização, esta invenção proporciona composições farmacêuticas compreendendo os péptidos da invenção como um ingrediente activo. As composições farmacêuticas geralmente compreendem adicionalmente um diluente transportador, excipiente ou veículo farmacêuticamente aceitável (colectivamente aqui referidos como materiais transportadores). Devido à sua actividade inibidora de HCV, essas composições farmacêuticas possuem utilidade no tratamento da hepatite C e doenças relacionadas.

Ainda noutra forma de realização, a presente invenção descreve métodos para preparação de composições farmacêuticas compreendendo os compostos da invenção como um ingrediente activo. Nas composições farmacêuticas e métodos da presente invenção, os ingredientes activos vão tipicamente ser administrados misturados com materiais transportadores adequados devidamente seleccionados no que diz respeito à forma de administração pretendida, *i.e.* comprimidos orais, cápsulas (cheias de sólido, cheias de semi-sólido ou cheias de líquido), pós para reconstituição, geles orais, elixires, grânulos dispersáveis, xaropes, suspensões, etc., e consistentes com a prática farmacêutica convencional. Por exemplo, para administração oral na forma

de comprimidos ou cápsulas, o componente farmacologicamente activo pode ser combinado com qualquer veículo inerte farmacologicamente aceitável não tóxico oral tal como lactose, amido, sacarose, celulose, estearato de magnésio, fosfato dicálcico, sulfato de cálcio, talco, manitol, álcool etílico (formas líquidas) e outras semelhantes. Além disso, quando desejado ou necessário, também podem ser incorporados na mistura aglutinantes, lubrificantes, agentes de desintegração e corantes adequados. Os pós e comprimidos podem ser constituídos por desde cerca de 5 a cerca de 95 por cento da composição da invenção. Os aglutinantes adequados incluem amido, gelatina, açúcares naturais, edulcorantes de milho, gomas naturais e sintéticas tais como acácia, alginato de sódio, carboximetilcelulose, polietilenoglicol e ceras. Entre os lubrificantes podem ser mencionados para utilização nestas formas de dosagem ácido bórico, benzoato de sódio, acetato de sódio, cloreto de sódio e outros semelhantes. Os desintegrantes incluem amido, metilcelulose, goma de guar e outros semelhantes.

Também podem ser incluídos edulcorantes e agentes aromatizantes e conservantes quando necessário. Alguns dos termos acima referidos, nomeadamente desintegrantes, diluentes, lubrificantes, aglutinantes e outros semelhantes, são discutidos em mais pormenor adiante.

Adicionalmente, as composições da presente invenção podem ser formuladas em forma de liberação controlada

para proporcionar a libertação de taxa controlada de um ou mais dos componentes ou ingredientes activos para optimizar os efeitos terapêuticos, *i.e.*, actividade inibidora de HCV e outras semelhantes. As formas de dosagem adequadas para libertação controlada incluem comprimidos em camadas contendo camadas com diferentes taxas de desintegração ou matrizes poliméricas de libertação controlada impregnadas com os componentes activos e com a forma de comprimidos ou cápsulas contendo essas matrizes poliméricas porosas impregnadas ou encapsuladas.

As preparações em forma líquida incluem soluções, suspensões e emulsões. Como exemplo podem ser mencionadas soluções de água ou água e propilenoglicol para injeções parentéricas ou adição de edulcorantes e calmantes para soluções, suspensões e emulsões orais. As preparações em forma líquida também podem incluir soluções para administração intranasal.

As preparações em aerossol adequadas para inalação podem incluir soluções e sólidos em forma de pó, que podem estar em combinação com um veículo farmacologicamente aceitável tal como um gás comprimido inerte, *e.g.* azoto.

Para preparação de supositórios, uma cera de baixo ponto de fusão, tal como uma mistura de glicéridos de ácidos gordos como a manteiga de cacau é primeiro fundida, e o ingrediente activo é aí disperso homogeneamente por agitação ou mistura semelhante. A mistura homogénea fundida

é então vertida em moldes de tamanho conveniente, deixada arrefecer e assim solidificar.

Também estão incluídas preparações em forma sólida que se destinam a ser convertidas, pouco antes da utilização, em preparações em forma líquida para administração oral ou parentérica. Essas formas líquidas incluem soluções, suspensões e emulsões.

Os compostos da invenção também pode ser administrados transdermicamente. As composições transdérmicas podem tomar a forma de cremes, loções, aerossóis e/ou emulsões e podem ser incluídas num penso transdérmico do tipo de matriz ou de reservatório como são convencionais na técnica para este fim.

De preferência o composto é administrada por via oral, intravenosa ou subcutânea.

De preferência, a preparação farmacêutica está numa forma de dosagem unitária. Nessa forma, a preparação é subdividida em doses unitárias de tamanho adequado contendo quantidades apropriadas dos componentes activos, e.g. uma quantidade eficaz para atingir o objectivo desejado.

A quantidade da composição activa da invenção numa dose unitária de preparação de dose pode ser geralmente variada ou ajustada de cerca de 1,0 miligrama a cerca de 1000 miligramas, de preferência de cerca de 1,0 a cerca

de 950 miligramas, mais preferencialmente de cerca de 1,0 a cerca de 500 miligramas, e tipicamente de cerca de 1 a cerca de 250 miligramas, de acordo com a aplicação particular. A dose real empregada pode variar dependendo da idade do doente, sexo, peso e gravidade da patologia a ser tratada. Essas técnicas são bem conhecidas pelos peritos na técnica.

Geralmente, a forma de dosagem oral humana contendo os ingredientes activos pode ser administrada 1 ou 2 vezes por dia. A quantidade e a frequência da administração vai ser regulada de acordo com a avaliação do médico assistente. Uma posologia diária geralmente recomendada para administração oral pode variar de cerca de 1,0 miligrama de cerca de 1000 miligramas por dia, em doses únicas ou em doses divididas.

A seguir descreve-se alguns termos úteis:

Cápsula - refere-se a um recipiente ou invólucro especial feito de metil celulose, álcoois polivinílicos ou gelatinas desnaturadas ou amido para manter ou conter composições compreendendo os ingredientes activos. As cápsulas de invólucro duro são tipicamente feitas de misturas de gelatinas de ossos e pele de porco com rigidez do gel relativamente elevada. A própria cápsula pode conter pequenas quantidades de corantes, agentes opacificantes, plastificantes e conservantes.

Comprimido - refere-se a uma forma de dosagem

sólida comprimida ou moldada contendo os ingredientes activos com diluentes adequados. O comprimido pode ser preparado por compressão de misturas ou granulados obtidos por granulação por via húmida, granulação seca ou por compactação.

Gel oral - refere-se aos ingredientes activos dispersos ou solubilizados numa matriz semi-sólida hidrófila.

Pó para reconstituição refere-se a misturas de pó que contêm os ingredientes activos e diluentes adequados que podem ser suspensos na água ou sumos.

Diluyente - refere-se a substâncias que normalmente constituem a maior parte da composição ou forma de dosagem. Diluentes apropriados incluem açúcares tais como lactose, sacarose, manitol e sorbitol; amidos derivados do trigo, milho, arroz e batata; e celulosas tais como celulose microcristalina. A quantidade de diluyente na composição pode variar de cerca de 10 a cerca de 90% em peso da composição total, de preferência de cerca de 25 a cerca de 75%, mais preferencialmente de cerca de 30 a cerca de 60% em peso, mais preferencialmente ainda de cerca de 12 a cerca de 60%.

Desintegrante - refere-se a materiais adicionados à composição para a ajudar a separar-se (desintegrar-se) e libertar os medicamentos. Os desintegrantes adequados

incluem amidos, amidos modificados "solúveis em água fria" tais como carboximetilamido de sódio; gomas naturais e sintéticas, tais como goma de semente de alfarroba, karaya, guar, tragacanta e agar; derivados de celulose, tais como metilcelulose e carboximetilcelulose de sódio; celuloses microcristalinas e celuloses microcristalinas reticuladas tais como croscarmelose de sódio; alginatos tais como ácido algínico e alginato de sódio; argilas tais como bentonites; e misturas efervescentes. A quantidade de desintegrante na composição pode variar de cerca de 2 a cerca de 15% em peso da composição, mais preferencialmente de cerca de 4 a cerca de 10% em peso.

Aglutinante - refere-se às substâncias que ligam ou "colam" pós e os tornam coesos formando grânulos, servindo assim como o "adesivo" na formulação. Os aglutinantes adicionam resistência intrínseca já disponível no diluente ou agente de volume. Os aglutinantes adequados incluem açúcares como a sacarose; amidos derivados do trigo, arroz, milho e batata; gomas naturais, tais como acácia, gelatina e tragacanta; derivados de algas tais como ácido algínico, alginato de sódio e alginato de amónio e cálcio, alginato de amónio; materiais celulósicos tais como metilcelulose e carboximetilcelulose de sódio e hidroxipropilmetilcelulose; polivinilpirrolidona; e aglutinantes inorgânicos, tais como silicato de alumínio e magnésio. A quantidade de aglutinante na composição pode variar de cerca de 2 a cerca de 20% em peso da composição, mais preferencialmente de cerca de 3 a cerca de 10%, em peso,

mais preferencialmente ainda de cerca de 3 a cerca de 6% em peso.

Lubrificante - refere-se a uma substância adicionada à forma de dosagem para permitir que o comprimido, granulado, etc., após ter sido comprimido, se liberte do molde ou matriz por redução da fricção ou desgaste. Os lubrificantes adequados incluem estearatos metálicos, tais como estearato de magnésio, estearato de cálcio ou estearato de potássio; ácido esteárico; ceras de alto ponto de fusão; e lubrificantes solúveis em água, tais como cloreto de sódio, benzoato de sódio, acetato de sódio, oleato de sódio, polietilenoglicóis e d,l-leucina. Os lubrificantes são normalmente adicionados no último passo antes da compressão, uma vez que têm de estar presentes na superfície dos grânulos e entre eles e as peças de prensa de comprimidos. A quantidade de lubrificante na composição pode variar de cerca de 0,2 a cerca de 5% em peso da composição, de preferência de cerca de 0,5 a cerca de 2%, mais preferencialmente de cerca de 0,3 a cerca de 1,5% em peso.

Deslizante - material que impede a aglutinação e melhora as características de fluidez de granulados de modo que o fluxo é homogêneo e uniforme. O deslizantes adequados incluem dióxido de silício e talco. A quantidade de deslizante na composição pode variar de cerca de 0,1% a cerca de 5% em peso da composição total, de preferência de cerca de 0,5 a cerca de 2% em peso.

Agentes corantes - excipientes que proporcionam coloração da composição ou da forma de dosagem. Esses excipientes podem incluir corantes de qualidade alimentar e corantes de qualidade alimentar adsorvidos num absorvente adequado tal como argila ou óxido de alumínio. A quantidade do agente corante pode variar de cerca de 0,1 a cerca de 5% em peso da composição, preferencialmente de cerca de 0,1 a cerca de 1%.

Biodisponibilidade - refere-se à velocidade e extensão com que o ingrediente farmacologicamente activo ou unidade terapêutica é absorvido na circulação sistémica a partir de uma forma de dosagem administrada em comparação com um padrão ou controlo.

Os métodos convencionais para a preparação de comprimidos são conhecidos. Esses métodos incluem métodos a seco, tais como compressão directa e compressão de granulados produzidos por compactação, ou métodos por via húmida e outros procedimentos especiais. Os métodos convencional para fazer outras formas para administração, tais como, por exemplo, cápsulas, supositórios e outros semelhantes, também são bem conhecidos.

As composições farmacêuticas descritas acima podem ser utilizadas para o tratamento da hepatite C. O método compreende a administração de uma quantidade terapêuticamente eficaz da composição farmacêutica da

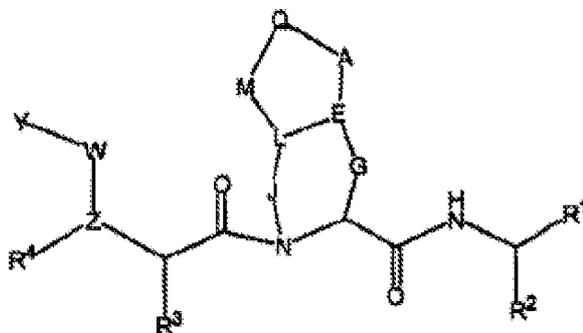
invenção a um doente que tem essa doença ou doenças e necessita desse tratamento.

Os compostos da invenção podem ser utilizados para o tratamento de hepatite C em seres humanos no modo de monoterapêutica ou num modo de terapêutica de associação (e.g., associação dupla, associação tripla, etc.) tal como, por exemplo, em associação com agentes antivirais e/ou imunomoduladores. Exemplos desses agentes antivirais e/ou imunomoduladores incluem Ribavirin (da Schering-Plough Corporation, Madison, New Jersey) e Levovirin™ (de ICN Pharmaceuticals, Costa Mesa, Califórnia), VP 50406™ (de Viropharma, Incorporated, Exton, Pennsylvania), ISIS 14803™ (de ISIS Pharmaceuticals, Carlsbad, Califórnia), Heptazyme™ (de Ribozyme Pharmaceuticals, Boulder, Colorado), VX 497™ (de Vertex Pharmaceuticals, Cambridge, Massachusetts), Thymosin™ (de SciClone Pharmaceuticals, San Mateo, Califórnia), Maxamina™ (Maxim Pharmaceuticals, San Diego, Califórnia), micofenolato mofetil (de Hoffman-LaRoche, Nutley, New Jersey), interferão (tal como, por exemplo, interferão alfa, conjugados de PEG-interferão alfa) e outros semelhantes. Os "conjugados de PEG-interferão alfa" são moléculas de interferão alfa ligadas covalentemente a uma molécula de PEG. Conjugados de PEG-interferão alfa ilustrativos incluem interferão alfa-2a (Roferon™ de Hoffman La-Roche, Nutley, New Jersey) na forma de interferão alfa-2<sup>a</sup> pegilado (e.g., comercializado com a marca comercial Pegasys™), interferão alfa-2b (Intron™, de Schering-Plough Corporation) na forma de interferão alfa-2b

pegilado (e.g., comercializado com a marca comercial PEG-Intron™), interferão alfa-2c (Berofor Alpha™, de Boehringer Ingelheim, Ingelheim, Alemanha) ou interferão de consenso definido por determinação de uma sequência de consenso de interações alfa de ocorrência natural (Infergen™, de Amgen, Thousand Oaks, Califórnia).

Tal como afirmado anteriormente, a invenção também inclui tautômeros, rotâmeros, enantiômeros e estereoisômeros dos compostos da invenção. Assim, como será entendido por um perito na matéria, alguns dos compostos da invenção podem existir em formas isoméricas adequadas. Essas variações estão contemplados como estando dentro do âmbito da invenção.

Os compostos da invenção são um subconjunto de uma classe de compostos mais ampla, representados pela estrutural geral ilustrada na Fórmula I:



Fórmula I

em que:

Y é seleccionado do grupo que consiste em alquilo, alquil-arilo, heteroalquilo, heteroarilo, aril-heteroarilo, alquil-heteroarilo, cicloalquilo, alquiloxi, alquil-ariloxi, ariloxi, heteroariloxi, heterocicloalquiloxi, cicloalquiloxi, alquilamino, arilamino, alquilarilamino, aril-amino, heteroarilamino, cicloalquilamino e heterocicloalquilamino, com a condição de que Y pode estar opcionalmente substituído com  $X^{11}$  ou  $X^{12}$ ;

$X^{11}$  é alquilo, alcenilo, alcinilo, cicloalquilo, cicloalquil-alquilo, heterociclilo, heterociclilalquilo, arilo, alquilarilo, arilalquilo, heteroarilo, alquil-heteroarilo, ou heteroarilalquilo, com a condição de que  $X^{11}$  pode estar adicionalmente opcionalmente substituído com  $X^{12}$ ;

$X^{12}$  é hidroxilo, alcoxi, ariloxi, tio, alquiltio, ariltio, amino, alquilamino, arilamino, alquilsulfonilo, arilsulfonilo, alquilsulfonamido, arilsulfonamido, carboxilo, carbalcoxi, carboxamido, alcoxycarbonilamino, alcoxycarboniloxi, alquilureído, arilureído, halogéneo, ciano ou nitro, com a condição de que os referidos alquilo, alcoxi e arilo podem estar opcionalmente adicionalmente substituídos com unidades seleccionadas independentemente de  $X^{12}$ ;

$R^1$  é  $-C(O)R^5$  ou  $-B(OR)_2$ , em que  $R^5$  é H,  $-OH$ ,  $-OR^8$ ,  $-NR^9R^{10}$ ,  $-CF_3$ ,  $-C_2F_5$ ,  $-C_3F_7$ ,  $-CF_2R^6$ ,  $-R^6$ , ou  $-C(O)R^7$  em que  $R^7$  é H,  $-OH$ ,  $-OR^8$ ,  $-CHR^9R^{10}$ , ou  $-NR^9R^{10}$ , em que  $R^6$ ,  $R^8$ ,  $R^9$  e  $R^{10}$  são seleccionados independentemente do grupo que consiste em H, alquilo, arilo, heteroalquilo, heteroarilo, cicloalquilo,

cicloalquilo, arilalquilo, heteroarilalquilo,  $-\text{[CH(R}^{1'})\text{]}_p\text{C(O)-OR}^{11}$ ,  $-\text{[CH(R}^{1'})\text{]}_p\text{C(O)NR}^{12}\text{R}^{13}$ ,  $-\text{[CH(R}^{1'})\text{]}_p\text{S(O}_2\text{)R}^{11}$ ,  $-\text{[CH(R}^{1'})\text{]}_p\text{C(O)R}^{11}$ ,  $-\text{[CH(R}^{1'})\text{]}_p\text{CH(OH)R}^{11}$ ,  $-\text{CH(R}^{1'})\text{C(O)N(H)CH(R}^{2'})\text{C(O)OR}^{11}$ ,  $-\text{CH(R}^{1'})\text{C(O)N(H)CH(R}^{2'})\text{C(O)NR}^{12}\text{R}^{13}$ ,  $-\text{CH(R}^{1'})\text{C(O)N(H)CH(R}^{2'})\text{R}'$ ,  $-\text{CH(R}^{1'})\text{C(O)N(H)CH(R}^{2'})\text{C(O)N(H)CH(R}^{3'})\text{C(O)OR}^{11}$ ,  $-\text{CH(R}^{1'})\text{C(O)N(H)CH(R}^{2'})\text{C(O)N(H)CH(R}^{3'})\text{C(O)NR}^{12}\text{R}^{13}$ ,  $-\text{CH(R}^{1'})\text{C(O)N(H)CH(R}^{2'})\text{C(O)N(H)CH(R}^{3'})\text{C(O)N(H)CH(R}^{4'})\text{C(O)OR}^{11}$ ,  $-\text{CH(R}^{1'})\text{C(O)N(H)CH(R}^{2'})\text{C(O)N(H)CH(R}^{3'})\text{C(O)N(H)CH(R}^{4'})\text{C(O)NR}^{12}\text{R}^{13}$ ,  $-\text{CH(R}^{1'})\text{C(O)N(H)CH(R}^{2'})\text{C(O)N(H)CH(R}^{3'})\text{C(O)N(H)CH(R}^{4'})\text{C(O)N(H)CH(R}^{5'})\text{C(O)OR}^{11}$  e  $-\text{CH(R}^{1'})\text{C(O)N(H)CH(R}^{2'})\text{C(O)N(H)CH(R}^{3'})\text{C(O)N(H)CH(R}^{4'})\text{C(O)N(H)CH(R}^{5'})\text{C(O)NR}^{12}\text{R}^{13}$ ,

em que  $\text{R}^{1'}$ ,  $\text{R}^{2'}$ ,  $\text{R}^{3'}$ ,  $\text{R}^{4'}$ ,  $\text{R}^{5'}$ ,  $\text{R}^{11}$ ,  $\text{R}^{12}$ ,  $\text{R}^{13}$ , e  $\text{R}'$  são seleccionados independentemente do grupo que consiste em H, alquilo, arilo, heteroalquilo, heteroarilo, cicloalquilo, alquil-arilo, alquil-heteroarilo, aril-alquilo e heteroaralquilo;

Z é seleccionado de O, N, C(H) ou C(R);

W pode estar presente ou ausente, e se W está presente, W é seleccionado de C(=O), C(=S), C(=N-CN) ou S(O<sub>2</sub>);

Q pode estar presente ou ausente, e quando Q está presente, Q é C(H), N, P, (CH<sub>2</sub>)<sub>p</sub>, (CHR)<sub>p</sub>, (CRR')<sub>p</sub>, O, NR, S, ou SO<sub>2</sub>; e quando Q está ausente, M pode estar presente ou ausente; quando Q e M estão ausentes, A está directamente ligado a L;

A é O, CH<sub>2</sub>, (CHR)<sub>p</sub>, (CHR-CHR')<sub>p</sub>, (CRR')<sub>p</sub>, N(R), S, S(O<sub>2</sub>) ou uma ligação;

E é CH, N, CR, ou uma ligação dupla a A, L ou G;

G pode estar presente ou ausente, e quando G está presente, G é  $(CH_2)_P$ ,  $(CHR)_P$ , ou  $(CRR')_P$ ; e quando G está ausente, J está presente e E está directamente ligado ao átomo de carbono na Fórmula I ao qual está ligado G;

J pode estar presente ou ausente, e quando J está presente, J é  $(CH_2)_P$ ,  $(CHR)_P$ , ou  $(CRR')_P$ ,  $S(O_2)$ ,  $N(H)$ ,  $N(R)$  ou O; e quando J está ausente, G está presente e E está directamente ligado ao N ilustrado na Fórmula I que está ligado a J;

L pode estar presente ou ausente, e quando L está presente, L é C(H), C(R), O, S ou N(R); e quando L está ausente, então M pode estar presente ou ausente; e se M está presente com L estando ausente, então M está directamente e independentemente ligado a E, e J está directamente e independentemente ligado a E;

M pode estar presente ou ausente, e quando M está presente, M é O, NR, S,  $S(O_2)$ ,  $(CH_2)_P$ ,  $(CHR)_P$ ,  $(CHR-CHR')_P$ , ou  $(CRR')_P$ ;

p é um número de 0 a 6; e

R, R', R<sup>2</sup>, R<sup>3</sup> e R<sup>4</sup> podem ser iguais ou diferentes e são seleccionados independentemente do grupo que consiste em H; C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub> alquilo; C<sub>2</sub>-C<sub>10</sub> alcenilo; C<sub>3</sub>-C<sub>8</sub> cicloalquilo; C<sub>3</sub>-C<sub>8</sub>

heterocicloalquilo, alcoxi, ariloxi, alquiltio, ariltio, amino, amido, éster, ácido carboxílico, carbamato, ureia, cetona, aldeído, ciano, nitro, halogéneo; (cicloalquil)-alquilo e (heterocicloalquil)alquilo, em que o referido cicloalquilo é constituído por três a oito átomos de carbono, e zero a seis átomos de oxigénio, azoto, enxofre ou fósforo, e o referido alquilo tem um a seis átomos de carbono; arilo; heteroarilo; alquil-arilo; e alquil-heteroarilo;

em que as referidas unidades alquilo, heteroalquilo, alcenilo, heteroalcenilo, arilo, heteroarilo, cicloalquilo e heterocicloalquilo podem estar substituídas opcionalmente e de forma quimicamente adequada, com o referido termo "substituídas" a referir-se a substituição opcional e quimicamente adequada com uma ou mais unidades seleccionadas do grupo que consiste em alquilo, alcenilo, alcinilo, arilo, aralquilo, cicloalquilo, heterociclilo, halogéneo, hidroxilo, tio, alcoxi, ariloxi, alquiltio, ariltio, amino, amido, éster, ácido carboxílico, carbamato, ureia, cetona, aldeído, ciano, nitro, sulfonamido, sulfóxido, sulfona, sulfonilureia, hidrazida, e hidroxamato; e ainda em que a referida unidade N-C-G-E-L-J-N na Fórmula I representa ou uma estrutura em anel cíclica com cinco membros ou uma estrutura em anel cíclica com seis membros com a condição de que quando a referida unidade N-C-G-E-L-J-N representa uma estrutura em anel cíclica com cinco membros, ou quando a estrutura em anel bicíclica na Fórmula I compreendendo N, C, G, E, L, J, N, A, Q, e M representa

uma estrutura em anel cíclica com cinco membros, então a referida estrutura em anel cíclica com cinco membros não tem um grupo carbonilo como parte do anel cíclico.

Os compostos de Fórmula I, incluindo os compostos da invenção, podem ser preparados por várias técnicas conhecidas na especialidade. Procedimentos ilustrativos representativos estão apresentados nos esquemas reacionais seguintes. Entender-se-á que embora os seguintes esquemas ilustrativos seguintes descrevam a preparação de alguns compostos representativos da invenção, a substituição adequada de qualquer dos aminoácidos tanto naturais como não naturais vai resultar na formação dos compostos desejados com base nessa substituição. Essas variações estão contempladas como estando dentro do âmbito da invenção.

As abreviaturas que são utilizadas nas descrições dos esquemas, preparações e exemplos que se seguem são:

THF: Tetra-hidrofurano

DMF: *N,N*-Dimetilformamida

EtOAc: Acetato de etilo

AcOH: Ácido acético

HOObt: 3-Hidroxi-1,2,3-benzotriazin-4(3*H*)-ona

EDCl: Cloridrato de 1-(3-dimetilaminopropil)-3-etil-carbodiimida

NMM: *N*-Metilmorfolina

ADDP: 1,1'-(Azodicarbonil)dipiperidina

DEAD: Azodicarboxilato de dietilo

MeOH: Metanol

EtOH: Etanol

Et<sub>2</sub>O: Éter dietílico

DMSO: Sulfóxido de dimetilo

HOBt: N-Hidroxibenzotriazole

PyBrOP: Hexafluorofosfato de bromo-*tris*-pirrolidinofosfónio

DCM: Diclorometano

DCC: 1,3-Diciclo-hexilcarbodiimida

TEMPO: 2,2,6,6-Tetrametil-1-piperidiniloxi

Phg: Fenilglicina

Chg: Ciclo-hexilglicina

Bn: Benzilo

Bzl: Benzilo

Et: Etilo

Ph: Fenilo

iBoc: isobutoxicarbonilo

iPr: isopropilo

<sup>t</sup>Bu ou Bu<sup>t</sup>: *terc*-Butilo

Boc: *terc*-Butiloxicarbonilo

Cbz: Benziloxicarbonilo

Cp: Ciclopentildienilo

Ts: *p*-toluenossulfonilo

Me: Metilo

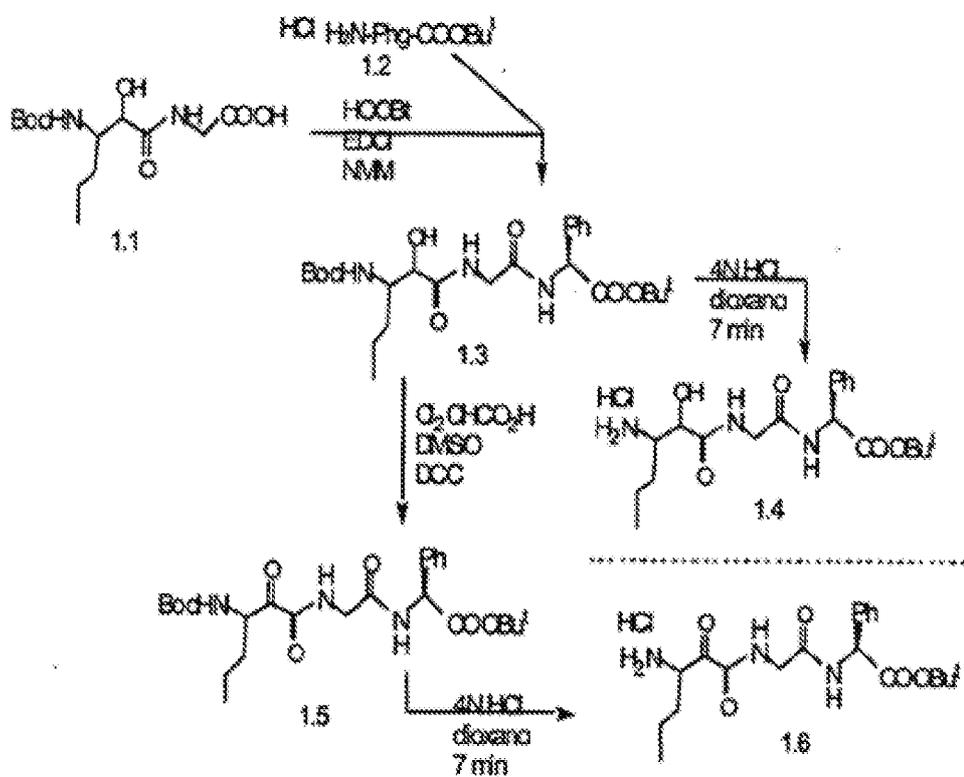
HATU: Hexafluorofosfato de O-(7-azabenzotriazol-1-il)-  
1,1,3,3-tetrametilurónio

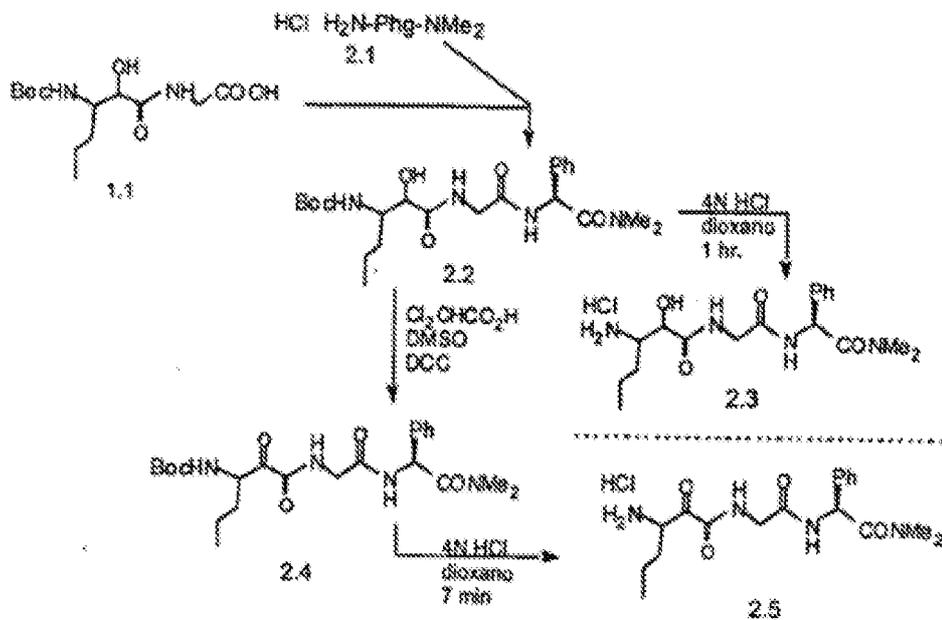
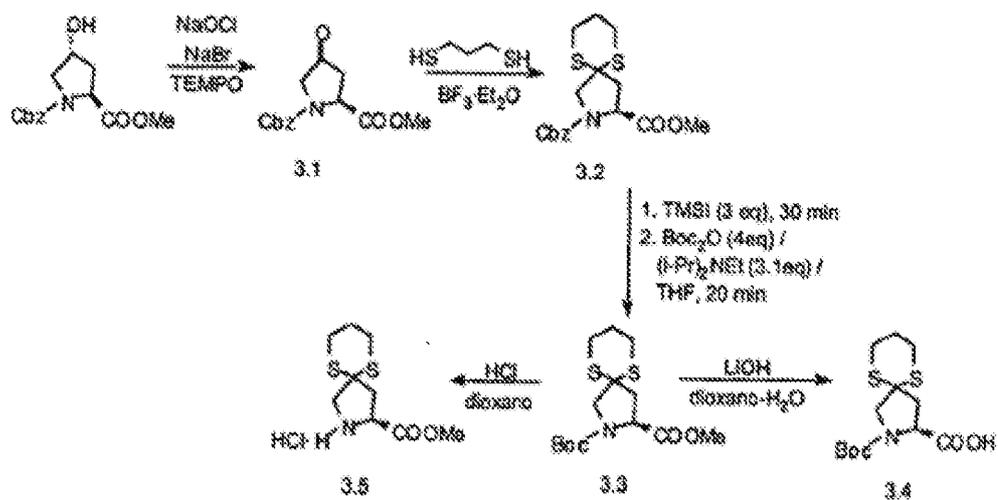
DMAP: 4-N,N-Dimetilaminopiridina

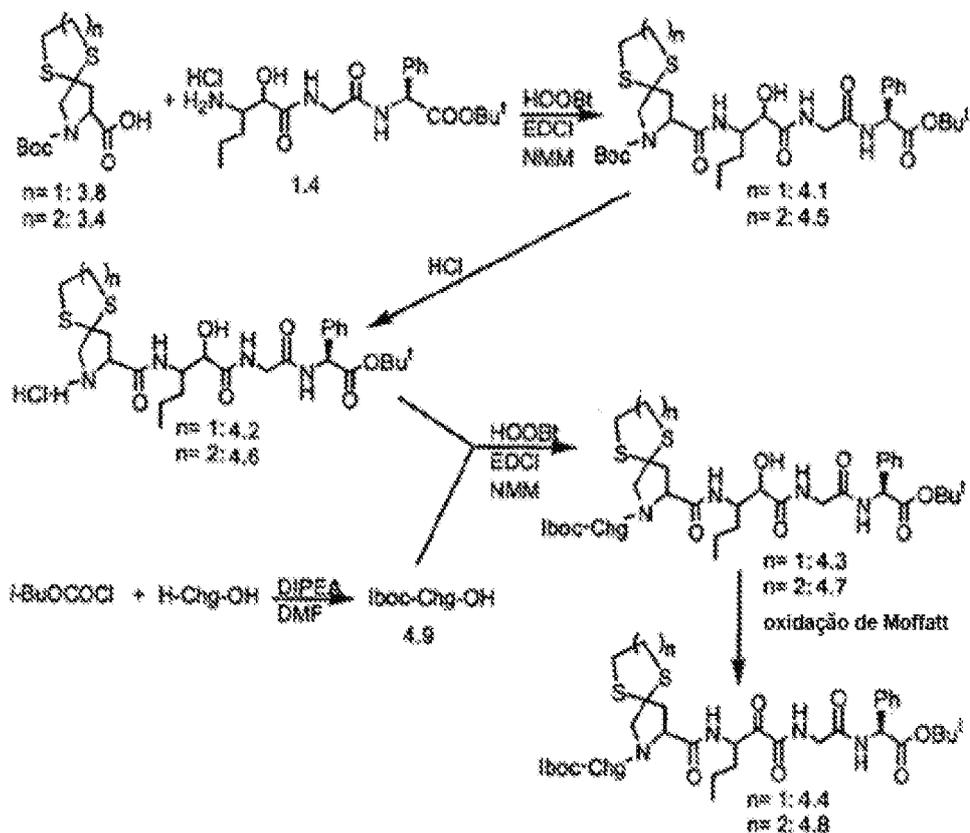
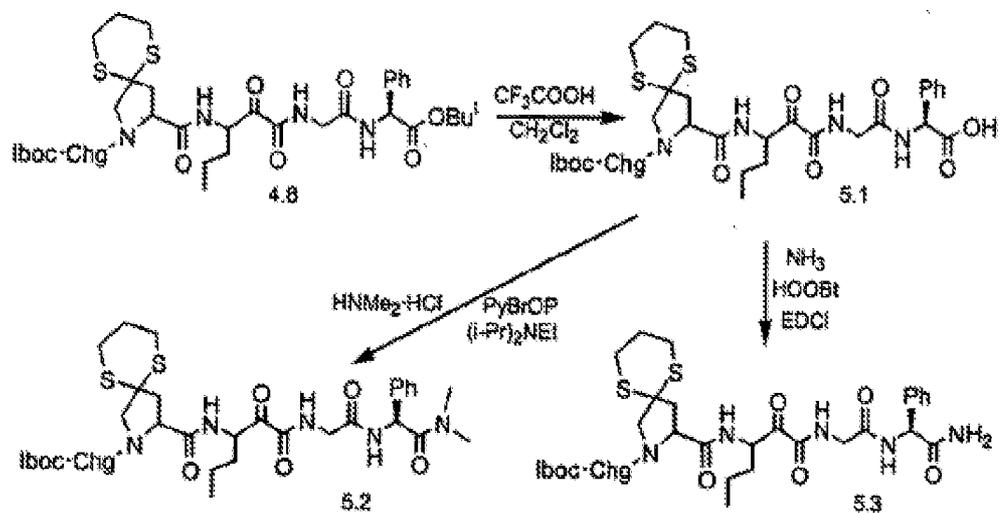
Bop: hexafluorofosfato de benzotriazol-1-il-oxi-*tris*-  
(dimetilamino)

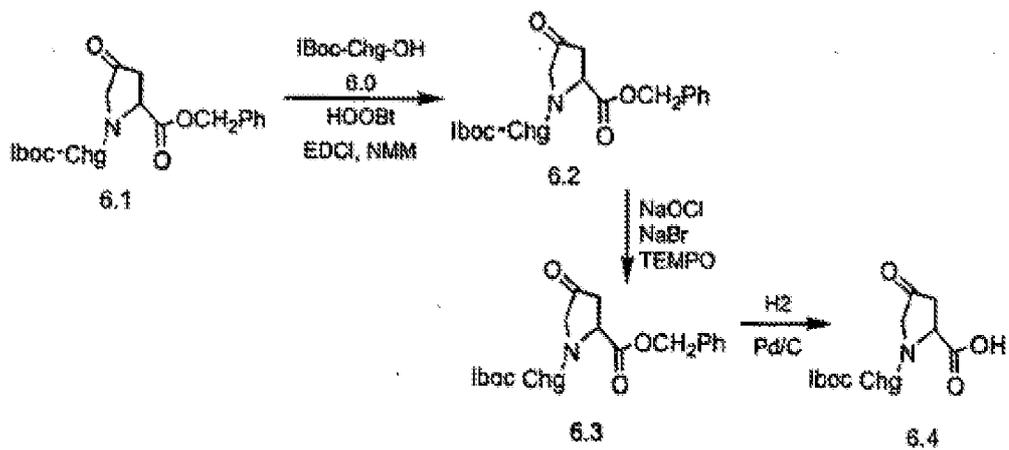
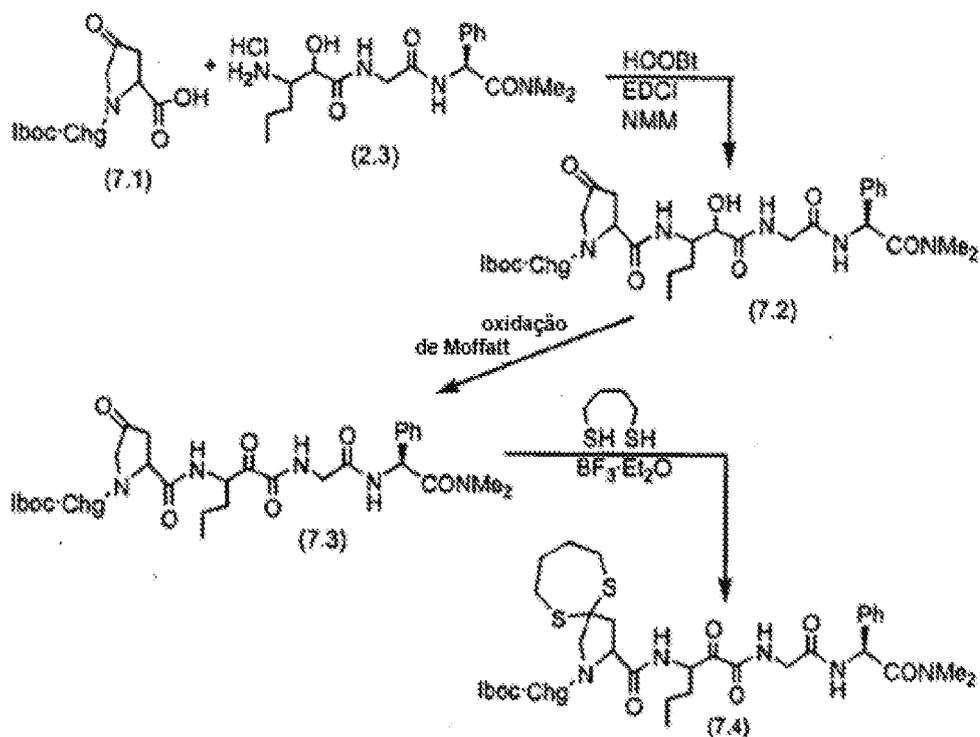
**Esquemas preparativos gerais:**

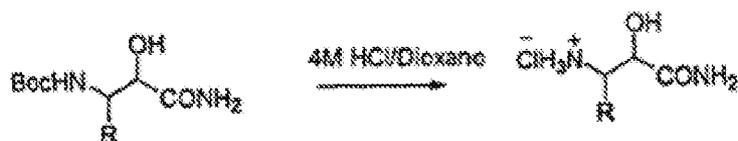
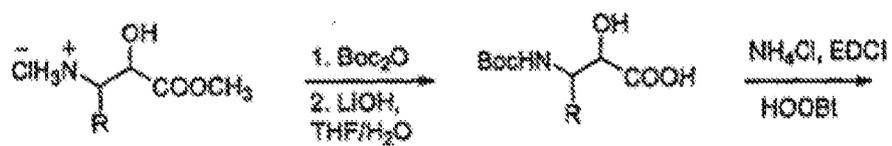
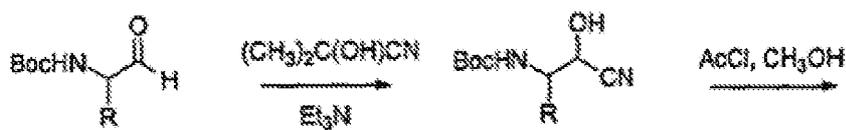
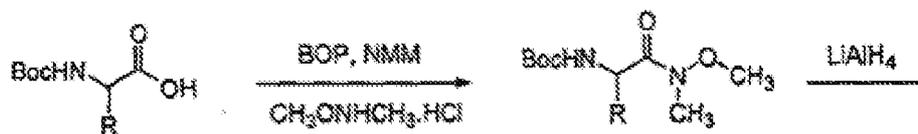
Os esquemas seguintes descrevem os métodos de síntese de blocos de construção intermédios:

**ESQUEMA 1**

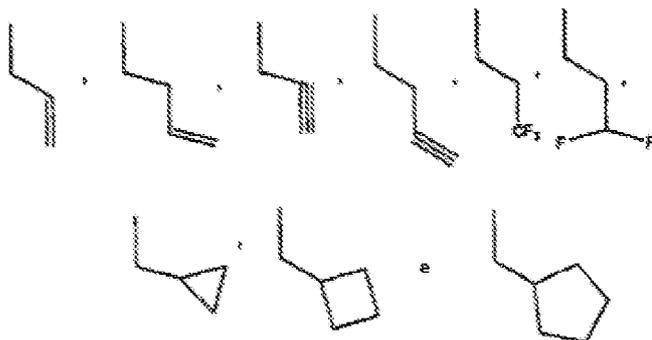
**ESQUEMA 2****ESQUEMA 3**

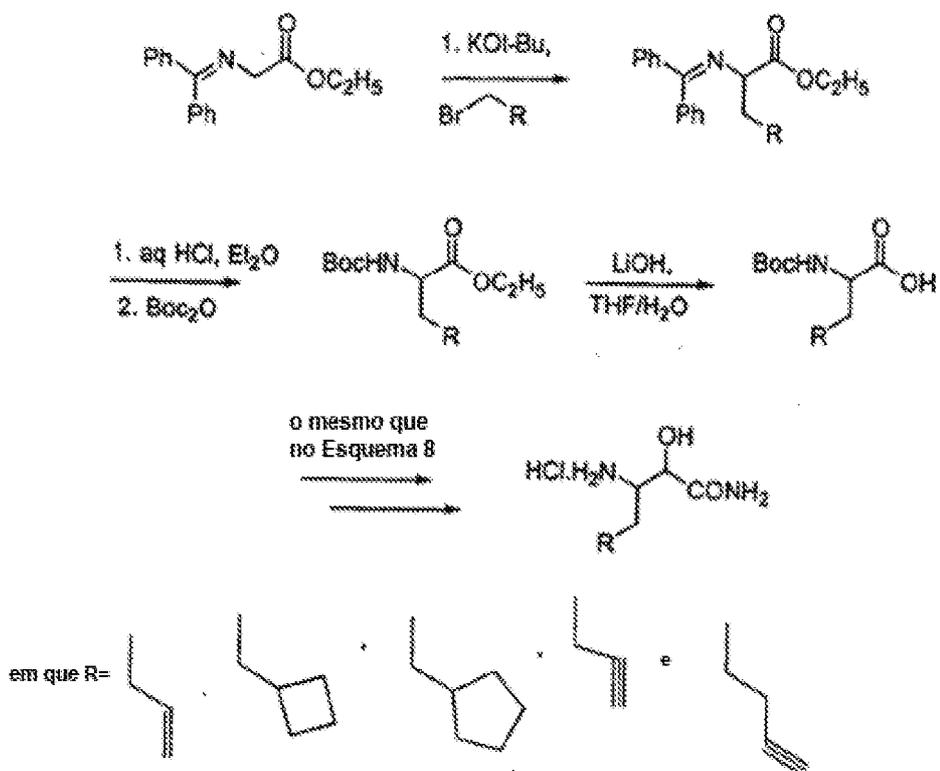
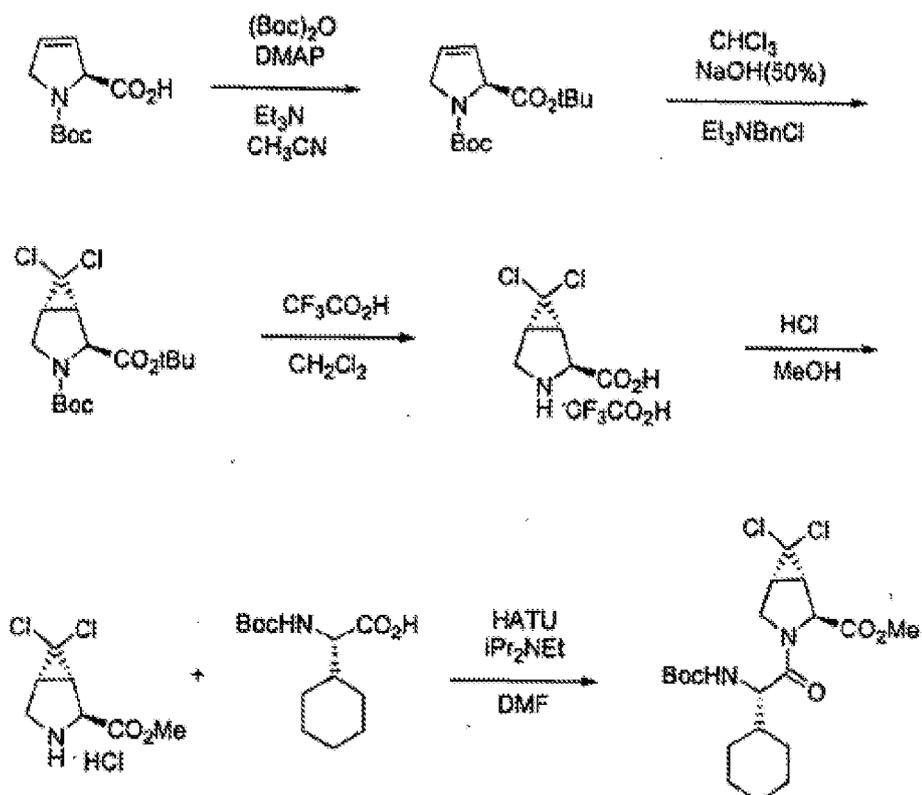
**ESQUEMA 4****ESQUEMA 5**

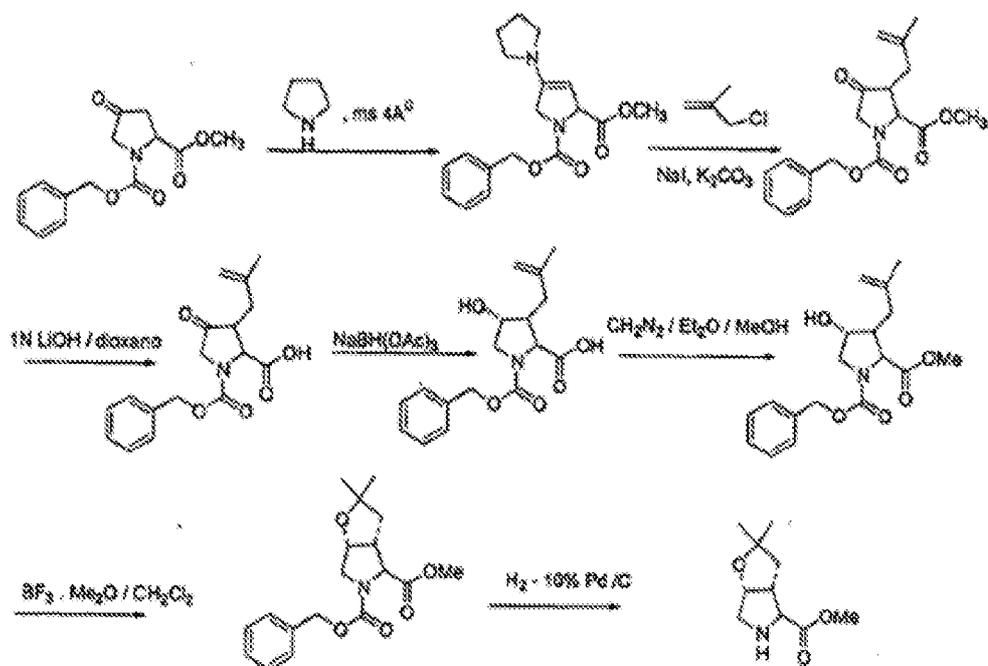
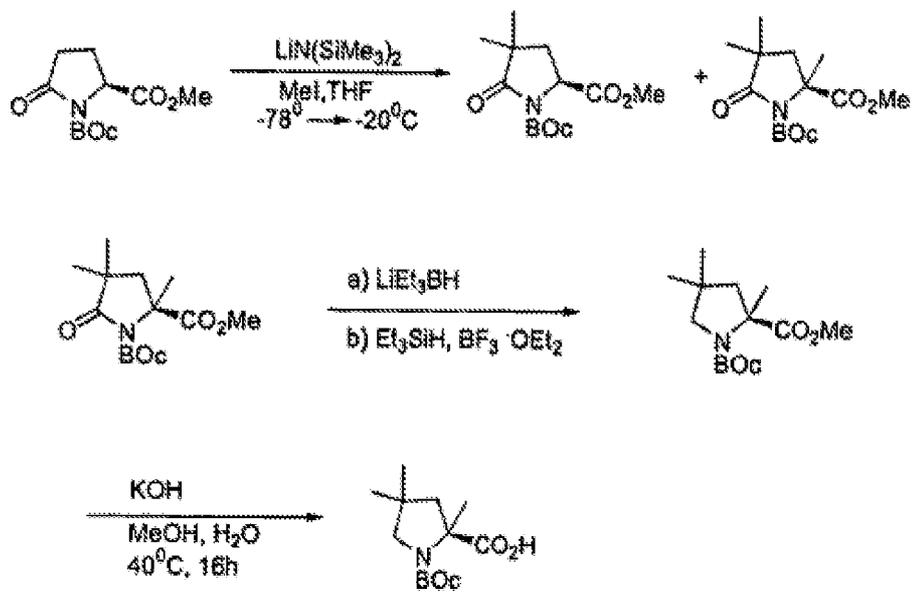
**ESQUEMA 6****ESQUEMA 7**

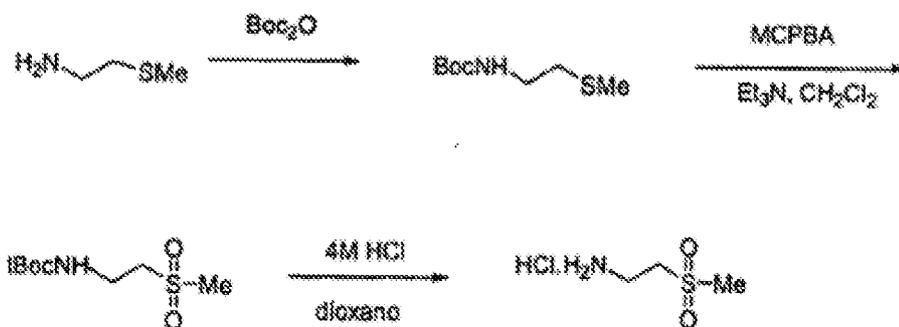
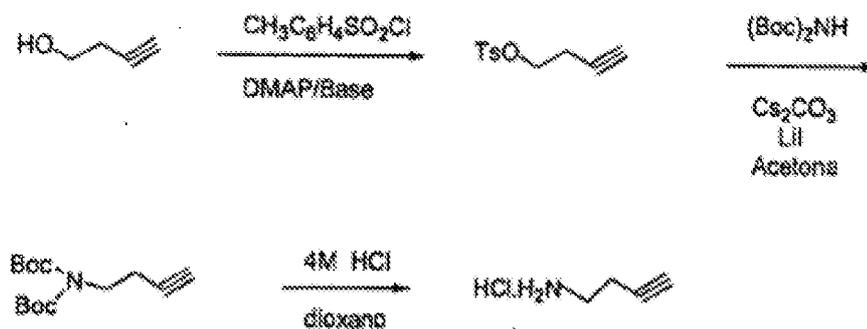
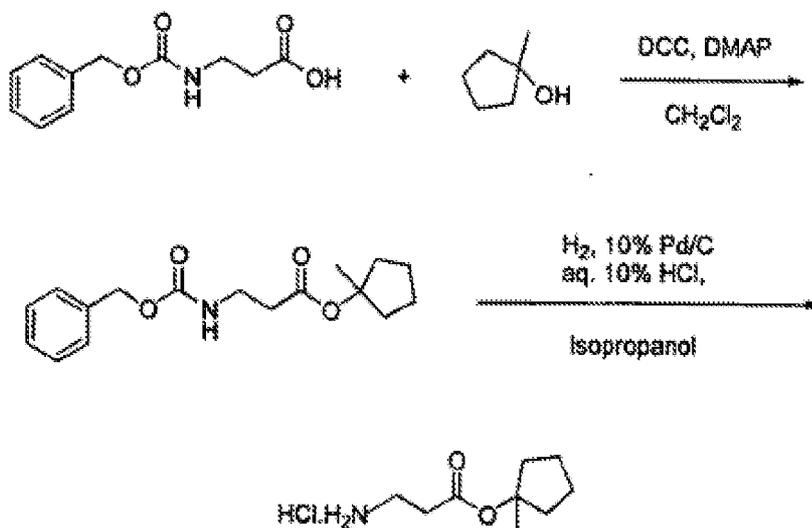
**ESQUEMA 8**

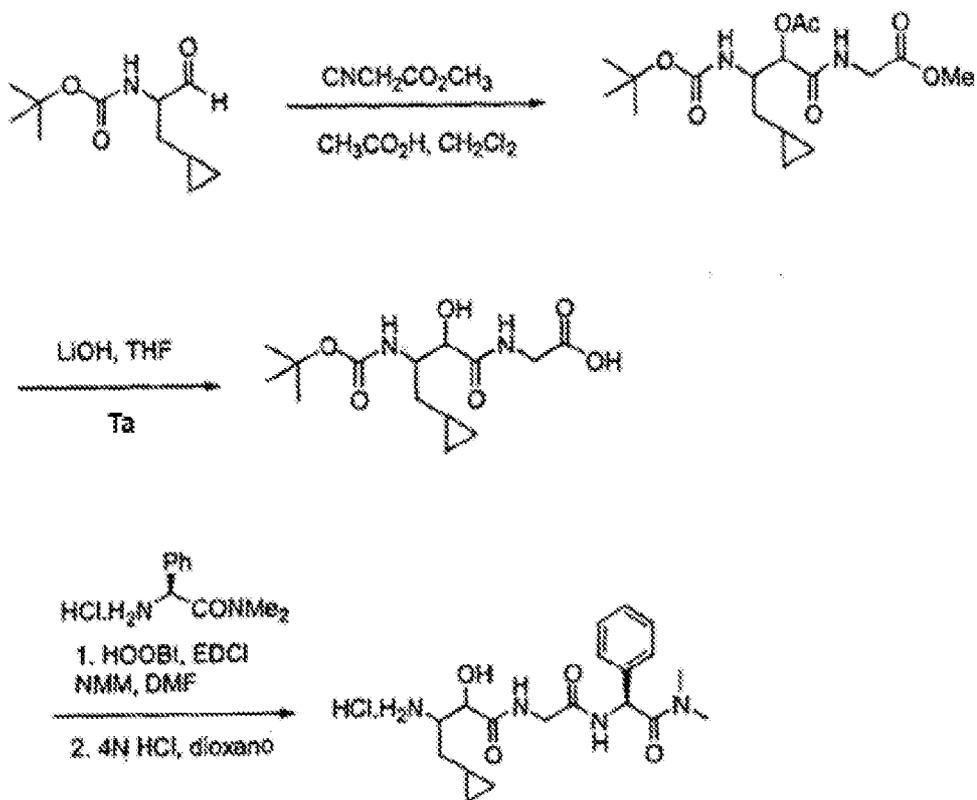
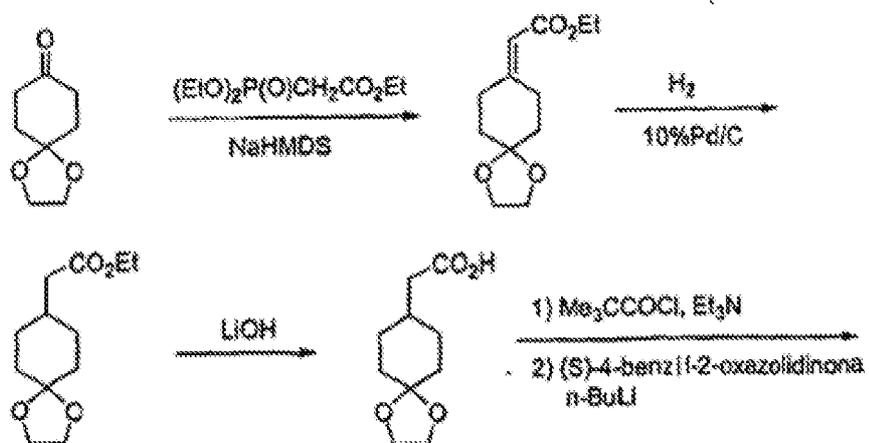
em que R=

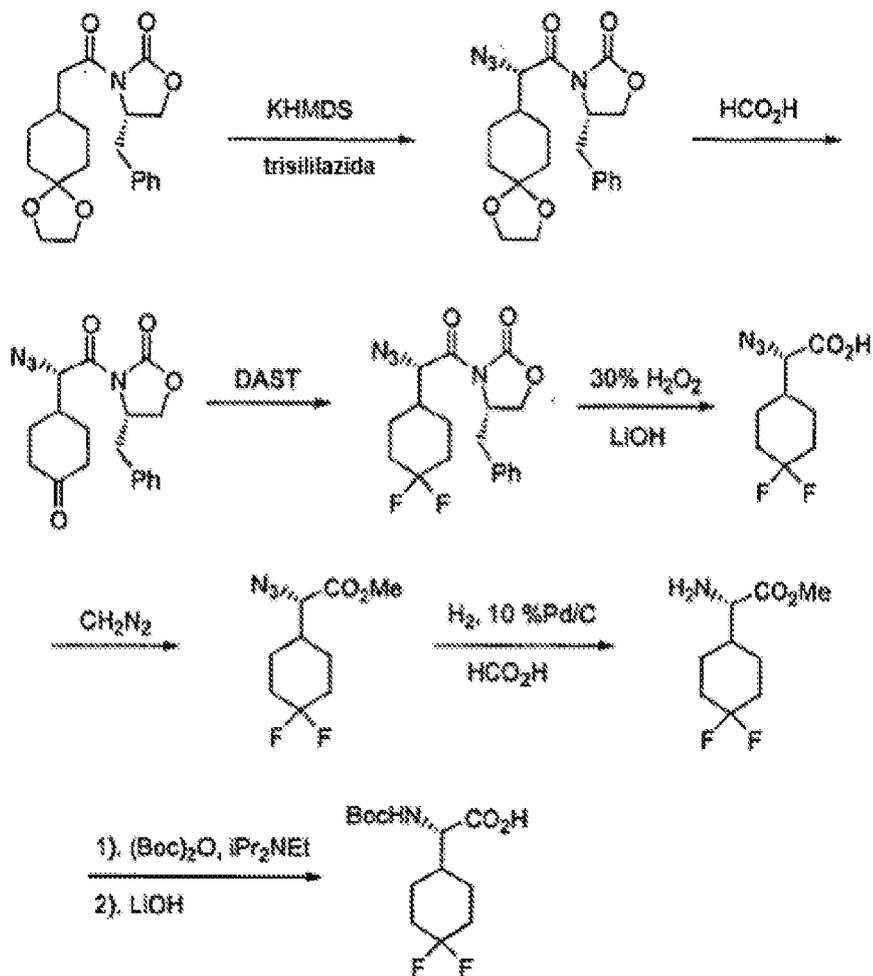


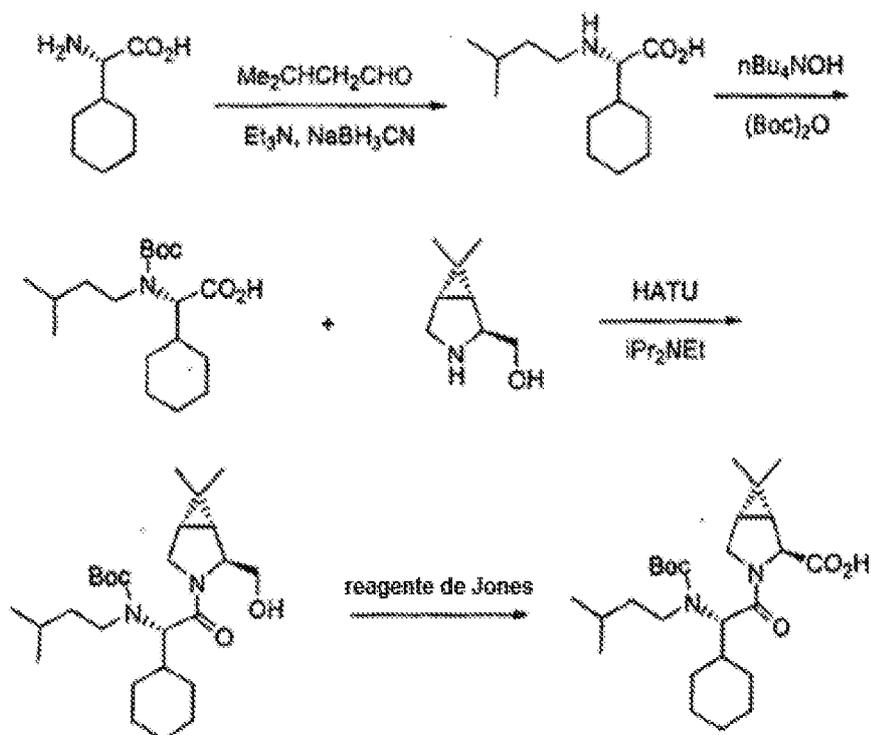
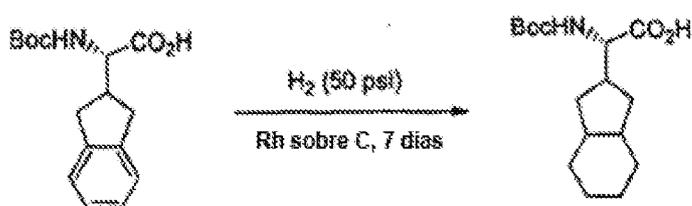
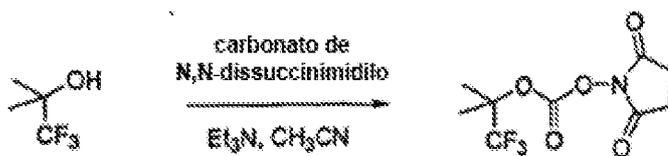
**ESQUEMA 9****ESQUEMA 10**

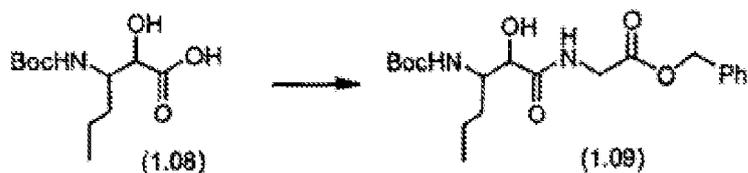
**ESQUEMA 11****ESQUEMA 12**

ESQUEMA 13ESQUEMA 14ESQUEMA 15

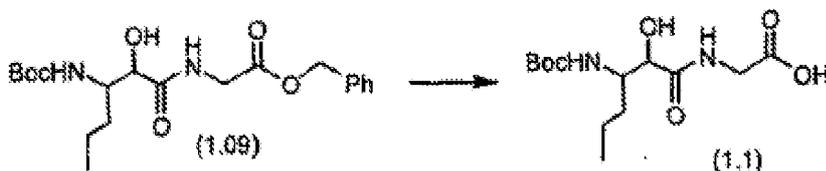
**ESQUEMA 16****ESQUEMA 17**



**ESQUEMA 18****ESQUEMA 19****ESQUEMA 20**

**Preparação de intermediários:****Exemplo preparativo 1**Passo A: Composto (1.1)

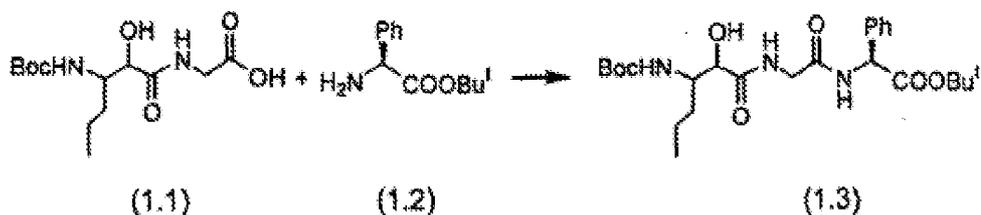
A uma solução com agitação do Composto (1.08) (3,00 g, 12,0 mmol (S. L. Harbeson *et al.*, *J. Med. Chem.* 37 No.18 (1994) 2918-2929) em DMF (15 mL) e CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (15 mL) a -20°C adicionou-se HOOBt (1,97 g, 12,0 mmol), N-metil morfolina (4,0 mL, 36,0 mmol) e EDCI (2,79 g, 14,5 mmol) e agitou-se durante 10 minutos, a que se seguiu a adição de HCl-H<sub>2</sub>N-Gly-OBn (2,56 g, 13,0 mmol). A solução resultante foi agitada a -20°C durante 2 horas, mantida refrigerada de um dia para o outro e depois concentrada até à secura, a que se seguiu diluição com EtOAc (150 mL). A solução de EtOAc foi então lavada duas vezes com NaHCO<sub>3</sub> saturado, H<sub>2</sub>O, H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> a 5%, solução aquosa saturada de cloreto de sódio, seca sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, filtrada e concentrada até à secura para dar o Composto (1.09) (4,5 g, 94%). LRMS m/z MH<sup>+</sup>= 395,1.

Passo B: Composto (1.1)

Uma solução de Composto (1.09) (7,00 g, 17,8 mmol) em etanol absoluto (300 mL) foi agitada à temperatura ambiente numa atmosfera de hidrogénio na presença de Pd sobre C (300 mg, 10%). A evolução da reacção foi monitorizada por TLC. Após 2 h, a mistura foi filtrada através de uma camada de Celite e a solução resultante foi concentrada em vácuo para dar Composto (1.1) (5,40 g, quantitativo). LRMS m/z  $MH^+$  = 305,1.

### Exemplo preparativo 2

#### Passo A Composto (1.3)



Uma mistura de Composto (1.1) do Exemplo preparativo 1, Passo B acima (1 eq.), Composto (1.2) (de Novabiochem, N° de catálogo 04-12-5147) (1,03 eq.), HOObt (1,03 eq.), N-metilmorfolina (2,2 eq.) e dimetilformamida (70 mL/g) foi agitada a  $-20^\circ\text{C}$ . Adicionou-se EDCl (1,04 eq.) e a reacção foi agitada durante 48 h. A mistura reaccional foi vertida em  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  aquoso a 5% e extraída com acetato de etilo (2x). Os extractos orgânicos combinados foram lavados com  $\text{K}_2\text{CO}_3$  aquoso a 5% frio, depois  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  aquoso a 5%, depois solução aquosa saturada de cloreto de sódio, e a camada orgânica foi seca sobre  $\text{MgSO}_4$  anidro. A mistura foi filtrada, depois evaporada e o filtrado seco em vácuo, o

resíduo foi triturado com Et<sub>2</sub>O-hexano, e filtrado para dar o composto em epígrafe (1.3) (86% de rendimento), C<sub>25</sub>H<sub>39</sub>N<sub>3</sub>O<sub>7</sub> (493,60), espectro de massa (FAB) M+1 = 494,3.

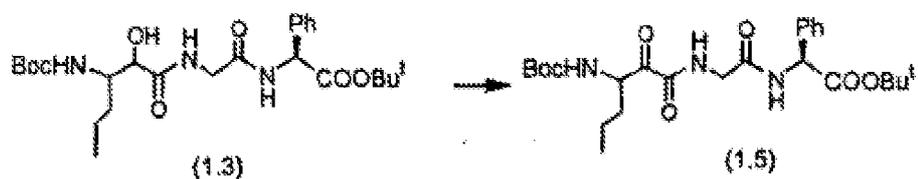
Passo B Composto (1.4)



O composto (1.3) do Exemplo preparativo 2, Passo A (3,0 g) foi tratado com HCl 4 N/dioxano (36 mL) e agitado à temperatura ambiente durante 7 min. A mistura foi vertida em 1,5 L de hexano frio (5°C) e agitada, depois deixada em repouso no frio durante 0,5 h. A mistura foi filtrada com sucção em atmosfera seca, e o sólido recolhido foi seco adicionalmente para dar o composto em epígrafe (1.4) (2,3 g, 88% de rendimento), C<sub>20</sub>H<sub>31</sub>N<sub>3</sub>O<sub>5</sub>.HCl, H<sup>1</sup> NMR (DMSO-d<sub>6</sub>/NaOD) δ 7,38 (m, 5H), 5,25 (m, 1H), 4,3-4,1 (m, 1H), 3,8 (m, 2H), 3,4-3,3 (m, obscurecido por D<sub>2</sub>O), 1,7-1,1 (m, 4H), 1,35 (s, 9H), 0,83 (m, 3H).

Exemplo preparativo 3

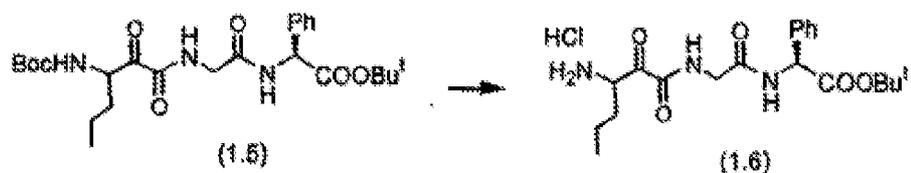
Composto (1.5)



O composto (1.3) do Exemplo preparativo 2, Passo A, foi tratado essencialmente da mesma maneira que no Exemplo preparativo 7, Passo A adiante para dar Composto (1.5).

#### Exemplo preparativo 4

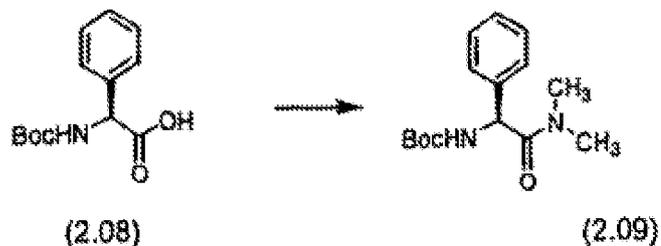
Composto (1.6)



O Composto (1.5) do Exemplo preparativo 3 foi tratado essencialmente da mesma maneira que no Exemplo preparativo 2, Passo B, para dar o Composto (1.6).

#### Exemplo preparativo 5

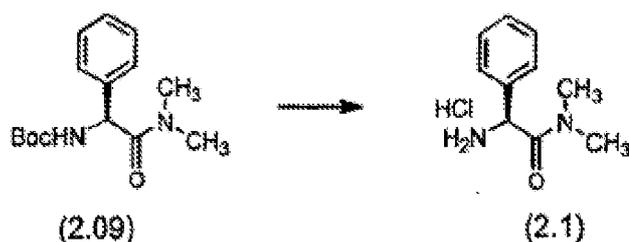
Passo A Composto (2.09)



A uma solução de cloridrato de dimetilamina (1,61 g, 19,7 mmol), *N*-Boc-fenilglicina, Composto (2.08) (4,50 g,

17,9 mmol, Bachem Co. # A-2225), HOOBt (3,07 g, 18,8 mmol) e EDCI (4,12 g, 21,5 mmol) em DMF anidra (200 mL) e CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (150 mL) a -20°C adicionou-se NMM (5,90 mL, 53,7 mmol). Depois de ter sido agitada a esta temperatura durante 30 min, a mistura reaccional foi mantida num congelador de um dia para o outro (18 h). Foi depois deixada aquecer até à t.a., e adicionou-se EtOAc (450 mL), solução aquosa saturada de cloreto de sódio (100 mL) e H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> a 5% (100 mL). Depois de as camadas terem sido separadas, a camada orgânica foi lavada com H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> a 5% (100 mL), solução aquosa saturada de bicarbonato de sódio (2 X 150 mL), água (150 mL), e solução aquosa saturada de cloreto de sódio (150 mL), seca (MgSO<sub>4</sub>), filtrada e concentrada em vácuo para dar Composto (2.09) (4,86 g) como um sólido branco, que foi utilizado sem purificação adicional.

Passo B Composto (2.1)



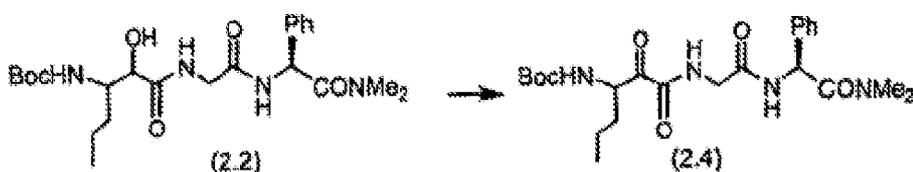
O Composto (2.09) do Exemplo preparativo 5, Passo A (4,70 g, em bruto) foi dissolvido em HCl 4 N (60 mL, 240 mmol) e a solução resultante foi agitada à temperatura ambiente. A evolução da reacção foi monitorizada por TLC. Após 4 h, a solução foi concentrada em vácuo para dar Composto (2.1) como um sólido branco que foi utilizado na



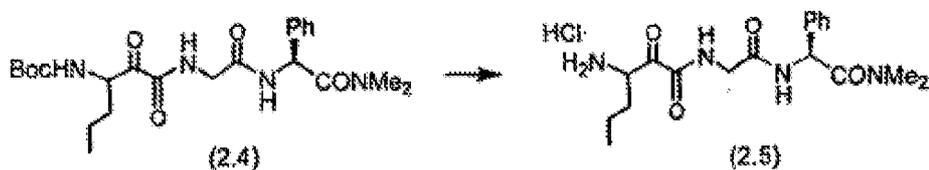
seca para dar Composto (2.3) (1,57 g, 98% de rendimento),  $C_{18}H_{28}N_4O_4 \cdot HCl$ , espectro de massa (FAB)  $M+1 = 365,3$

### Exemplo preparativo 7

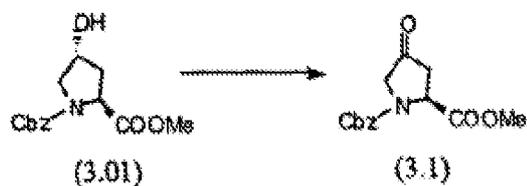
#### Passo A Composto (2.4)



Uma solução de Composto (2.2) do Exemplo preparativo 5, Passo A (2,0 g) em diclorometano (60 mL) foi tratada com sulfóxido de dimetilo (3,0 mL) e ácido 2,2-dicloroacético (0,70 mL). A mistura com agitação foi arrefecida a 5°C e depois adicionou-se solução 1 M de diciclo-hexilcarbodiimida/diclorometano (8,5 mL). O banho frio foi retirado e a mistura agitada durante 22 h. Em seguida adicionou-se 2-propanol (0,5 mL), e agitou-se durante mais 1 h. A mistura foi filtrada e depois lavada com NaOH 0,1 N gelado (50 mL), depois HCl 0,1 N gelado (50 mL), depois  $KH_2PO_4$  aquoso a 5%, depois solução aquosa saturada de cloreto de sódio. A solução orgânica foi seca sobre sulfato de magnésio anidro, e depois foi filtrada. O filtrado foi evaporado e cromatografado em gel de sílica, eluindo com acetato de etilo para dar Composto (2.3) (1,87 g, 94% de rendimento),  $C_{23}H_{34}N_4O_6$ , espectro de massa (FAB)  $M+1 = 463,3$ .

Passo B Composto (2.5)

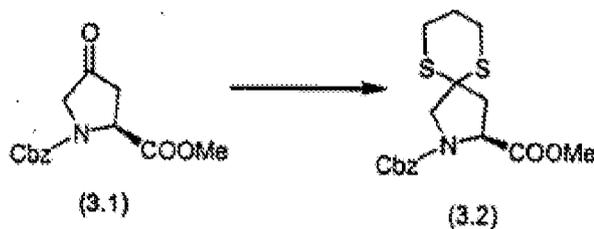
Essencialmente da mesma maneira que no Exemplo preparativo 2, Passo B, foi preparado o Composto (2.5).

Exemplo preparativo 8Passo A Composto (3.1)

Num balão combinou-se éster metílico de N-Cbz-hidroxiprolina (disponível de Bachem Biosciences, Incorporated, King of Prussia, Pennsylvania), composto (3.01) (3,0 g), tolueno (30 mL), e acetato de etilo (30 mL). A mistura foi agitada vigorosamente, e depois adicionou-se uma solução de NaBr/água (1,28 g/5 mL). A esta adicionou-se de radical livre 2,2,6,6-tetrametil-1-piperidiniloxi (TEMPO, 17 mg, de Aldrich Chemicals, Milwaukee, Wisconsin). A mistura com agitação foi arrefecida a 5°C e depois adicionou-se uma solução de oxidante preparada [lixívia disponível comercialmente,

Clorox(®) (18 mL), NaHCO<sub>3</sub> (2,75 g) e água para perfazer 40 mL] gota a gota durante 0,5 h. A esta adicionou-se 2-propanol (0,2 mL). A camada orgânica foi separada e a camada aquosa foi extraída com acetato de etilo. Os extractos orgânicos foram combinados, lavados com tiosulfato de sódio a 2%, e depois com solução aquosa saturada de cloreto de sódio. A solução orgânica foi seca sobre MgSO<sub>4</sub> anidro, filtrada, e o filtrado evaporado em vácuo para dar uma goma amarela pálida adequada para as reacções subsequentes (2,9 g, 97% de rendimento), C<sub>14</sub>H<sub>15</sub>NO<sub>5</sub> (277,28), espectro de massa (FAB) M+1 = 278,1.

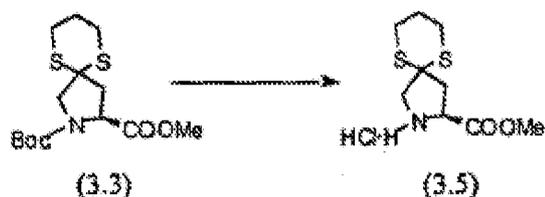
Passo B Composto (3.2).



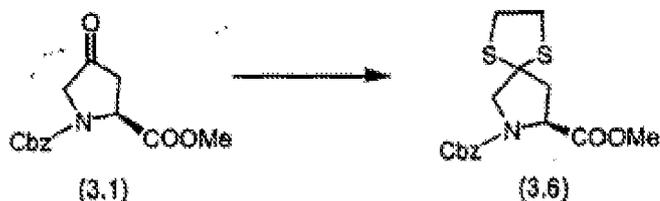
O Composto (3.1) do Passo A acima (7,8 g) foi dissolvido em diclorometano (100 mL), e arrefecido a 15°C. A esta mistura adicionou-se primeiro 1,3-propanoditiol (3,1 mL), seguido por eterato de trifluoreto de boro destilado de fresco (3,7 mL). A mistura foi agitada à temperatura ambiente durante 18 h. Enquanto se agitava vigorosamente, adicionou-se cuidadosamente uma solução de K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>/água (2 g/30 mL), seguida por NaHCO<sub>3</sub> saturado (10 mL). A camada orgânica foi separada da camada aquosa (pH ~7,4), lavada





Passo E Composto (3.5).

A uma solução de composto (3.3) do Passo C acima (1 g) em dioxano (5 mL), adicionou-se solução de HCl 4 N em dioxano (50 mL). A mistura foi agitada vigorosamente durante 1 h. A mistura foi evaporada em vácuo num banho de água a 25°C. O resíduo foi triturado com Et<sub>2</sub>O e filtrado para dar o composto em epígrafe (0,76 g, 93% de rendimento), C<sub>9</sub>H<sub>15</sub>NO<sub>2</sub>S<sub>2</sub>.HCl (269,81), espectro de massa (FAB) M+1 = 234,0.

Exemplo preparativo 9Passo A Composto (3.6)

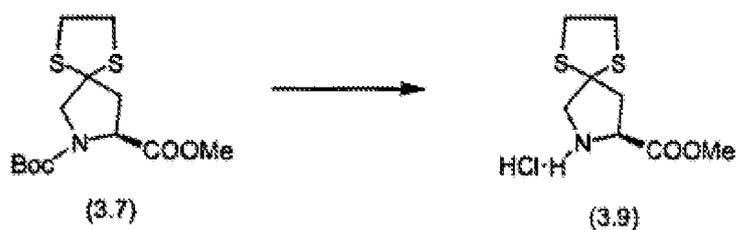
Seguindo essencialmente o mesmo procedimento do Exemplo preparativo 8, Passo B, substituindo propano ditiol por etano ditiol, obteve-se o composto (3.6).

Passo B Composto (3.7).

Seguindo essencialmente o mesmo procedimento do Exemplo preparativo 8, Passo C, substituindo o composto (3.2) pelo composto (3.6), obteve-se o produto composto (3.7).

Passo C Composto (3.8)

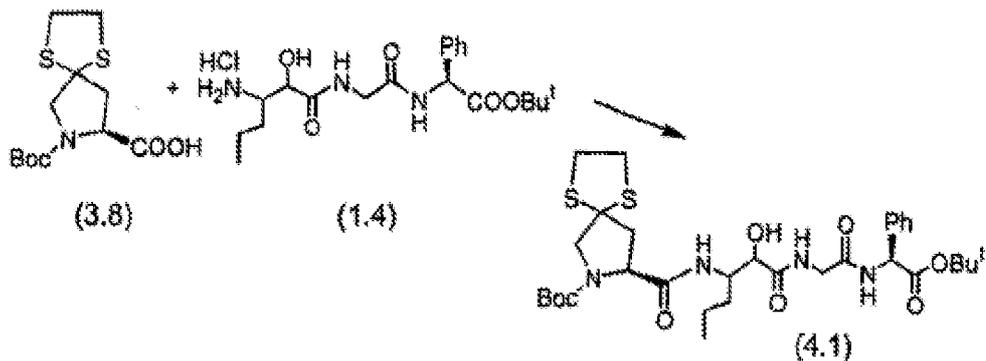
Seguindo essencialmente o mesmo procedimento do Exemplo preparativo 8, Passo D, substituindo o composto (3.3) pelo composto (3.7) obteve-se o produto composto (3.8).

Passo D Composto (3.9)

Seguindo essencialmente o mesmo procedimento do Exemplo preparativo 8, Passo E, substituindo o composto (3.3) pelo composto (3.7) obteve-se o produto composto (3.9).

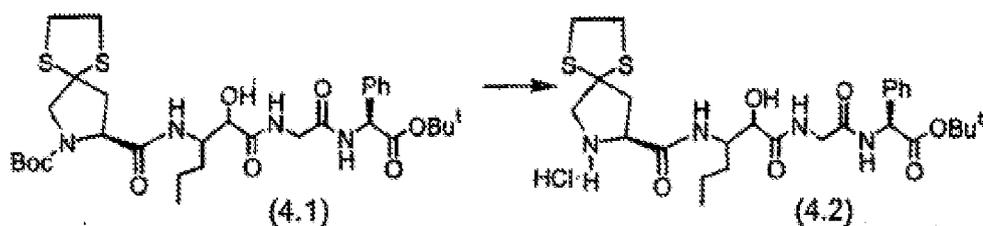
### Exemplo preparativo 10

#### Passo A Composto (4.1)



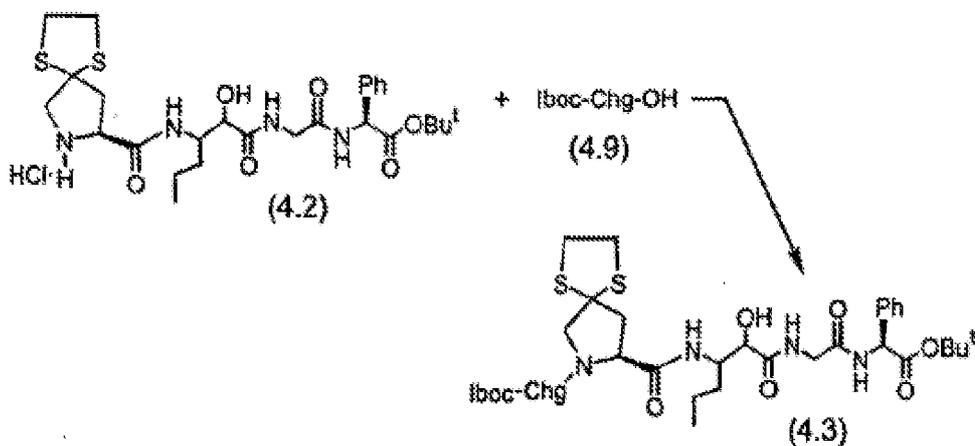
Essencialmente da mesma maneira que no Exemplo preparativo 2, Passo A, foi preparado o Composto (4.1)  $C_{33}H_{48}N_4O_9S_2$  (708,89).

#### Passo B Composto (4.2)



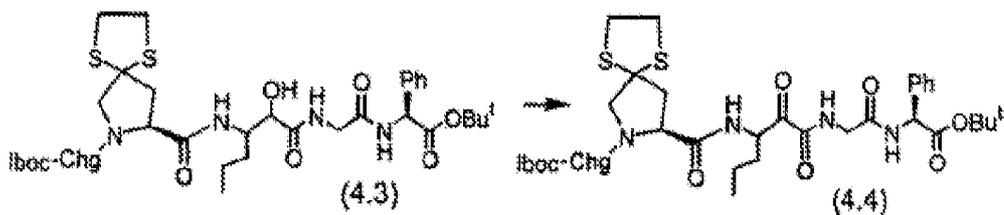
Essencialmente da mesma maneira que no Exemplo preparativo 2, Passo B, foi preparado o Composto (4.2) espectro de massa (FAB)  $M+1 = 609,3$ .

Passo C Composto (4.3)

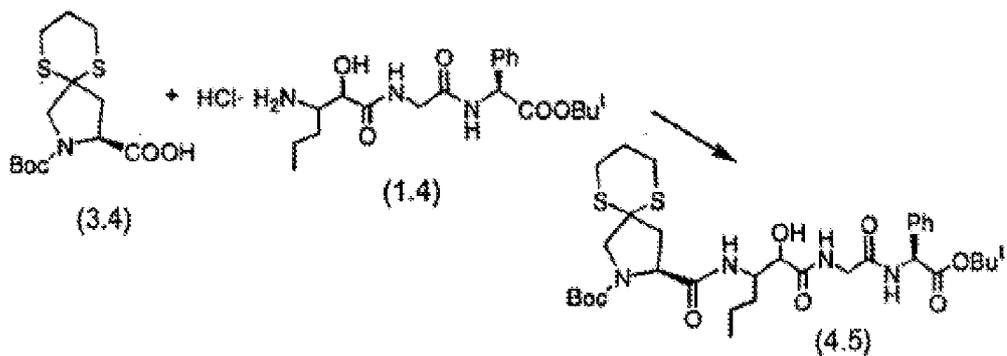


Essencialmente da mesma maneira que no Exemplo preparativo 2, Passo A, foi preparado o Composto (4.3),  $C_{41}H_{61}N_5O_{10}S_2$  (708,89), espectro de massa (FAB)  $M+1 = 709,3$ .

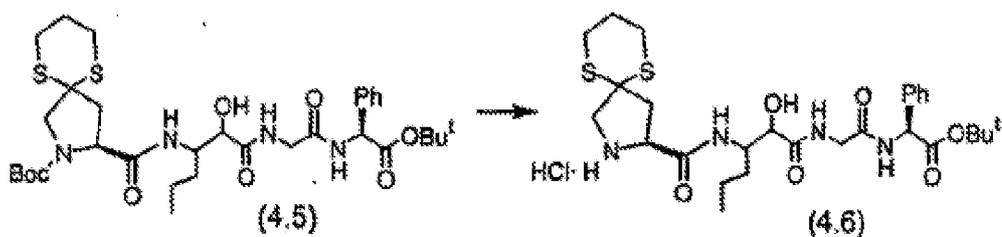
Passo D Composto (4.4)



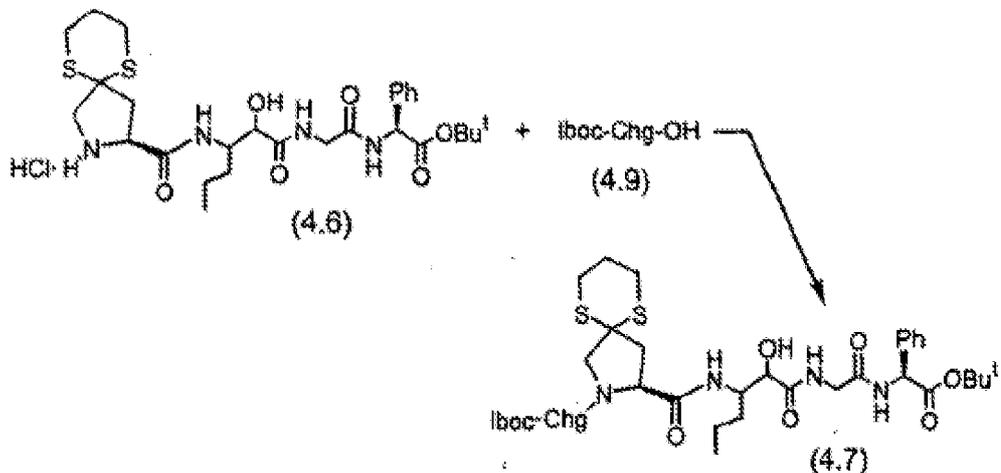
Essencialmente da mesma maneira que no Exemplo preparativo 7, Passo A, foi preparado o Composto (4.4).

**Exemplo preparativo 11**Passo A Composto (4.5)

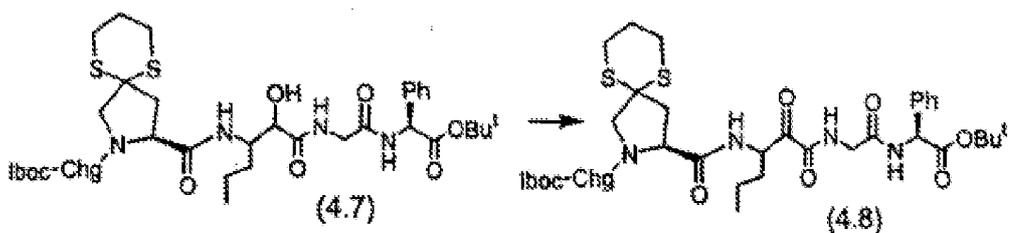
Essencialmente da mesma maneira que no Exemplo preparativo 2, Passo A, foi preparado o Composto (4.5).

Passo B. Composto (4.6)

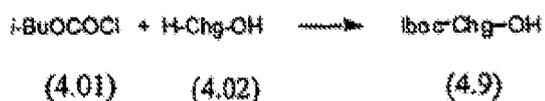
Essencialmente da mesma maneira que no Exemplo preparativo 2, Passo B, foi preparado o Composto (4.6).

Passo C, Composto (4.7)

Fez-se reagir o Composto (4.9) do Exemplo preparativo 12, com o Composto (4.6) do Passo B acima, essencialmente da mesma maneira que no Exemplo preparativo 2, Passo A, para dar o Composto (4.7).

Passo D, Composto (4.8)

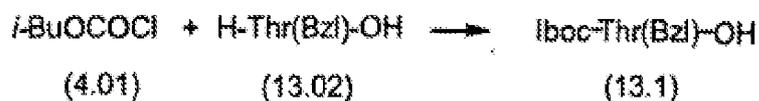
Essencialmente da mesma maneira que no Exemplo preparativo 7, Passo A, foi preparado o Composto (4.8).

Exemplo preparativo 12Composto (4.9)

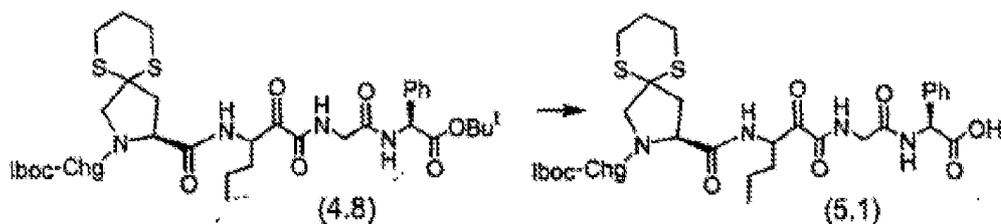
Uma solução de L-ciclo-hexilglicina (4.02) (1,0 eq.), dimetilformamida (20 mL/g) e diisopropiletilamina (1,1 eq.) a 5°C é tratada com cloroformato de isobutilo (4,01) (1,1 eq.). O banho de arrefecimento é retirado e é agitada durante 6 h. A mistura reaccional é vertida em KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> aquoso a 5% e extraída com acetato de etilo (2x). Os extractos orgânicos combinados são lavados com K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> aquoso a 5% frio, depois KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> aquoso a 5%, depois solução aquosa saturada de cloreto de sódio, e os extractos orgânicos são secos sobre MgSO<sub>4</sub> anidro. A mistura é filtrada, o filtrado é evaporado em vácuo, o resíduo cromatografado se necessário ou então o resíduo é triturado com Et<sub>2</sub>O-hexano, e filtrado para dar o composto em epígrafe (4.9), C<sub>13</sub>H<sub>23</sub>NO<sub>4</sub> (257,33).

### Exemplo preparativo 13

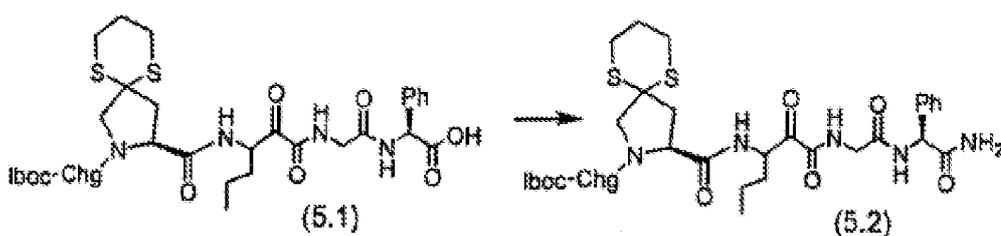
Composto (13.1)



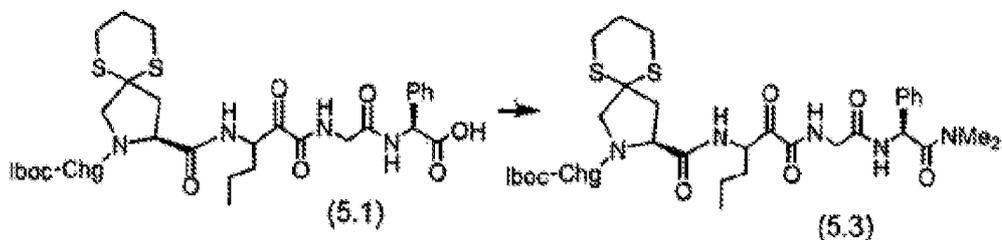
Essencialmente da mesma maneira que no Exemplo preparativo 12, substituindo L-ciclo-hexilglicina (4.02) por L-O-benziltreonina (13.02) (Wang et al., *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1*, (1997) N°5, 621-624) é preparado o Composto (13.1) C<sub>16</sub>H<sub>23</sub>NO<sub>5</sub> (309,36), espectro de massa (FAB) M+1 = 310,2.

**Exemplo preparativo 14**

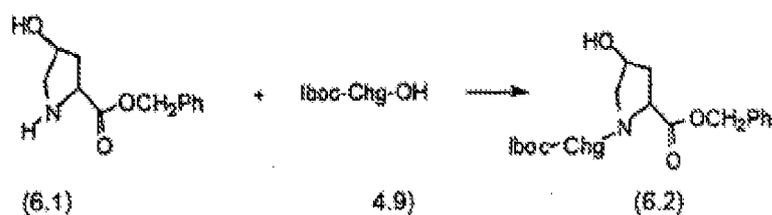
Fez-se reagir o Composto (4.8) do Exemplo preparativo 11, Passo D (1,0 g) com uma solução de ácido tricloroacético-diclorometano anidro (1:1, 50 mL) durante 2 h. A solução foi diluída com xileno (100 mL) e evaporada em vácuo. O resíduo foi triturado com Et<sub>2</sub>O, e filtrado para dar o composto em epígrafe (5.1) (0,9 g), C<sub>37</sub>H<sub>53</sub>N<sub>5</sub>O<sub>9</sub>S<sub>2</sub> (775,98), espectro de massa (FAB) M+1 = 776,5.

**Passo B Composto (5.2)**

Essencialmente da mesma maneira que no Exemplo preparativo 2, Passo A, fez-se reagir o Composto (5.1) com amoníaco (solução 0,5 M em 1,4-dioxano), para obter o composto em epígrafe (5.2) C<sub>37</sub>H<sub>54</sub>N<sub>6</sub>O<sub>8</sub>S<sub>2</sub> (774,99), espectro de massa (FAB) M+1 = 775,4.

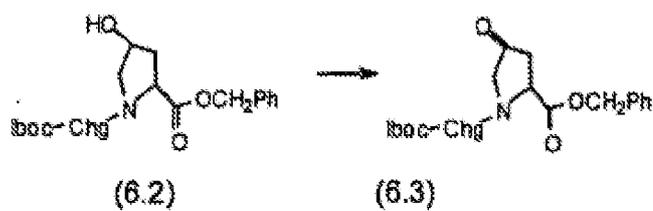
**Exemplo preparativo 15**

Uma mistura de Composto (5.1) do Exemplo preparativo 14, Passo A (0,15 g), N,N-dimetilamina (0,12 mL de solução 2 M em THF), dimetilformamida (10 mL), e reagente de condensação PyBrOP (0,11 g) foi arrefecida a 5°C, depois adicionou-se diisopropiletilamina (DIEA ou DIPEA, 0,12 mL). A mistura foi agitada no frio durante 1 min, depois agitada à temperatura ambiente durante 6 h. A mistura reaccional foi vertida em H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> aquoso a 5% frio (50 mL) e extraída com acetato de etilo (2x). Os extractos orgânicos combinados foram lavados com K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> aquoso a 5% frio, depois KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> aquoso a 5%, depois solução aquosa saturada de cloreto de sódio. A solução orgânica foi seca sobre MgSO<sub>4</sub> anidro, filtrada e evaporada em vácuo. O resíduo foi cromatografado em gel de sílica, eluindo com MeOH-CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> para dar o composto em epígrafe (5.3), C<sub>39</sub>H<sub>58</sub>N<sub>6</sub>O<sub>8</sub>S<sub>2</sub> (803,05), espectro de massa (FAB) M+1 = 803,5.

**Exemplo preparativo 16****Passo A Composto (6.2)**

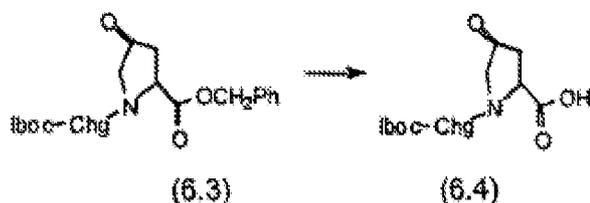
Essencialmente da mesma maneira que no Exemplo preparativo 2, Passo A, fez-se reagir o Composto (6.1) cloridrato do éster benzílico de hidroxiprolina com o Composto (4.9) do Exemplo preparativo 12, para obter o composto em epígrafe (6.2),  $C_{25}H_{36}N_2O_6$ , espectro de massa (FAB)  $M+1 = 461,2$ .

Passo B Composto (6.3)



Essencialmente da mesma maneira que no Exemplo preparativo 8, foi preparado o Composto (6.3),  $C_{25}H_{34}N_2O_6$  (458,55), espectro de massa (FAB)  $M+1 = 459,2$ .

Passo C Composto (6.4)

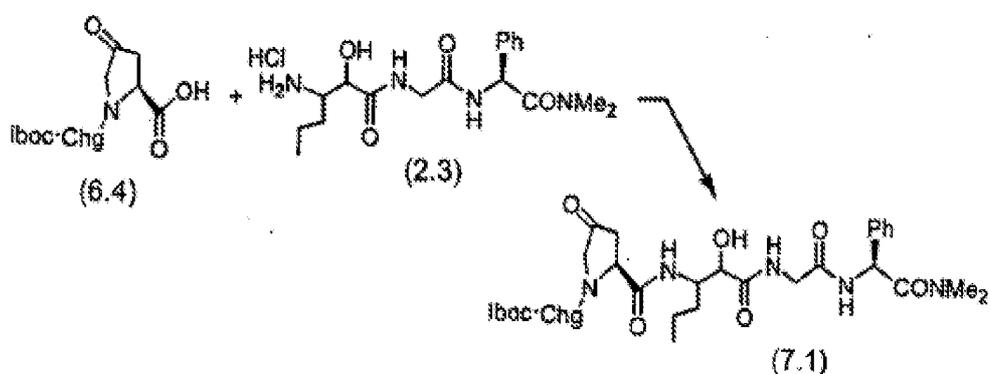


Uma mistura de Composto (6.3) do Passo B (1 g), Pd a 10% sobre C (0,05 g) e EtOH (100 mL) foi agitada sob 1 atm de  $H_2$  durante 6 h. A mistura foi filtrada, e evaporada até à secura em vácuo para dar o composto em epígrafe (6.4)

(0.77 g),  $C_{18}H_{28}N_2O_6$  (368,42) espectro de massa (FAB)  $M+1 = 369,2$ .

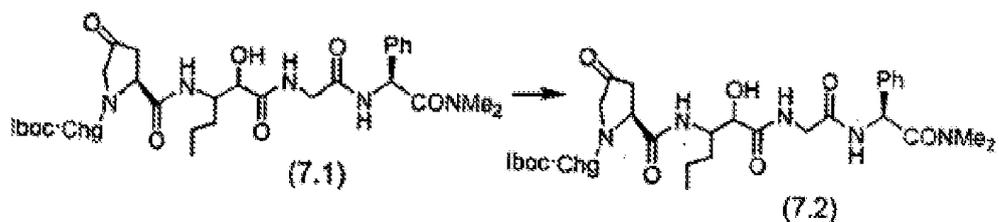
### Exemplo preparativo 17

#### Passo A Composto (7.1)



Fez-se reagir o Composto (6.4) do Exemplo preparativo 16, Passo C, com o Composto (2.3) do Exemplo preparativo 6, Passo B, essencialmente da mesma maneira que no Exemplo preparativo 2, Passo A, para dar o Composto (7.1),  $C_{36}H_{54}N_6O_9$  (714,85), espectro de massa (FAB)  $M+1 = 715,9$ .

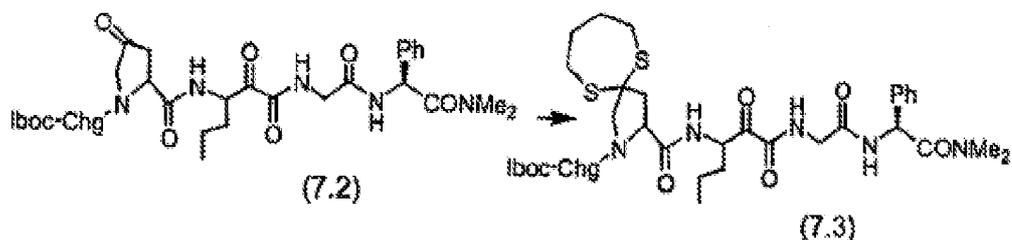
#### Passo B Composto (7.2)



Fez-se reagir o Composto (7.1) essencialmente da

mesma maneira que no Exemplo preparativo 7, Passo A, para dar o Composto (7.2),  $C_{36}H_{52}N_6O_9$  (712,83), espectro de massa (FAB)  $M+1 = 713,5$ .

Passo C Composto (7.3)



Fez-se reagir o Composto (7.2) do Passo B acima, essencialmente da mesma maneira que no Exemplo preparativo 8, Passo B, com 1,4-butanoditiol, para obter o composto em epígrafe (7.3),  $C_{40}H_{60}N_6O_8S_2$  (817,07), espectro de massa (FAB)  $M+1 = 817,5$ .

Utilizando os procedimentos referidos acima e aqui descritos, foram preparados os compostos das Tabelas 2 a 6 anexas. Como uma nota geral para todas as Tabelas (de 1 a 6) que estão anexadas bem como os Exemplos e Esquemas desta especificação, qualquer átomo de azoto em aberto com valência não preenchida nas estruturas químicas e nos Exemplos e Tabelas refere-se a NH, ou no caso de um azoto terminal,  $-NH_2$ . Analogamente, qualquer átomo de oxigênio em aberto com valência não preenchida nas estruturas químicas e nos Exemplos e Tabelas refere-se a  $-OH$  e qualquer átomo de carbono em aberto com valência não preenchida é apropriadamente preenchido com  $-H$ .

**Síntese em fase sólida:****Procedimento geral para reacções de condensação em fase sólida.**

A síntese foi feita numa reactor que foi construído a partir de um cartucho de seringa em polipropileno equipado com uma frita de polipropileno no fundo. Os aminoácidos protegidos com Fmoc foram condensados por técnicas em fase sólida correntes. Cada reactor foi carregado com 100 mg de resina FmocSieber de partida (aproximadamente 0,03 mmol). A resina foi lavada com porções de 2 mL de DMF (2 vezes). O grupo protector Fmoc foi removido por tratamento com 2 mL de uma solução a 20% v/v de piperidina em DMF durante 20 min. A resina foi lavada com porções de 2 mL de DMF (4 vezes). A condensação foi feita em DMF (2 mL), utilizando 0,1 mmol de Fmoc-aminoácido, 0,1 mmol de HATU [hexafluorofosfato de O-(7-azabenzotriazol-1-il)-1,1,3,3-tetrametilurónio] e 0,2 mmol de DIPEA (N,N-diisopropiletilamina). Após agitação durante 2 h, o reactor foi escorrido e a resina foi lavada com porções de 2 mL de DMF (4 vezes). O ciclo de condensação foi repetido com o Fmoc-aminoácido seguinte ou grupo capsulador.

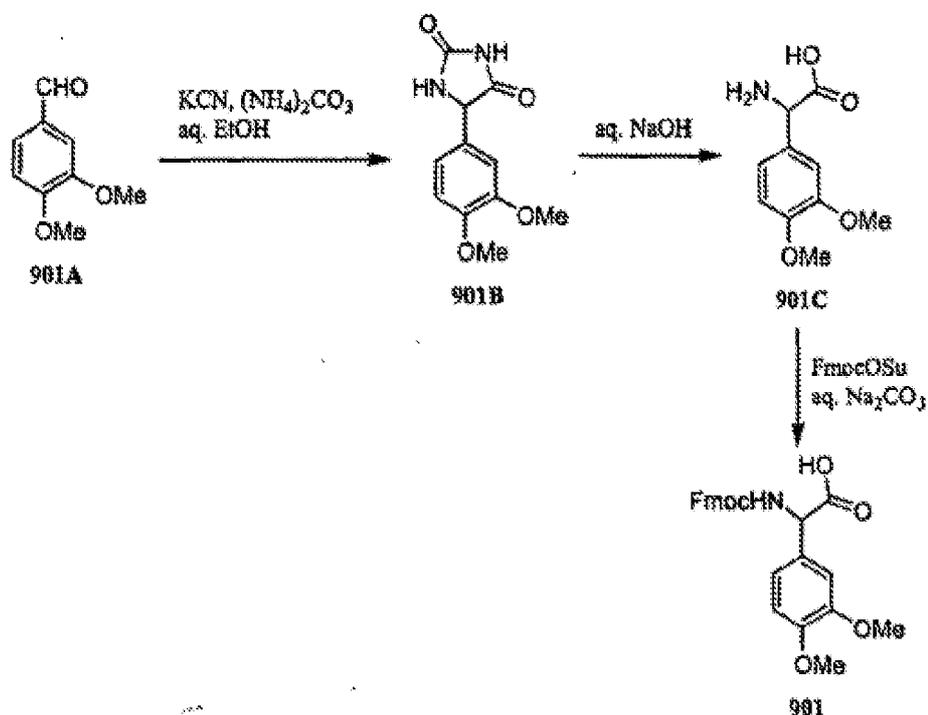
**Procedimento geral para oxidação de Dess-Martin em fase sólida**

A síntese foi feita numa reactor que foi construído a partir de um cartucho de seringa em poli-

propileno equipado com uma frita de polipropileno no fundo. O composto hidroxilado ligado à resina (aproximadamente 0,03 mmol) foi tratado com uma solução de 0,12 mmol de periodinano de Dess-Martin e 0,12 mmol de t-BuOH em 2 mL de DCM durante 4 h. A resina foi lavada com porções de 2 mL de uma solução a 20% v/v de iPrOH em DCM, THF, uma solução a 50% v/v de THF em água (4 vezes), THF (4 vezes) e DCM (4 vezes).

### Exemplo preparativo 18

Preparação de N-Fmoc-2',3'-dimetoxifenilglicina Composto (901)

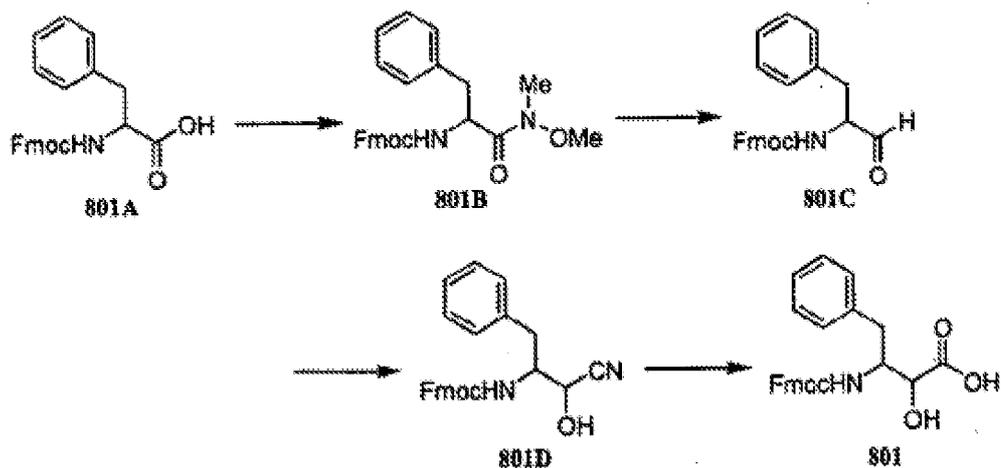


A uma solução de cianeto de potássio (1,465 g, 22,5 mmol) e carbonato de amónio (5,045 g, 52,5 mmol) em água (15 mL) adicionou-se uma solução de 2,3-dimetoxi-

benzaldeído **901A** (2,5 g, 15 mmol) em etanol (15 mL). A mistura reaccional foi aquecida a 40°C durante 24 h. O volume da solução foi reduzido para 10 mL por evaporação a pressão reduzida. Adicionou-se ácido clorídrico concentrado (15 mL) e obteve-se o composto **901B** como um precipitado branco. O composto **901B** foi isolado por filtração (2,2 g, 9,3 mmol). O composto **901B** foi dissolvido em solução aquosa de hidróxido de sódio a 10% p/p (15 mL) e a solução resultante foi aquecida a refluxo durante 24 h. Adicionou-se ácido clorídrico concentrado e o pH foi ajustado à neutralidade (pH 7). A solução resultante contendo composto **901C** foi evaporada a pressão reduzida. O resíduo foi dissolvido em solução aquosa de bicarbonato de sódio a 5% p/p (150 mL). A solução foi arrefecida a 0°C num banho de gelo e adicionou-se 1,4-dioxano (30 mL) e uma solução de carbonato de 9-fluorenilmetil succinimidilo (2,7 g, 8 mmol) em 1,4-dioxano (30 mL) a 0°C. A mistura reaccional foi deixada aquecer até à temperatura ambiente e foi agitada à temperatura ambiente durante 24 h. O 1,4-dioxano foi evaporado a pressão reduzida. A solução aquosa foi lavada com éter dietílico. Adicionou-se ácido clorídrico concentrado e o pH foi ajustado para ácido (pH 1). Adicionou-se acetato de etilo e a camada orgânica foi lavada com água e solução aquosa saturada de cloreto de sódio. A camada orgânica foi seca sobre sulfato de sódio anidro. O solvente foi evaporado a pressão reduzida para dar o composto **901** desejado como um sólido espumoso branco (3,44 g, 7,9 mmol). MS (LCMS com electropulverização) 434,1 MH<sup>+</sup>.

**Exemplo preparativo 19**

Composto (801)



A uma solução de N-Fmoc-fenilalanina **801A** (5 g, 12,9 mmol) em DCM anidro (22 mL) arrefecida a  $-30^{\circ}\text{C}$  num banho de gelo seco-acetona adicionou-se N-metilpirrolidina (1,96 mL, 16,1 mmol) e cloroformato de metilo (1,2 mL, 15,5 mmol) sequencialmente. A mistura reaccional foi agitada a  $-30^{\circ}\text{C}$  durante 1 h e adicionou-se uma solução de cloridrato de N,O-dimetilhidroxilamina (1,51 g, 15,5 mol) e N-metilpirrolidina (1,96 mL, 16,1 mmol) em DCM anidro (8 mL). A mistura reaccional foi deixada aquecer até à temperatura ambiente e foi agitada à temperatura ambiente de um dia para o outro. Adicionou-se tolueno e a camada orgânica foi lavada com ácido clorídrico diluído, solução aquosa de bicarbonato de sódio e solução aquosa saturada de cloreto de sódio. A camada orgânica foi seca sobre sulfato de sódio anidro. O solvente foi evaporado a pressão reduzida para dar o composto **801B** (4 g, 9.29 mmol).

A uma solução de Red-AI (6,28 mL, 21,4 mmol) em tolueno anidro (8 mL) arrefecida a  $-20^{\circ}\text{C}$  num banho de gelo seco-acetona adicionou-se uma solução de composto **801B** (4 g, 9,29 mmol) em tolueno anidro (12 mL). A mistura reaccional foi agitada a  $-20^{\circ}\text{C}$  durante 1,5 h. A camada orgânica foi lavada com ácido clorídrico diluído, solução aquosa de bicarbonato de sódio e solução aquosa saturada de cloreto de sódio. A camada orgânica foi seca sobre sulfato de sódio anidro. O solvente foi evaporado a pressão reduzida e o produto em bruto **801C** foi utilizado na reacção seguinte sem purificação adicional. A uma solução de composto **801C** (aproximadamente 9,29 mmol) em hexano (15 mL) adicionou-se uma solução de cianeto de potássio (24 mg, 0,37 mmol) e iodeto de tetrabutílamónio (34 mg, 0,092 mmol) em água (4 mL) e cianidrina de acetona (1,27 mL, 13,9 mmol) sequencialmente. A mistura reaccional foi agitada à temperatura ambiente durante 24 h. Adicionou-se acetato de etilo e a camada orgânica foi lavada com água e solução aquosa saturada de cloreto de sódio. A camada orgânica foi seca sobre sulfato de sódio anidro. O solvente foi evaporado a pressão reduzida para dar o composto **801D** (2,4 g, 6,03 mmol).

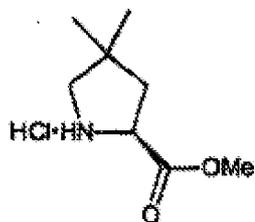
A uma solução de composto **801D** (2,4 g, 6,03 mmol) em 1,4-dioxano (11 mL) adicionou-se ácido clorídrico concentrado (11 mL). A mistura reaccional foi aquecida a  $80^{\circ}\text{C}$  durante 3 h. Adicionou-se acetato de etilo (25 mL) e água (25 mL). A camada orgânica foi lavada com solução

aquosa saturada de cloreto de sódio e seca sobre sulfato de sódio anidro. O solvente foi evaporado a pressão reduzida para dar o composto desejado **801** como um sólido espumoso branco (2 g, 4,8 mmol). MS (LCMS-Electropulverização) 418,1 MH<sup>+</sup>.

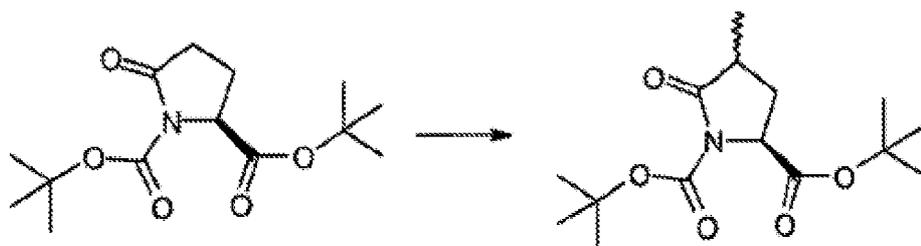
Os compostos da invenção que foram preparados e as suas gamas de actividade (K<sub>i</sub><sup>\*</sup>) estão apresentados na Tabela 1 anexa. O procedimento utilizado para preparar os compostos da Tabela 1 está descrito a seguir.

### I) Síntese de intermediários:

Exemplo I. Síntese de éster metílico de 4,4-dimetil prolina (H-Pro(4,4-diMe)-OMe)



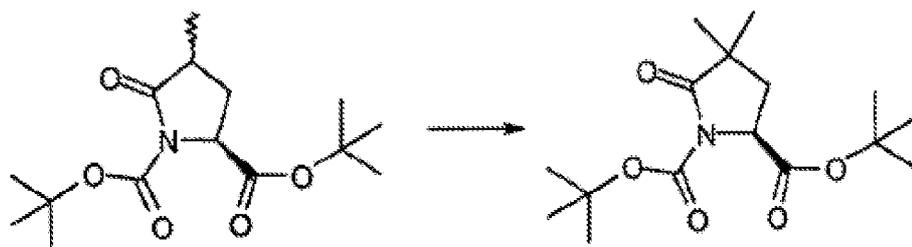
Passo 1. Síntese de N-terc-butoxicarbonil-4-metil-L-pirolglutamato de terc-butilo (Boc-PyroGlu(4-metil)-OtBu):



A uma solução de N-terc-butoxicarbonil-pirolglutamato de terc-butilo (11,5 g, 40 mmol) em THF (200

mL) com agitação a  $-78^{\circ}\text{C}$ , adicionou-se uma solução 1 M de hexametildissilazida de lítio em THF (42 mL, 42 mmol) gota a gota ao longo de 5 minutos. Após 30 minutos, adicionou-se iodeto de metilo (3,11 mL, 50 mmol). Após mais 2 horas a  $-78^{\circ}\text{C}$ , o banho de arrefecimento foi removido e adicionou-se cloreto de amônio aquoso semi-saturado (200 mL). A solução foi agitada durante 20 minutos, depois extraída com éter (3 x 200 mL). As camadas orgânicas combinadas foram lavadas com solução aquosa saturada de cloreto de sódio (200 mL), secas ( $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ), filtradas e concentradas. O resíduo foi cromatografado com acetato de etilo/hexanos 1:1 para dar Boc-PyroGlu(4-metil)-OtBu (10,6 gramas, 35,4 mmol, 88%) como uma mistura de isômeros (2:1 cis para trans).

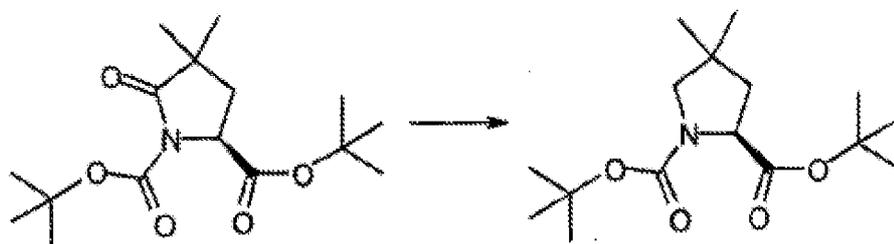
Passo 2. Síntese de N-terc-butoxicarbonil-4,4-dimetil-L-pirolglutamato de terc-butilo (Boc-PyroGlu(4,4-dimetil)-OtBu):



A uma solução de N-terc-butoxicarbonil-4-metil-L-pirolglutamato de terc-butilo (1,2 g, 4,0 mmol) em tetra-hidrofurano (20 mL) com agitação a  $-78^{\circ}\text{C}$ , adicionou-se uma solução 1 M de hexametildissilazida de lítio em tetra-hidrofurano (4,4 mL, 4,4 mmol) gota a gota ao longo de 5 minutos. Após 30 minutos, adicionou-se iodeto de metilo

(0,33 mL, 5,2 mmol). Após mais 3 horas a  $-78^{\circ}\text{C}$ , o banho de arrefecimento foi retirado e adicionou-se cloreto de amônio aquoso semi-saturado (40 mL). A solução foi agitada durante 20 minutos, depois extraída com éter (2 x 50 mL). As camadas orgânicas combinadas foram lavadas com água (2 x 25 mL), bicarbonato de sódio saturado (2 x 25 mL), solução aquosa saturada de cloreto de sódio (50 mL), secas ( $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ), filtradas e concentradas para dar Boc-PyroGlu(4,4-dimetil)-OtBu (0,673 g, 54%).

Passo 3. Síntese de terc-butil N-terc-butoxicarbonil-4,4-dimetilprolina (Boc-Pro(4,4-dimetil)-OtBu)

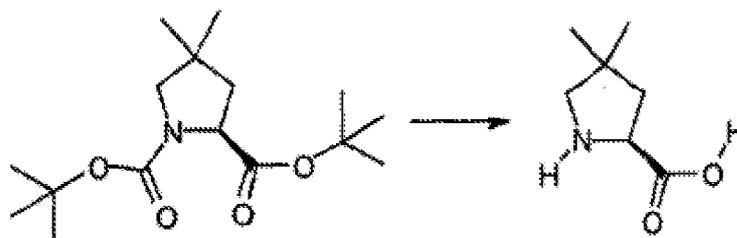


Modificação de procedimento conhecido: Pedregal, C.; Ezquerro, J.; Escribano, A.; Carreno, M. C.; Garcia Ruano, J. L. *Tetrahedron Letters* 1994, 35(13), 2053-2056).

A uma solução de N-terc-butoxicarbonil-4,4-dimetilpiroglutamato de N-terc-butilo (2,0 mmol) em tetra-hidrofurano (5 mL) com agitação a  $-78^{\circ}\text{C}$ , adicionou-se uma solução 1 M de trietilboro-hidreto de lítio em tetra-hidrofurano (2,4 mL, 2,4 mmol) gota a gota ao longo de 5 minutos. Após 30 minutos, o banho de arrefecimento foi retirado e adicionou-se bicarbonato de sódio aquoso

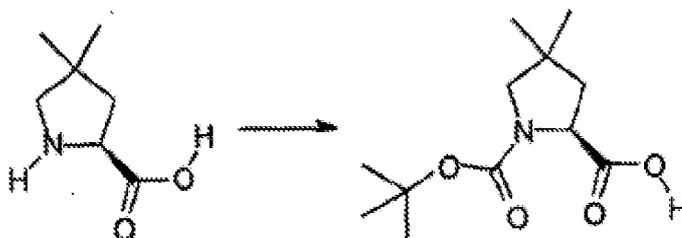
saturado (5 mL). A mistura reaccional foi imersa num banho de gelo/água e adicionou-se peróxido de hidrogénio aquoso a 30% (10 gotas). A solução foi agitada durante 20 minutos a 0°C, depois a mistura reaccional foi concentrada em vácuo para remover o tetra-hidrofurano. A solução aquosa foi diluída com água (10 mL) e extraída com diclorometano (3 x 40 mL). As camadas orgânicas foram secas (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>), filtradas e concentradas. O resíduo foi dissolvido em diclorometano (20 mL) e trietilsilano (310 µL, 2,0 mmol), depois foi arrefecido a -78°C e adicionou-se dietil eterato de trifluoreto de boro (270 µL, 2,13 mmol) gota a gota. Continuou-se a agitação durante 30 minutos, altura em que se adicionou mais trietilsilano (310 µL, 2,0 mmol) e dietil eterato de trifluoreto de boro (270 µL, 2.13 mmol). Após agitação a -78°C durante mais duas horas, o banho de arrefecimento foi retirado e adicionou-se bicarbonato de sódio aquoso saturado (4 mL). Após 5 minutos a mistura foi extraída com diclorometano (3 x 40 mL). As camadas orgânicas foram secas (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>), filtradas e concentradas para dar Boc-Pro(4,4-dimetil)-OtBu.

Passo 4. Síntese de 4,4-dimetilprolina (H-Pro(4,4-dimetil)-OH) :



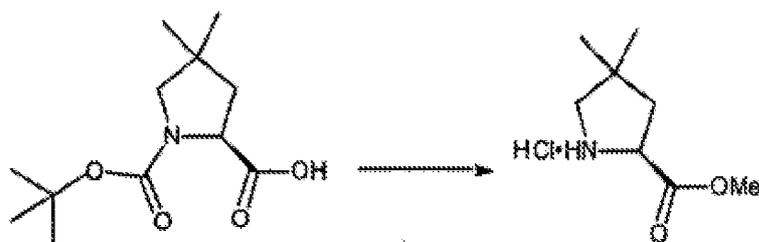
Uma solução de terc-butil N-terc-butoxicarbonil-4,4-dimetilprolina em diclorometano (5 mL) e ácido trifluoroacético (5 mL) foi agitada à temperatura ambiente durante cinco horas. A solução foi concentrada, seca em alto vácuo e utilizada no passo seguinte sem purificação adicional.

Passo 5. Síntese de N-terc-butoxicarbonil 4,4-dimetilprolina (Boc-Pro(4,4dimetil)-OH):



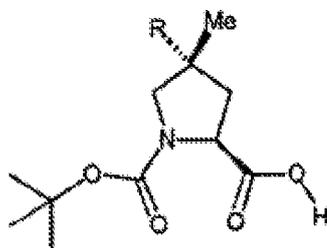
A uma solução de sal do ácido trifluoroacético de 4,4-dimetilprolina (1,5 mmol) em dioxano (7 mL), acetonitrilo (12 mL) e diisopropiletilamina (700  $\mu$ L, 4 mmol) adicionou-se uma solução de dicarbonato de di-terc-butilo (475 mg, 2,18 mmol) em acetonitrilo (5 mL). Após agitação durante 12 horas à temperatura ambiente a solução foi concentrada em vácuo, dissolvida em bicarbonato de sódio aquoso saturado (50 mL) e lavada com éter dietílico (3 x 40 mL). A camada aquosa foi acidificada até pH=3 com ácido cítrico, depois extraída com diclorometano (3 x 40 mL). As camadas orgânicas combinadas foram secas sobre sulfato de sódio, filtradas e concentradas.

Passo 6. Síntese de sal cloridrato do éster metílico de 4,4-dimetilprolina (HCl.H-Pro(4,4-dimetil)-OMe):



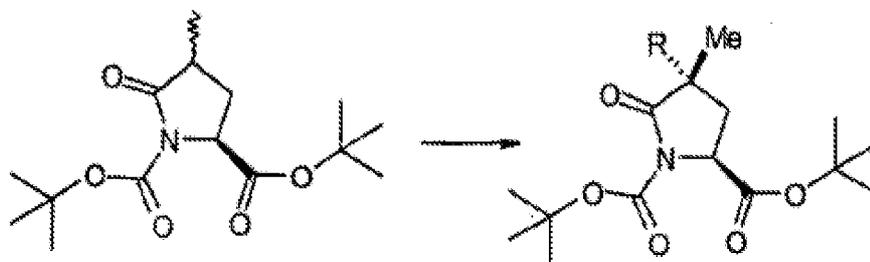
A uma solução de Boc-Pro(4,4-diMe)-OH (0,5 g, 2,06 mmol) em metanol anidro (8 mL) adicionou-se gota a gota cloreto de tionilo (448  $\mu$ L, 6,18 mmol) e a reacção foi agitada durante seis horas à temperatura ambiente. A mistura reaccional foi concentrada até um sólido amorfo (377 mg, 95%).

Exemplo II. Procedimento geral para a síntese de N-terc-butoxicarbonil-4-alkuil-metil prolina:



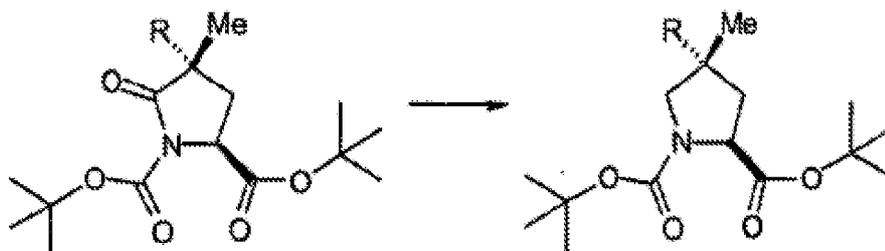
Os compostos em que o grupo R é alilo e benzilo foram sintetizados seguindo os passos 1-4 adiante:

Passo 1. Síntese de N-terc-butoxicarbonil-4-alquil-4-metil-L-pirolglutamato de terc-butilo:



A uma solução de N-terc-butoxicarbonil-4-metil-L-pirolglutamato de terc-butilo (10,2 g, mmol) (ver Exemplo I, passo 1) em tetra-hidrofurano (170 mL) com agitação a -78°C, adicionou-se uma solução 1 M de hexametildissilazida de lítio em tetra-hidrofurano (37,5 mL, 37,5 mmol) gota a gota ao longo de 5 minutos. Após 40 minutos, adicionou-se halogeneto de alquilo (61,4 mmol). Após mais 3 horas a -78°C, o banho de arrefecimento foi retirado e adicionou-se cloreto de amónio aquoso semi-saturado (200 mL). A solução foi agitada durante 20 minutos, depois extraída com éter (2 x 200 mL). As camadas orgânicas combinadas foram diluídas com hexanos (150 mL) e lavadas com bicarbonato de sódio saturado (100 mL), água (2 x 100 mL) e solução aquosa saturada de cloreto de sódio (100 mL), secas (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>), filtradas e concentradas. O resíduo foi submetido a cromatografia "flash" utilizando 20% de acetato de etilo em hexanos para dar o N-terc-butoxicarbonil-4-alquil-4-metil-L-pirolglutamato de terc-butilo puro.

Passo 2. Síntese de terc-butil N-terc-butoxicarbonil-4-  
alquil-4-metilprolina:

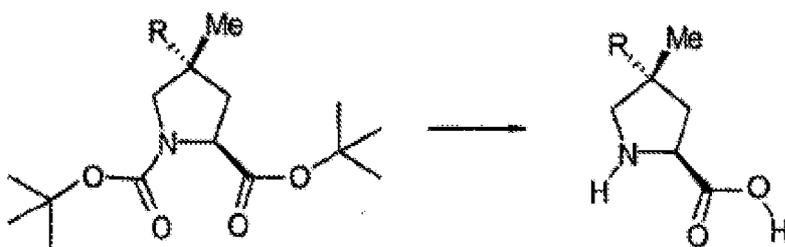


Modificação de procedimento conhecido: Pedregal, C.; Ezquerro, J.; Escribano, A.; Carreno, M. C.; Garcia Ruano, J. L. *Tetrahedron Letters* (1994) 35(13), 2053-2056).

A uma solução de terc-butil N-terc-butoxicarbonil-4-alquil-4-metilpiroglutamato (16.6 mmol) em tetra-hidrofurano (40 mL) com agitação a  $-78^{\circ}\text{C}$ , adicionou-se uma solução 1 M de trietilboro-hidreto de lítio em tetra-hidrofurano (20 mL, 20 mmol) gota a gota ao longo de 10 minutos. Após 120 minutos, o banho de arrefecimento foi deixado aquecer até  $-25^{\circ}\text{C}$  altura em que se adicionou bicarbonato de sódio aquoso saturado (40 mL). A mistura reaccional foi imersa num banho de gelo/água e adicionou-se peróxido de hidrogénio aquoso a 30% (4 mL). A solução foi agitada durante 10 minutos a  $0^{\circ}\text{C}$ , depois a mistura reaccional foi concentrada em vácuo para remover o tetra-hidrofurano. A solução aquosa foi diluída com água (300 mL) e extraída com diclorometano (3 x 200 mL). As camadas orgânicas foram secas (sulfato de sódio), filtradas e concentradas. O resíduo foi dissolvido em diclorometano (100 mL) e trietilsilano (2,6 mL, mmol), depois arrefeceu-se a  $-78^{\circ}\text{C}$  e adicionou-se dietil eterato de trifluoreto de boro (2,2 mL,

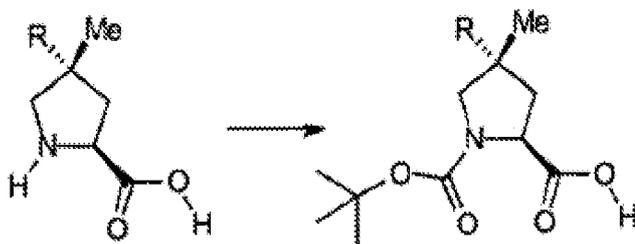
mmol) gota a gota. A agitação foi continuada durante 1 hora, altura em que se adicionou mais trietilsilano (2,6 mL, mmol) e dietil eterato de trifluoreto de boro (2,2 mL, mmol). Após com agitação a  $-78^{\circ}\text{C}$  durante mais 4 horas, o banho de arrefecimento foi retirado e adicionou-se bicarbonato de sódio aquoso saturado (30 mL) e água (150 mL). Após 5 minutos a mistura foi extraída com diclorometano (3 x 200 mL). As camadas orgânicas foram secas ( $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ), filtradas e concentradas.

Passo 3. Síntese de 4-alkuil-4-metilprolina:



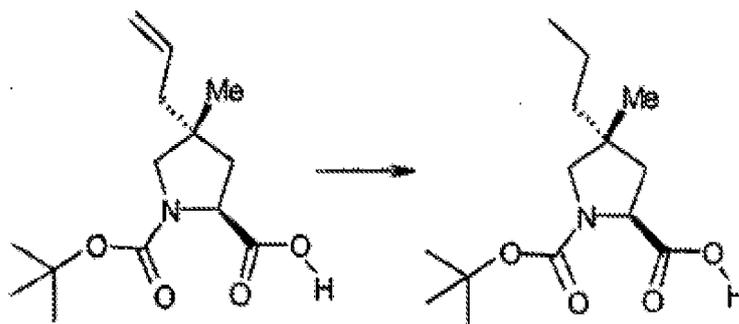
Uma solução de terc-butil N-terc-butoxicarbonil-4-alkuil-4-metilprolina em diclorometano (5 mL) e ácido trifluoroacético (5 mL) foi agitada à temperatura ambiente durante 5 horas. Adicionou-se tolueno e a solução foi concentrada e depois seca em alto vácuo.

Passo 4. Síntese de N-terc-butoxicarbonil 4-alkuil-4-metilprolina:

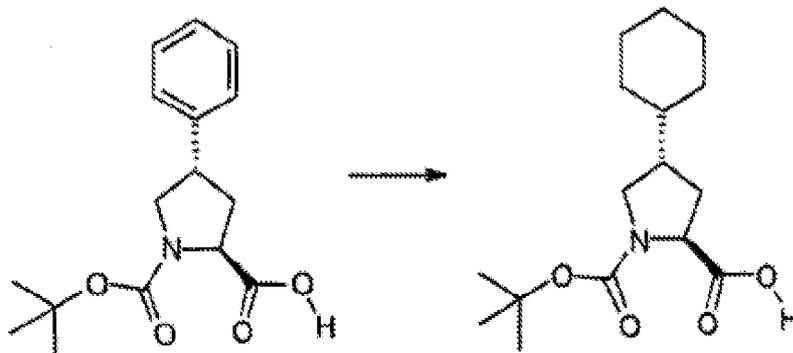


A uma solução de sal do ácido trifluoroacético de 4-alquil-4-metilprolina (1,5 mmol) em dioxano (7 mL), acetonitrilo (12 mL) e diisopropiletilamina (700 µL, 4 mmol) adicionou-se uma solução de dicarbonato de di-terc-butilo (475 mg, 2,18 mmol) em acetonitrilo (5 mL). Após agitação durante 12 horas à temperatura ambiente a solução foi concentrada em vácuo, dissolvida em bicarbonato de sódio aquoso saturado (50 mL) e lavada com éter dietílico (3 x 40 mL). A camada aquosa foi acidificada até pH=3 com ácido clorídrico 1 N, depois extraída com diclorometano (3 x 40 mL). As camadas orgânicas combinadas foram secas ( $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ), filtradas e concentradas. O resíduo foi purificado por cromatografia "flash" utilizando acetato de etilo/hexanos 1:1 com 1% de ácido acético.

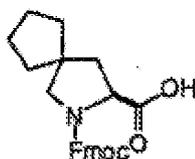
Exemplo III. Síntese de N-terc-butoxicarbonil 4-propil-4-metilprolina:



Uma solução de N-terc-butoxicarbonil-4-alil-4-metilprolina (400 mg, 1,48 mmol) (ver Exemplo II Passo 4) e Pd a 10% sobre carvão (400 mg) em metanol (20 mL) foi hidrogenada a 50 psi durante 4 horas. A mistura foi filtrada e concentrada.

Exemplo IV. Síntese de Boc-4-ciclo-hexilprolina:

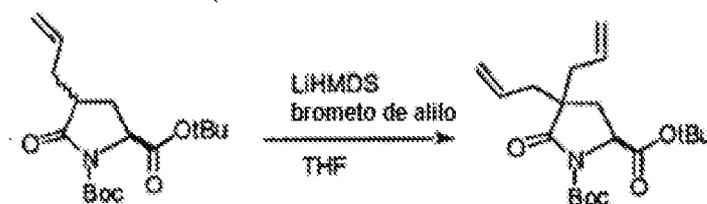
Uma solução de Boc-4-fenilprolina disponível comercialmente (750 mg) e Rh a 5% Rh sobre carvão (750 mg) em metanol (15 mL) foi hidrogenada a 50 psi durante 24 horas. A mistura foi filtrada e concentrada para dar 730 mg de produto.

Exemplo V: Preparação de ácido fluorenilmtoxycarbonil-Pro(4-espirociclopentano)carboxílico:Passo 1. Síntese de éster terc-butílico do ácido Boc-(4-alil)-piroglutâmico:

A uma solução arrefecida ( $-78^{\circ}\text{C}$ ) de piroglutamato de  $\text{N}^{\alpha}$ -Boc-terc-butilo disponível comercialmente (10 g, 35,1 mmol) em THF (175 mL) adicionou-se hexametildissilazida de lítio (36,8 mL, 36,8 mmol) ao longo de cinco minutos. Continuou-se a agitação durante trinta minutos. Adicionou-se uma solução de brometo de alilo (6,1 mL, 70,2 mmol) em THF (39 mL) gota a gota à primeira solução. Após duas horas a  $-78^{\circ}\text{C}$ , a reacção foi desactivada pela adição lenta de solução saturada de cloreto amónio (50 mL). A mistura reaccional foi depois diluída com acetato de etilo e as camadas foram separadas. A camada orgânica foi seca sobre sulfato de sódio e concentrada.

A cromatografia em coluna "flash" realizada em acetato de etilo:hexanos 2:8 deu o produto (6 g, 53%). NMR  $\delta$  ppm ( $\text{CDCl}_3$ ): 5,7 (m, 1H), 5,1 (dd, 2H), 4,4 (m, 1H), 2,6 (m, 2H), 2,4 (m, 1H), 1,8-2,2 (m, 1H), 1,45 (s, 9H), 1,4 (s, 9H).

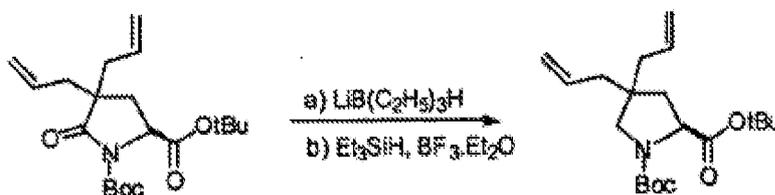
Passo 2. Síntese de éster terc-butílico do ácido N-Boc-(4,4-dialil)piroglutâmico:



O éster terc-butílico do ácido N-Boc-(4-alil)-piroglutâmico obtido no Passo 1 acima (2,68 g, 8,24 mmol)

foi submetido a uma segunda alquilação com brometo de alilo em condições semelhantes. A cromatografia flash" em acetato de etilo:hexanos 15:85 deu 2,13 g de produto (71%) como um óleo transparente.

Passo 3. Síntese de éster Boc-Pro(4,4-dialil)-terc-butílico:

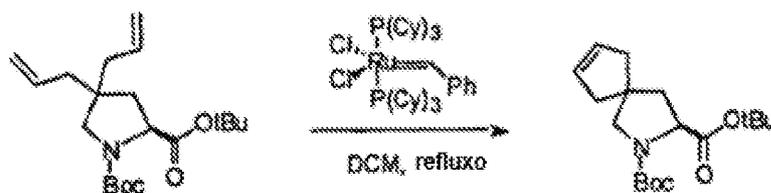


Parte a: A uma solução arrefecida ( $-78^{\circ}\text{C}$ ) de éster Boc-PyroGlu(4,4-dialil)-terc-butílico (2,13 g, 5,83 mmol) em tetra-hidrofurano (14 mL) adicionou-se trietil-boro-hidreto de lítio (1 M em tetra-hidrofurano, 7,29 mL, 7,29 mmol) ao longo de cinco minutos. Após duas horas a  $-78^{\circ}\text{C}$ , a reacção foi aquecida a  $0^{\circ}\text{C}$  e desactivada pela adição lenta de solução saturada de bicarbonato de sódio (20 mL) e peróxido de hidrogénio a 30% (20 gotas). A agitação continuou durante 20 minutos. O tetra-hidrofurano foi removido a pressão reduzida e o resíduo branco espesso remanescente foi diluído com água (80 mL) e extraído três vezes com diclorometano. A camada orgânica foi seca, filtrada e concentrada e utilizada no passo seguinte sem purificação adicional.

Parte b): Ao produto obtido na parte (a) em diclorometano (14 mL) adicionou-se trietilsilano (931  $\mu\text{L}$ ,

5,83 mmol) seguida por dietil eterato de trifluoreto de boro (776  $\mu\text{L}$ , 6,12 mmol). Após trinta minutos adicionou-se mais trietilsilano (931  $\mu\text{L}$ , 5,83 mmol) e dietil eterato de trifluoreto de boro (776  $\mu\text{L}$ , 6,12 mmol) e a reacção foi agitada a  $-78^\circ\text{C}$  durante três horas altura em que a reacção foi desactivada pela adição lenta de solução saturada de bicarbonato de sódio e água. A mistura reaccional foi extraída com diclorometano e a camada orgânica foi seca, filtrada e concentrada. A cromatografia em coluna "flash" em 15% de acetato de etilo em hexanos deu 1,07 de óleo incolor (57%). NMR  $\delta$  ppm ( $\text{CDCl}_3$ ): 5,7-5,8 (m, 2H), 5,1 (m, 4H), 4,1-4,2 (2 dd, 1H, rotâmeros), 3,5-3,3 (dd, 1H) e 3,2 (dd, 1H) rotâmeros, 2,2-2,0 (m, 5H), 1,7 (m, 1H), 1,46 (s, 9H), 1,43 (s, 9H).

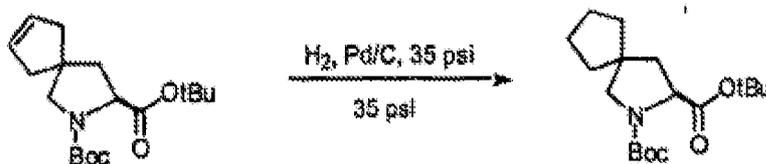
Passo 4. Síntese de éster Boc-Pro(4-espirociclopenteno)-terc-butílico:



Ao éster Boc-Pro(4,4-dialil)-terc-butílico (1,07 g, 3,31 mmol) em diclorometano (66 mL) adicionou-se 5% dicloreto de bis(triciclo-hexilfosfino)benzilideno ruténio IV (catalisador de Grubbs) e a mistura foi aquecida a refluxo durante 1,5 horas. A mistura reaccional foi concentrada e o resíduo remanescente foi purificado por

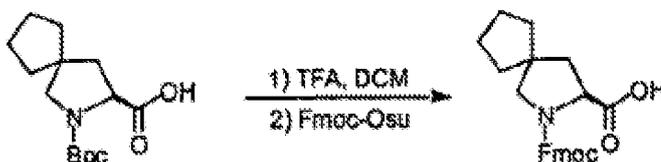
cromatografia em coluna "flash" em 15% de acetato de etilo em hexanos. Obteve-se um óleo amarelo (0,57 g, 53%). NMR  $\delta$  ppm ( $\text{CDCl}_3$ ): 5,56 (bs, 2H), 4,2 e 4,1 (t, 1H, rotâmeros), 3,2-3,5 (m, 2H), 2,2-2,5 (m, 5H), 1,9 (dd, 1H), 1,47 e 1,46 (2 s, 9H, rotâmeros), 1,45 e 1,44 (2 s, 9H, rotâmeros).

Passo 5. Síntese de éster Boc-Pro(4-espirociclopentano)-terc-butílico:



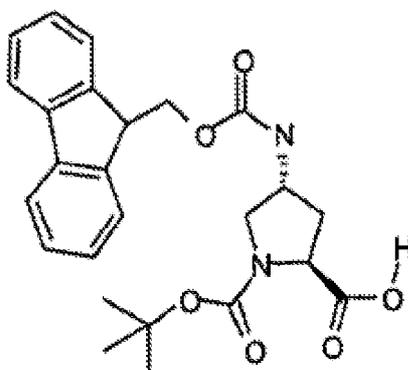
Uma solução de éster Boc-Pro(4-espirociclopentano)-terc-butílico (1,12 g) em metanol (18 mL), água (4 mL) e ácido acético (4 mL) foi colocada num agitador Parr e foi hidrogenada durante três horas a 35 psi na presença de paládio a 10% sobre carvão (300 mg). O catalisador foi separado por filtração e o filtrado foi concentrado até um óleo incolor (1,26 g). NMR  $\delta$  ppm ( $\text{CDCl}_3$ ): 4,1 e 4,2 (t, 1H, rotâmeros), 3,4 (d, 1H), 3,2 (d, 1H), 2,1 (m, 1H), 1,9 (m, 1H), 1,6-1,7 (m, 10H), 1,5 (3 s, 18H, rotâmeros).

Passo 6. Síntese de ácido Fmoc-Pro(4-espirociclopentano)-carboxílico:

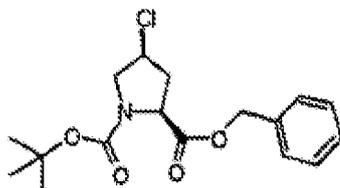


O éster Boc-Pro(4-espirociclopentano)-terc-butílico (1,26, 3,9 mmol) foi tratado com diclorometano (10 mL) e ácido trifluoroacético (15 mL) durante três horas. A mistura reaccional foi concentrada e o óleo amarelo obtido foi dissolvido em água (6 mL). Adicionou-se carbonato de fluorenilmetil succinilo (1,45 g, 4,3 mmol) dissolvido em dioxano (6 mL) em porções a que se seguiu a adição de carbonato de potássio (2,16 g, 15,6 mmol). A reacção foi agitada durante 18 horas e concentrada. O resíduo remanescente foi diluído com a solução saturada de bicarbonato de sódio (10 mL) e lavada com éter dietílico (3 x 10 mL). A camada aquosa foi depois acidificada a pH ~ 1 com solução de bissulfato de sódio 1 N e extraída com acetato de etilo. A camada orgânica foi seca sobre sulfato de sódio, filtrada e concentrada até uma espuma bege (1,3 g, 100%).

Exemplo VI. Síntese de Boc-Pro(4t-NH(Fmoc))-OH:

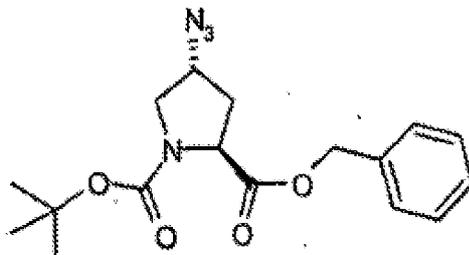


Passo 1. Síntese de éster benzílico de N<sup>α</sup>-terc-butoxi-carbonil-cis-4-cloro-L-prolina:



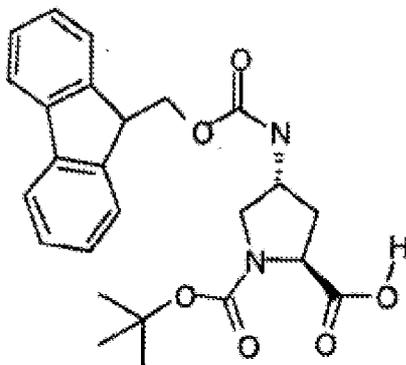
Uma mistura de N<sup>α</sup>-terc-butoxicarbonil-trans-4-hidroxi-prolina disponível comercialmente (8,79 g, 38 mmol), carbonato de potássio (13,0 g, 94 mmol), brometo de benzilo (4,5 mL, 38 mmol) e dimetilformamida (150 mL) foi agitada durante 18 h. A adição de acetato de etilo (100 mL) foi seguida por filtração. O filtrado turvo branco foi clarificado pela adição de HCl 1 M (100 mL). As camadas foram separadas e a camada aquosa foi extraída com mais acetato de etilo (2 x 100 mL). As camadas orgânicas combinadas foram lavadas com água (2 x 50 mL), secas (sulfato de sódio), filtradas e concentradas. Adicionou-se tolueno ao éster benzílico em bruto e a solução foi filtrada e reconcentrada. Adicionou-se diclorometano (70 mL) e tetracloreto de carbono (70 mL), seguido por trifenilfosfina (21,11 g, 80 mmol). A mistura reaccional foi agitada durante 10 h, desactivada com etanol (7 mL) e agitada durante mais 5 h. A solução foi concentrada até aproximadamente 100 mL, depois adicionou-se diclorometano (40 mL), a que se seguiu a adição de éter (200 mL) com agitação. A solução foi arrefecida durante 4 h, filtrada e concentrada para dar um óleo amarelo acastanhado que foi purificado por cromatografia "flash" utilizando éter/hexano/diclorometano 2:2:1 para dar o composto em epígrafe (9,13 g, 26,9 mmol, 71%) como um sólido branco.

Passo 2. Síntese de éster benzílico de N<sup>α</sup>-terc-butoxi-carbonil-trans-4-azido-L-prolina:



Uma solução de éster benzílico de N<sup>α</sup>-terc-butoxicarbonil-cis-4-cloro-L-prolina (9,0 g, 26,5 mmol) e azida de sódio (7,36 g, 113 mmol) em dimetilformamida (270 mL) foi aquecida a 75°C durante 2 dias. Adicionou-se água (100 mL) e a mistura reaccional foi extraída com acetato de etilo (3 x 100 mL). As camadas orgânicas combinadas foram lavadas com água (3 x 50 mL), secas (sulfato de sódio), filtradas e concentradas. O óleo foi purificado por cromatografia "flash" utilizando acetato de etilo/hexanos 1:1 para dar o composto em epígrafe (8,59 g, 24,8 mmol, 94%).

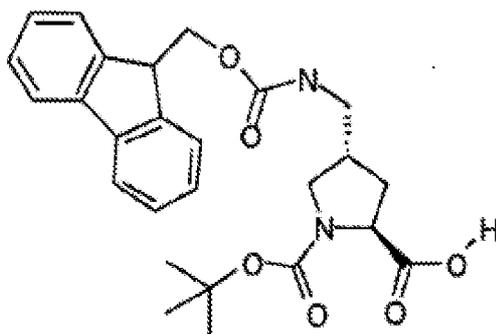
Passo 3. Síntese de Boc-Pro(4t-NH(Fmoc))-OH:



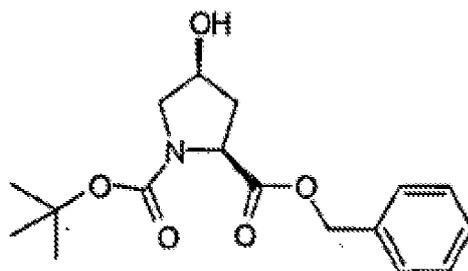
Uma mistura de éster benzílico de N<sup>α</sup>-t-butoxi-carbonil-trans-4-azido-L-prolina (8,59 g, 24,8 mmol) e

paládio a 10% sobre carvão (900 mg) em etanol (500 mL) foi hidrogenada a 50 psi durante 14 h utilizando um aparelho de hidrogenação Parr. A mistura foi filtrada, concentrada, dissolvida em metanol (60 mL), refiltrada e concentrada para dar um óleo incolor. O óleo foi dissolvido em água (53 mL) contendo carbonato de sódio (5,31 g, 50,1 mmol) e adicionou-se uma solução de carbonato de fluorenilmetil succinilo (8,37 g, 29,8 mmol) em dioxano (60 mL) ao longo de 40 min. A mistura reaccional foi agitada à temperatura ambiente durante 17 h, depois concentrada para remover o dioxano e diluída com água (200 mL). A solução foi lavada com éter (3 x 100 mL). O pH da solução aquosa foi ajustado para 2 pela adição de ácido cítrico (cuidado! formação de espuma!) e água (100 mL). A mistura foi extraída com diclorometano (400 mL, 100 mL, 100 mL) e as camadas orgânicas combinadas foram secas (sulfato de sódio), filtradas e concentradas para dar o composto em epígrafe.

Exemplo VII. Síntese de N-t-butoxicarbonil-4-trans-(N-fluorenilmetiloxycarbonilaminometil)-L-prolina (Boc-Pro(4t-MeNHFmoc)-OH) :



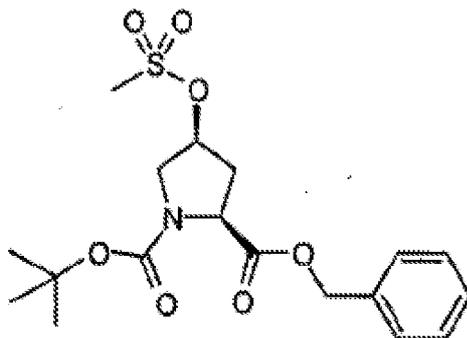
Passo 1. Síntese de éster benzílico de terc-butoxicarbonil  
cis-4-hidroxi-L-prolina (BocPro(4-cis-OH)-OBn):



A uma mistura de cis-hidroxi-L-prolina (5 g, 38,1 mmol) em benzeno (45 mL) e álcool benzílico (45 mL) adicionou-se monohidrato do ácido p-toluenossulfônico (7,6 g, 40,0 mmol). A mistura reaccional foi aquecida a 125°C durante 20 h enquanto se removia a água (2 mL) utilizando uma trapa de Dean-Stark. A solução foi filtrada enquanto ainda estava quente, e depois adicionou-se éter (150 mL). A solução foi deixada arrefecer durante três horas à temperatura ambiente, e depois três horas a 4°C. O sólido resultante foi recolhido, lavado com éter (100 mL) e seco em vácuo durante 1 h para dar 13,5 gramas de sólido branco. O sólido foi dissolvido em dioxano (40 mL) e adicionou-se diisopropiletilamina (7,6 mL), e depois dicarbonato de di-terc-butilo (10 g, 45,8 mmol) ao longo de 5 min enquanto se utilizava um banho de gelo para manter uma temperatura da reacção constante. Após 10 h à temperatura ambiente a mistura reaccional foi vertida em água fria (200 mL) e extraída com acetato de etilo (3 x 200 mL). As camadas orgânicas combinadas foram lavadas com água (3 x 100 mL) e

cloreto de sódio aquoso saturado (50 mL), secas (sulfato de sódio), filtradas e concentradas. O produto em bruto foi purificado por cromatografia "flash" utilizando 40-60% de acetato de etilo em hexanos para dar o composto em epígrafe (10.04 g, 31,24 mmol, 82%).

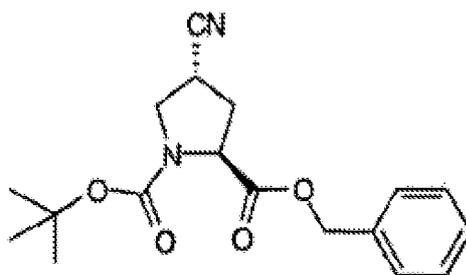
Passo 2. Síntese de éster benzílico de N-t-butoxicarbonil cis-4-mesiloxi-L-prolina (Boc-Pro(4-cis-OMs)-OBn):



A uma solução de Boc-Pro(4-cis-OH)-OBn (8,45 g, 26,3 mmol) em piridina (65 mL) a 0°C, adicionou-se cloreto de metanossulfonilo (3,4 mL, 44 mmol) gota a gota ao longo de 7 min. A mistura reaccional foi deixada aquecer até à temperatura ambiente ao longo de 2 h, depois foi agitada de um dia para o outro. Adicionou-se uma solução de 10% de água em piridina (20 mL) ao longo de 15 min e a mistura reaccional foi concentrada. O resíduo foi dissolvido em água e extraído com acetato de etilo (2 x 200 mL). As camadas orgânicas combinadas foram lavadas com água (2 x 50 mL), bicarbonato de sódio aquoso saturado (50 mL) e cloreto de sódio aquoso saturado (50 mL), secas (sulfato de sódio),

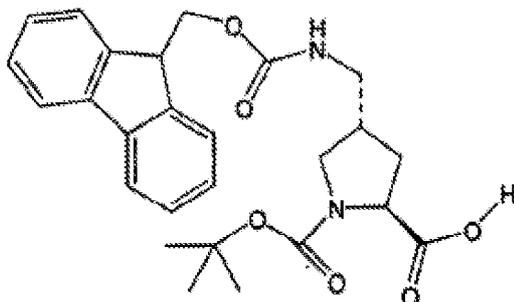
filtradas e concentradas. O resíduo resultante foi dissolvido em tolueno (100 mL) e concentrado para remover vestígios de piridina. O resíduo foi seco em vácuo durante 30 min para dar o composto em epígrafe (10,7 g, 102%), que foi depois utilizado no passo seguinte sem purificação adicional.

Passo 3. Éster benzílico de N-t-butoxicarbonil-trans-4R-ciano-L-prolina (Boc-Pro(4trans-CN)-OBn):



Uma solução de Boc-Pro(4-cis-OMs)-OBn (10,7 g, 26,3 mmol) e cianeto de tetrabutilamônio (15,0 g, 56 mmol) em dimetilformamida (100 mL) foi aquecida num banho de óleo a 55°C durante 28 h. Após arrefecimento, adicionou-se água (150 mL) e a mistura foi extraída com acetato de etilo (3 x 200 mL). As camadas orgânicas combinadas foram lavadas com água (3 x 100 mL) e cloreto de sódio aquoso saturado (100 mL), secas (sulfato de sódio), filtradas e concentradas. O resíduo resultante foi purificado por cromatografia "flash" (éter/hexanos 1:1) e depois recristalizado de acetato de etilo/hexanos para dar o composto em epígrafe (2,40 g, 7,26 mmol, 28%).

Passo 4. N-t-butoxicarbonil-4-trans-(N-fluorenilmetil-oxi-carbonil aminometil)L-prolina (Boc-Pro(4t-MeNHfmoc)-OH) :



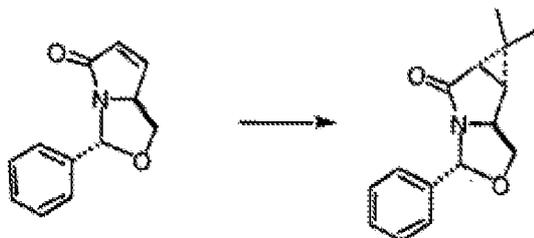
Uma mistura do composto do Passo 3 acima (2,31 g, 7 mmol), água (10 mL), metanol (85 mL) e paládio a 10% sobre carvão (700 mg) foi hidrogenada a 50 psi durante 11 h utilizando um aparelho de hidrogenação Parr. A mistura foi filtrada e concentrada. Adicionou-se água (15 mL) e carbonato de sódio (1,5 g, 14,2 mmol) ao resíduo. Adicionou-se uma solução de carbonato de fluorenilmetil succinilo (2,36 g, 7,0 mmol) em dioxano (17 mL) ao longo de 5 min e a agitação foi continuada durante 28 h à temperatura ambiente. A reacção foi concentrada em vácuo até um volume de 15 mL, e adicionou-se água (100 mL). A solução foi lavada com éter (3 x 75 mL). O pH da solução aquosa foi ajustado para 2 pela adição de ácido cítrico (aproximadamente 20 g, cuidado! formação de espuma!) e água (100 mL). A mistura foi extraída com diclorometano (4 x 100 mL) e as camadas orgânicas combinadas foram secas (sulfato de sódio), filtradas e concentradas. O produto em bruto continha uma impureza maioritária que necessitou de uma purificação em três passos. O produto em bruto foi dissolvido em diclorometano (50 mL) e ácido trifluoro-

acético (50 mL) e agitado durante 5 h antes de ser concentrado. O resíduo foi purificado por HPLC de fase inversa preparativa. O sal trifluoroacetato de 4-(N-fluorenil-metiloxicarbonil aminometil)prolina puro (1,887 g, 3,93 mmol) foi dissolvido em dioxano (10 mL), acetonitrilo (20 mL) e diisopropiletilamina (1,4 mL, 8 mmol). À mistura reaccional adicionou-se uma solução de dicarbonato de di-terc-butilo (1,1g, 5 mmol) em dioxano (5 mL). Após agitação durante 18 h, o pH da solução foi ajustado para 2 pela adição de ácido cítrico (cuidado: formação de espuma!) e água (100 mL). A mistura foi extraída com acetato de etilo (3 x 150 mL) e as camadas orgânicas combinadas foram lavadas com cloreto de sódio aquoso saturado (100 mL), secas (sulfato de sódio), filtradas e concentradas. O produto em bruto foi dissolvido em bicarbonato de sódio aquoso saturado (100 mL) e lavado com éter (3 x 75 mL). A camada aquosa foi ajustada para pH = 3 pela adição de ácido cítrico, depois foi extraída com diclorometano (4 x 100 mL). As camadas orgânicas combinadas foram secas (sulfato de sódio), filtradas e concentradas ao composto em epígrafe (1,373 g, 2,94 mmol, 42%).

Exemplo VIII. Síntese de 3,4-isopropilidenoprolinol:

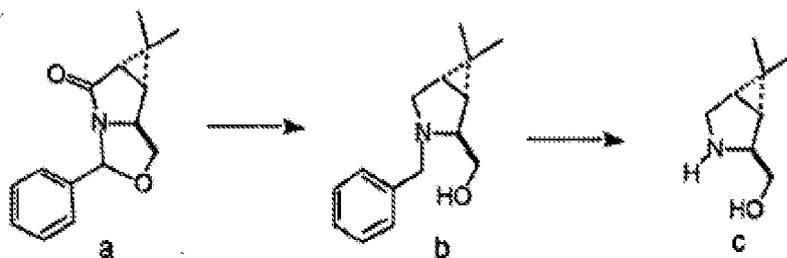


Passo I. Reacção de ciclopropanação (Tetrahedron Lett. 1993, 34(16), 2691 e 2695):



A uma solução com agitação de iodeto de isopropiltrifenil-fosfónio (4,14 g, 9,58 mmol) em tetra-hidrofurano (60 mL) a 0°C adicionou-se n-butil lítio (1,6 M em hexanos, 5,64 mL, 9,02 mmol) ao longo de 5 min. Após 30 min, adicionou-se uma solução de enamida ((5R,7S)-5-fenil-5,6,7,7a-tetra-hidro-6-oxapirrolizin-3-ona) (1,206 gramas, 6,0 mmol) (ver *J. Org. Chem.* 1999, 64(2), 547 para a síntese do material de partida enamida) em tetra-hidrofurano (40 mL) ao longo de 10 min. Após mais 10 min, o banho de arrefecimento foi retirado e a mistura reaccional foi agitada à temperatura ambiente durante 4 horas. A reacção foi vertida em água (400 mL) e extraída com éter dietílico (400 mL) e acetato de etilo (2 x 400 mL). Os extractos orgânicos combinados foram secos com sulfato de sódio, filtrados e concentrados para dar o produto desejado em bruto. O resíduo foi purificado por cromatografia "flash" eluindo com acetato de etilo/hexanos/cloreto de metileno 3:5:2 para dar o produto ciclopropanado puro (750 mg, 3,08 mmol, 51%).

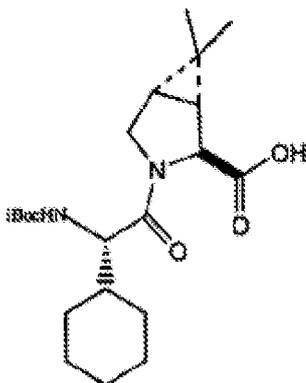
Passo 2. Síntese de 3,4-isopropilidenoprolinol P[álcool 3,4-(diMe-ciclopropílico)] (J. Org. Chem. (1999) 64(2), 330):



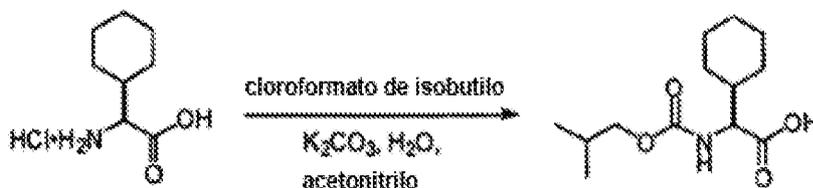
Uma mistura do produto obtido no passo 1 acima (1,23 gramas, 5,06 mmol) e hidreto de alumínio e lítio (1,0 M em THF, 15 mL, 15 mmol) foi aquecida a refluxo durante 5 horas. Após arrefecimento a 0°C, o hidreto de alumínio restante foi cuidadosamente desactivado pela adição gota a gota sulfato de sódio aquoso saturado (1,5 mL) ao longo de 15 min. A mistura foi diluída com acetato de etilo (40 mL) e depois filtrada através de celite. O filtrado foi seco com sulfato de sódio, filtrado e concentrado para dar N-benzil aminoálcool em bruto (1,25 gramas), que foi utilizado no passo seguinte sem purificação adicional. Uma solução de N-benzil aminoálcool em bruto (1,25 gramas, 5,06 mmol) em ácido acético/acetato de etilo 1:1 (30 mL) com Pd a 10% Pd sobre C (1 grama) foi hidrogenada a 50 psi durante 16 horas utilizando um aparelho de hidrogenação Parr. A mistura reaccional foi filtrada para remover o catalisador à base de carvão e o filtrado foi concentrada. O resíduo foi dissolvido em água (30 mL) e o pH foi ajustado para 13 com NaOH a 50%. A mistura foi extraída com éter (3 x 60 mL). O extracto combinado foi seco com sulfato de sódio, filtrado e concentrado para dar o aminoálcool em bruto (485

mg, 3,43 mmol). Este material foi utilizado no passo seguinte sem purificação adicional.

Exemplo IX. Síntese de ácido iBoc-G(Chx)-Pro(3,4-isopropilideno)-carboxílico:



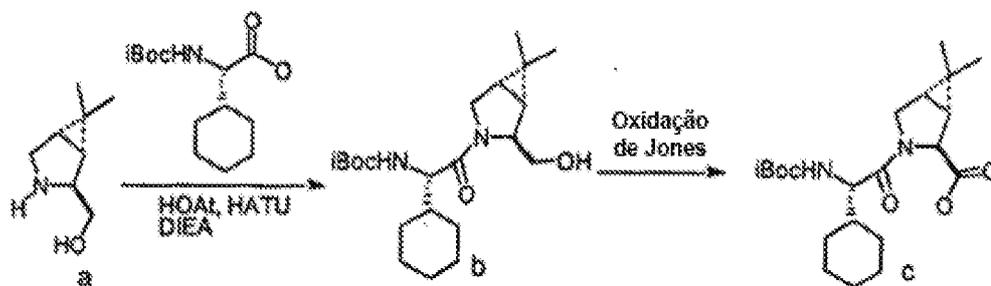
Passo 1. Síntese de isobutiloxycarbonil- ciclo-hexilglicina (iBoc-G(Chx)-OH):



A uma solução de cloridrato de ciclo-hexilglicina disponível comercialmente (15 g, 77,4 mmol) em acetonitrilo (320 mL) e água (320 mL) adicionou-se carbonato de potássio. Adicionou-se cloroformato de isobutilo (11,1 mL, 85,1 mmol) à solução transparente ao longo de 15 minutos e a reacção foi agitada durante 17 horas. O acetonitrilo foi removido a pressão reduzida e a camada aquosa remanescente foi extraída duas vezes com éter (100 mL). A camada aquosa foi depois acidificada até pH 1 com ácido clorídrico 6 N e

extraída com diclorometano (3 x 300 mL). A camada orgânica foi seca sobre sulfato de sódio, filtrada e concentrada para dar 18,64 g (94%) de produto como um sólido branco.

Passo 2. Síntese de isobutiloxicarbonil-ciclo-hexilglicil-3,4-isopropilidenoprolina (iBoc-G(Chx)-P[3,4-(diMe-ciclo-propil)-OH]:

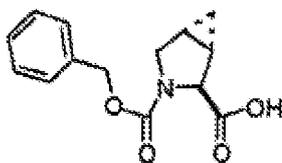
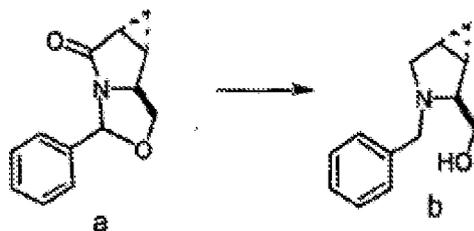


a) Passo de condensação

A uma solução de iBoc-G(Chx)-OH (890 mg, 3,45 mmol) em acetonitrilo (20 mL) adicionou-se HATU (1,33 g, 3,5 mmol), HOAt (476 mg, 3,5 gramas) e depois diisopropiletilamina (2,5 mL, 14 mmol). Após 2 minutos, adicionou-se 3,4-isopropilidenoprolinol (485 mg, 3,43 mmol) e a mistura reaccional foi agitada de um dia para o outro. A adição de bicarbonato de sódio aquoso saturado foi seguida pela extracção com éter e acetato de etilo. As camadas orgânicas combinadas foram secas, filtradas e concentradas. O resíduo foi purificado por cromatografia "flash" eluindo com acetato de etilo/hexanos 1:1 para dar o álcool dipeptídico puro iBoc-G(Chx)-3,4-isopropilidenoprolinol (870 mg, 2,3 mmol, 67%)

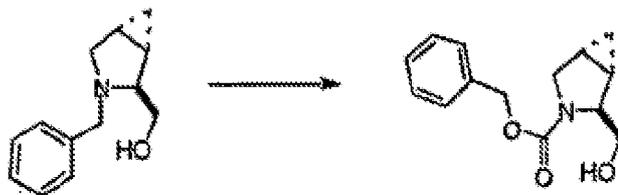
## b) Passo de oxidação de Jones

A uma solução do álcool dipeptídico iBoc-G(Chx)-3,4-isopropilidenoprolinol (100 mg, 0,26 mmol) em acetona (2 mL) com agitação a 0°C adicionou-se reagente de Jones (300 µL) gota a gota ao longo de 5 min. [Reagente de Jones: Preparado a partir de trióxido de crómio (13,4 g) e ácido sulfúrico concentrado (11,5 mL) diluído com água até um volume total de 50 mL.] Após agitação a 0°C durante 3 horas, adicionou-se isopropanol (500 µL) e a agitação continuou durante mais 10 minutos. A mistura reaccional foi diluída com água (20 mL) e extraída com acetato de etilo (3 x 70 mL). As camadas orgânicas combinadas foram secas, filtradas e concentradas para dar o dipéptido iBoc-G(Chx)-3,4-isopropilidenoprolina (100 mg, 0,25 mmol, 96%).

Exemplo X. Síntese de N-Cbz-3,4-metanoprolina:Passo 1. Síntese de N-benzil-3,4-metanoprolinol:

Uma mistura do material de partida de benzilideno (*J. Org. Chem.* 1999, 64(2), 547) (4,6 gramas, 21,4 mmol) e hidreto de alumínio e lítio (1,0 M em THF, 64 mL, 64 mmol) foi aquecida a refluxo durante 5 horas. Após arrefecimento a 0°C, o restante hidreto de alumínio foi cuidadosamente desactivado pela adição gota a gota de sulfato de sódio aquoso saturado (5 mL) ao longo de 15 min. A mistura foi diluída com acetato de etilo (200 mL) e depois filtrada através de celite. O filtrado foi seco com sulfato de sódio, filtrado e concentrado para dar N-benzil aminoálcool em bruto (3,45 gramas), que foi utilizado no passo seguinte sem purificação adicional.

Passo 2. Síntese de N-benziloxicarbonil-3,4-metanoprolinol (CBz-P(3,4-CH<sub>2</sub>)ol):



Uma solução de N-benzil aminoálcool em bruto (3 gramas, 14,76 mmol) em metanol (120 mL) e HCl concentrado (1,5 mL) com Pd a 10% sobre C (300 mg) foi hidrogenada a 50 psi durante 16 horas. A mistura reaccional foi filtrada para retirar o catalisador à base de carvão e o filtrado foi concentrado. O resíduo foi dissolvido em água/dioxano (100 mL) e adicionou-se diisopropiletilamina (3,2 mL).

Adicionou-se cloroformato de benzilo (2,76 mL, 16,2 mmol) e a reacção foi agitada de um dia para o outro. A mistura reaccional foi concentrada, dissolvida em HCl 1 M (100 mL) e extraída com acetato de etilo (3 x 200 mL). As camadas orgânicas combinadas foram secas com sulfato de magnésio, filtradas e concentradas. O resíduo foi purificado por cromatografia "flash" utilizando acetato de etilo/hexanos 1:3 para dar o N-Cbz-3,4-metanoprolinol (2,4 g)

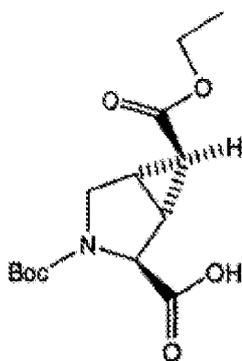
Passo 3. Síntese de N-benziloxicarbonil-3,4-metanoprolina (CBz-P(3,4-CH<sub>2</sub>)OH):



A uma solução de N-Cbz-3,4-metanoprolinol (2,2 g, 8,90 mmol) em acetona (68 mL) com agitação a 0°C, adicionou-se reagente de Jones (6,6 mL) gota a gota ao longo de 5 min. [Reagente de Jones: Preparado a partir de trióxido de crómio (13,4 g) e ácido sulfúrico concentrado (11,5 mL) diluído com água até um volume total de 50 mL.] Após agitação a 0°C durante 3 horas, adicionou-se isopropanol (11 mL) e a agitação foi continuada durante mais 10 minutos. A mistura reaccional foi diluída com água (400 mL) e extraída com acetato de etilo (3 x 500 mL). As

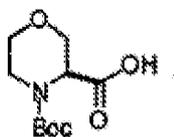
camadas orgânicas combinadas foram secas sobre sulfato de magnésio, filtradas e concentradas para dar N-Cbz-3,4-metanoprolina (2,25 g, 96%)

Exemplo XI. Síntese de Boc-(6S-carboetoximetano)prolina:



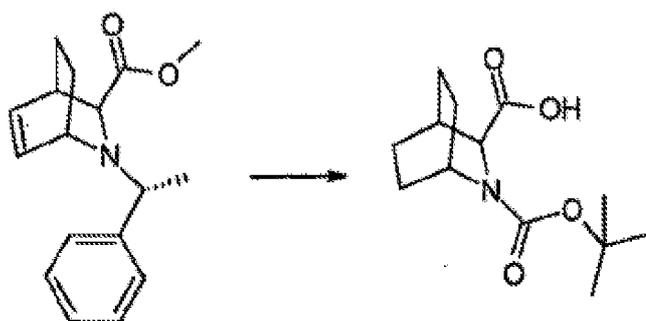
A síntese do composto em epígrafe foi realizada de acordo com o procedimento publicado: Marinozzi, M.; Nattaini, B.; Ni, M.H.; Costantino, G.; Pellicciari R. *IL Farmaco* (1995) 50 (5), 327-331.

Exemplo XII. Síntese de ácido Boc-3-morfolino carboxílico:



A síntese do composto em epígrafe foi realizada de acordo com o procedimento publicado: Kogami Y., Okawa, K. *Bull. Chem. Soc. Jpn.* (1987) 60, 2963-2965.

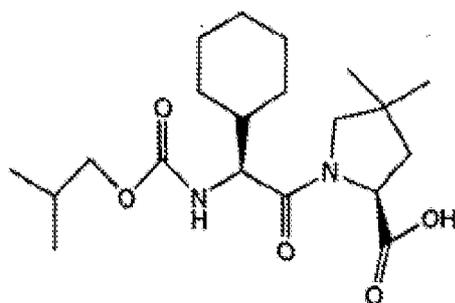
Exemplo XIII. Síntese de N-terc-butoxicarbonil 2-aza-3S-hidroxicarbonil-[2.2.2]-biciclooctano:



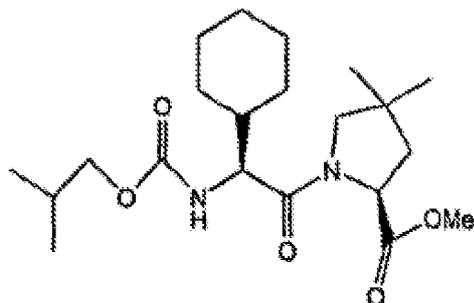
Uma solução de 2-aza-2-(1-feniletil)-3S-metoxi-carbonil-[2,2,2]biciclooct-5-eno em bruto (10 mmol) (*Tetrahedron* (1992) 48(44) 9707-9718) e Pd a 10% sobre carvão (1 g) em metanol (30 mL) foi acidificada com HCl 12 N e depois hidrogenada a 50 psi durante 16 horas utilizando um aparelho de hidrogenação Parr. A mistura reaccional foi filtrada para retirar o catalisador à base de carvão e o filtrado foi concentrado. O resíduo foi dissolvido em HCl concentrada e agitado de um dia para o outro. A solução foi concentrada e redissolvida em acetonitrilo (50 mL). Adicionou-se diisopropiletilamina (3,5 mL) e dicarbonato de di-terc-butilo (1 g). A mistura reaccional foi agitada durante 24 horas e depois concentrada. O resíduo foi dissolvido em CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> e ácido sulfúrico aquoso a 5%. A mistura reaccional foi extraída com CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> e as camadas orgânicas combinadas foram concentradas. O resíduo foi dissolvido em bicarbonato de sódio saturado a 10%, lavado com éter dietílico (2x) e acidificado com ácido sulfúrico aquoso a 5%. A camada aquosa foi extraída com acetato de

etilo (2x). As camadas de acetato de etilo combinadas foram secas, filtradas e concentradas para dar N-terc-butoxi-carbonil 2-aza-3S-hidroxicarbonil[2.2.2]-biciclo-octano (650 mg).

Exemplo XIV. Síntese de isobutiloxicarbonil-ciclohexilglicil-4,4-dimetil prolina (iBoc-G(Chx)-P(4,4-dimetil)-OH):



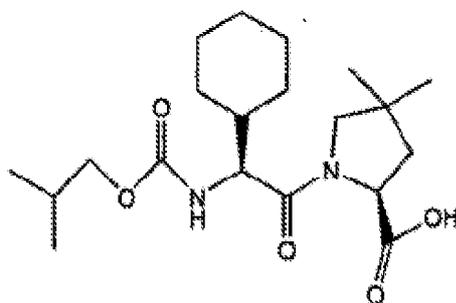
Passo I. Síntese de iBoc-G(Chx)-P(4,4-dimetil)-OMe:



A uma solução de iBoc-G(Chx)-OH (Exemplo IX, Passo 1.) (377 mg, 1,95 mmol) em acetonitrilo (7 mL) adicionou-se sucessivamente HCl.HN-Pro(4,4-dimetil)OMe (Exemplo I, passo 6) (377 mg, 1,95 mmol), N-hidroxibenzotriazole (239 mg, 1,75 mmol), TBTU (845 mg, 2,63 mmol) e diisopropiletilamina (1,35 mL, 7,8 mmol). A mistura reaccional foi agitada à temperatura ambiente durante 18 horas. A mistura reaccional foi concentrada e o resíduo remanescente foi dissolvido em acetato de etilo. A camada

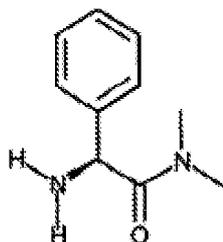
orgânica foi lavada duas vezes com porções de 10 mL de solução saturada de bicarbonato de sódio, solução de ácido clorídrico 1 N, e solução aquosa saturada de cloreto de sódio. A camada orgânica foi seca sobre sulfato de sódio, filtrada e concentrada até um sólido branco (612 mg, 79%).

Passo 2. Síntese de iBoc-G(Chx)-P(4,4-dimetil)-OH:

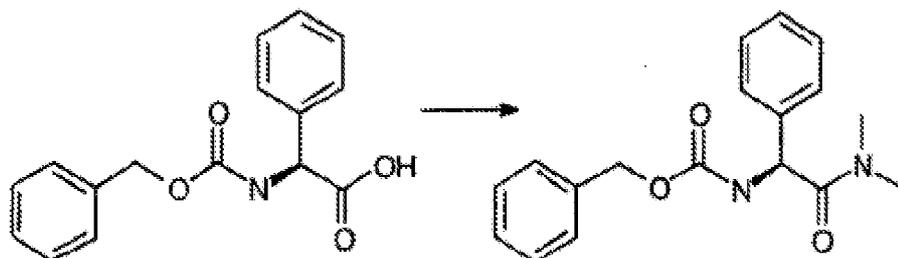


O éster metílico obtido no Passo 1 acima (612 mg, 1,54 mmol) em metanol (6 mL) foi saponificado na presença de hidróxido de lítio 2 M (1,16 mL) durante três horas. O metanol foi removido a pressão reduzida e o resíduo remanescente foi diluído com acetato de etilo e acidificado até pH=2 com ácido clorídrico 1 N. As camadas foram separadas e a camada orgânica foi lavada com água e solução aquosa saturada de cloreto de sódio, seca sobre sulfato de sódio, filtrada e concentrada.

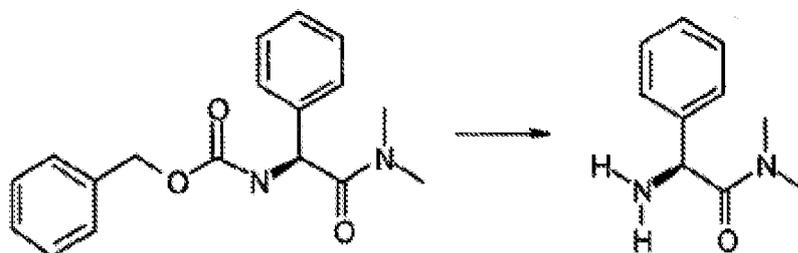
Exemplo XV. Síntese de L-fenilglicina dimetilamida



Passo 1. Síntese de N-benziloxicarbonil-L-fenilglicina dimetilamida (CBzPhg-NMe<sub>2</sub>):



N-benziloxicarbonil-L-fenilglicina (25g, 88 mmol) foi dissolvida em THF (800 mL) e arrefecida a  $-10^{\circ}\text{C}$ . Adicionou-se N-metilmorfolina (9,7 mL, 88 mmol) e cloroformato de isobutilo (11,4 mL, 88,0 mmol) e a mistura foi deixada com agitação durante 1 minuto. Adicionou-se dimetilamina (100 mL, 2 M em THF) e a reacção foi deixada aquecer até à temperatura ambiente. A mistura foi filtrada e o filtrado concentrado em vácuo para dar N-benziloxicarbonil-L-fenilglicina dimetilamida (32,5 g) como um óleo amarelo.

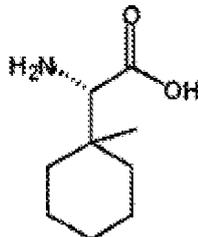


Passo 2. Síntese de L-fenilglicina dimetilamida (H-Phg-NMe<sub>2</sub>):

A N-benziloxicarbonil-L-fenilglicina dimetilamida

(32,5 g) obtida acima foi dissolvida em metanol (750 mL) e adicionou-se paládio a 10% sobre carvão activado (3,3 g). Esta mistura foi hidrogenada num aparelho Parr sob 35 psi de hidrogénio durante 2 horas. A mistura reaccional foi filtrada e o solvente removido em vácuo e o resíduo recristalizado de metanol-hexanos para dar fenilglicina dimetilamida (26 g) como um sólido branco sujo. O ee deste material foi determinado como sendo >99% por análise por HPLC do derivado 2,3,4,6-tetra-O-acetilglucopiranosil-tioisocianato.

Exemplo XVI. Síntese de (1-metilciclo-hexil)glicina:



Passo 1. 1-metil-1-hidroximetilciclo-hexano



A uma solução de 1-metil-1-hidroxicarbonilciclo-hexano (10 g, 70 mmol) em tetra-hidrofurano (300 mL) a 0°C adicionou-se diborano 1 M em tetra-hidrofurano (200 mL, 200 mmol) ao longo de 90 minutos. O banho de arrefecimento foi

retirado e a mistura reaccional foi agitada à temperatura ambiente durante dois dias. O borano remanescente foi desactivado pela adição lenta de bissulfato de sódio saturado (10 mL) ao longo de 90 min com arrefecimento. Adicionou-se mais bissulfato de sódio saturado (200 mL) e após 20 min de agitação a camada aquosa foi removida. A camada orgânica foi lavada com água e cloreto de sódio saturado, seco, filtrada e concentrada. O resíduo foi purificado por cromatografia "flash" utilizando 20% de éter dietílico em hexanos para dar 1-metil-1-hidroximetilciclohexano (6,17 g, 48 mmol, 69%).

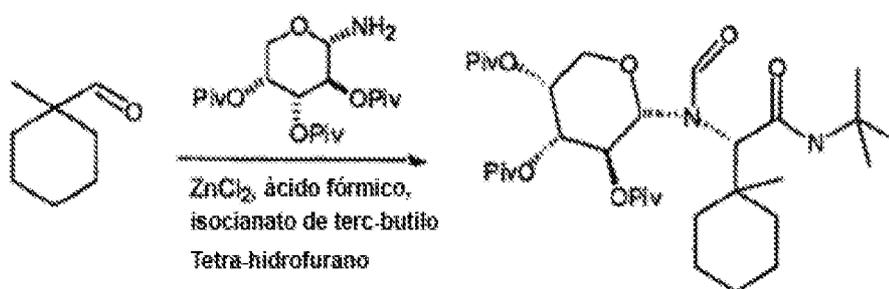
Passo 2. 1-metilciclo-hexilcarboxaldeído:



A uma solução de 1-metil-1-hidroximetil-ciclohexano (6,17 g, 48 mmol) e trietilamina (20,1 mL, 144 mmol) em diclorometano (150 mL) a 0°C, adicionou-se uma solução de complexo de piridina e trióxido de enxofre (22,9 g, 144 mmol) em sulfóxido de dimetilo (150 mL) ao longo de 15 min. O banho de arrefecimento foi deixado aquecer até à temperatura ambiente ao longo de duas horas, altura em que a mistura reaccional foi vertida em solução aquosa saturada de cloreto de sódio com gelo (400 mL). As camadas foram separadas e a camada aquosa foi extraída com diclorometano (200 mL). As camadas orgânicas combinadas foram diluídas

com hexanos (600 mL) e lavadas com HCl 1 M (2 x 150 mL), cloreto de sódio saturado (2 x 100 mL), secas, filtradas e concentradas. O resíduo foi purificado por cromatografia "flash" para dar 1-metilciclo-hexilcarboxaldeído (1,77 g, 13,8 mmol, 29%).

Passo 3. Síntese de N-formil-N-glicosil-1-metilciclo-hexil-terc-butilamida:

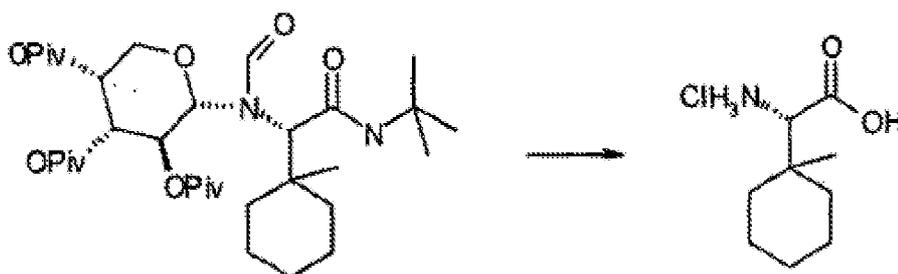


A síntese de 2,3,4-tri-O-pivaloíl-D-D-arabinosil-amina foi realizada de acordo com o procedimento publicado (Kunz. H.; Pfrengle, W.; Ruck, K.; Wilfried, S. *Synthesis* (1991) 1039-1042).

A uma solução de 1-metilciclo-hexilcarboxaldeído (1,17 g, 8,34 mmol), 2,3,4-tri-O-pivaloíl- $\alpha$ -D-arabinosil-amina (8,3 g, 20,7 mmol), ácido fórmico (850  $\mu$ L, 22.2 mmol) e isocianeto de terc-butilo (2,4 mL, 21,2 mmol) em tetra-hidrofurano (170 mL) a  $-30^\circ\text{C}$  adicionou-se cloreto de zinco 0,5 M em tetra-hidrofurano (41 mL, 20,57 mmol). A solução foi agitada a  $-20^\circ\text{C}$  durante 3 dias, depois foi concentrada. O resíduo foi diluído com  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (500 mL), lavado com bicarbonato de sódio saturado (2 x 500 mL) e água (500 mL). A camada orgânica foi seca, filtrada e concentrada para dar um óleo transparente. A cromatografia "flash" (20% de

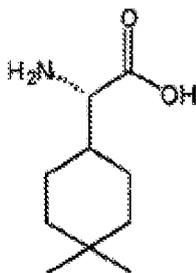
acetato de etilo em hexanos) deu produto puro (4,3 g, 6,6 mmol, 33%)

Passo 4. Síntese de (1-metilciclo-hexil)glicina:



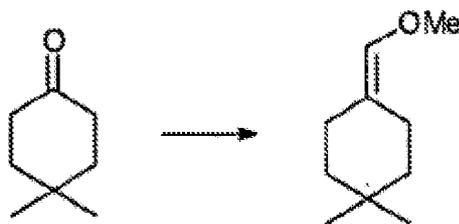
Uma solução do produto obtido no passo 3 acima (4,3 g, 6,6 mmol) em diclorometano (30 mL) e HCl metanólico anidro saturado (30 mL) foi agitada de um dia para o outro. A solução foi concentrada e o resíduo foi dissolvido em água (100 mL) e lavado com pentano (2 x 100 mL). A camada aquosa foi concentrada e o resíduo foi dissolvido em HCl 6 N (50 mL) e aquecido a refluxo durante 30 horas. A solução foi concentrada para dar o cloridrato de (1-metilciclo-hexil)glicina em bruto (790 mg, 3,82 mmol, 58%).

Exemplo XVII. Síntese de (4,4-dimetilciclo-hexil)glicina:



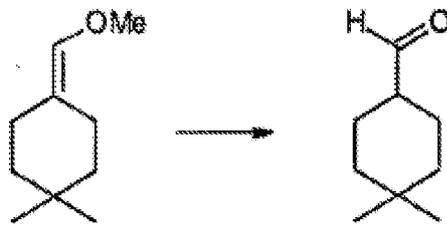
Passo 1. Síntese de 4,4-dimetilciclo-hexanona:

Uma mistura de 4,4-dimetilciclo-hex-2-en-1-ona (12 mL, 91,2 mmol) e Pd a 10% sobre carvão tipo Degussa (2 g) foi hidrogenada a 40 psi durante 18 horas. A mistura foi filtrada e concentrada (o  $^1\text{H}$  NMR mostrou uma mistura de cetona e álcool numa proporção de 5:3). A mistura foi dissolvida em acetona (400 mL) e arrefecida a  $0^\circ\text{C}$ . Adicionou-se reagente de Jones (40 mL) ao longo de 30 min e o banho de arrefecimento foi retirado. Após 2 dias a acetona em excesso foi evaporada e o resíduo resultante foi dissolvido em água e éter dietílico. A camada de éter foi lavada com água até ficar incolor, seca, filtrada e concentrada para dar 4,4-dimetilciclo-hexanona (7,4 g, 58,6 mmol, 64%).

Passo 2. Síntese do enol éter metílico de 4,4-dimetilciclo-hexilcarboxaldeído:

A uma solução de cloreto de metoximetil trifenil-fosfônio (8,6 g) em tetra-hidrofurano (125 mL) a 0°C adicionou-se n-butil lítio (1,6 M em hexanos, 14,3 mL) ao longo de 10 min. Após 30 min a mistura reaccional foi arrefecida a -78°C e adicionou-se uma solução de 4,4-dimetilciclo-hexanona (2,45 g, 19,1 mmol) em tetra-hidrofurano (50 mL) ao longo de 20 min. Após 1 hora o banho de arrefecimento foi removido e a reacção foi lentamente aquecida até 0°C. A reacção foi diluída com cloreto de amónio saturado (50 mL), acetato de etilo (100 mL) e hexanos (100 mL). A camada orgânica foi lavada com água e solução aquosa saturada de cloreto de sódio, seca, filtrada e concentrada. O resíduo foi agitado com hexanos (70 mL) durante 10 min e filtrado. O filtrado foi concentrado e cromatografado utilizando 25% de acetato de etilo em hexanos para dar o composto em epígrafe (1,925 g, 12,5 mmol, 65%).

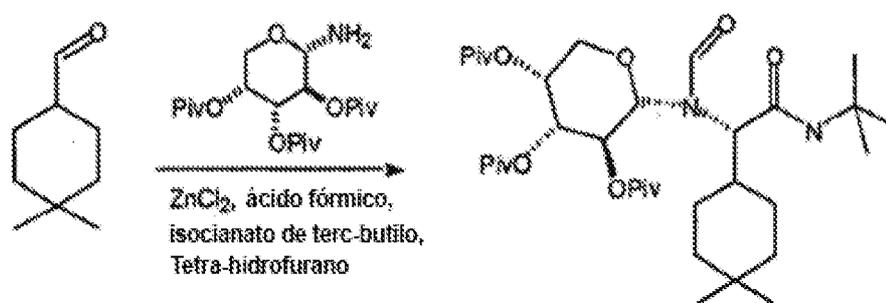
Passo 3: 4,4-dimetilciclo-hexilcarboxaldeído:



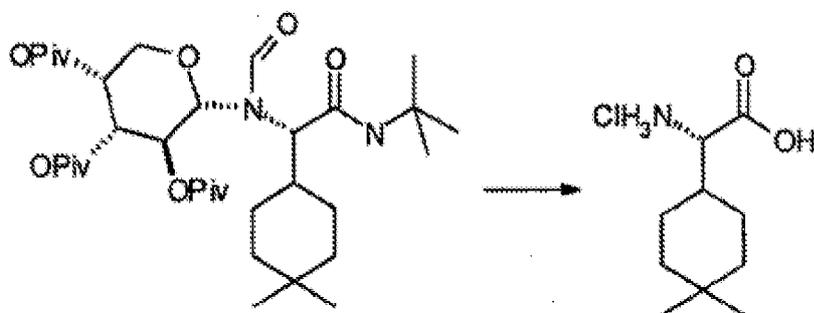
Uma solução do éter enólico metílico de 4,4-dimetilciclo-hexilcarboxaldeído (1,925 g, 12,5 mmol) (Passo II acima), tetra-hidrofurano (100 mL) e HCl 6 M (20 mL) foi agitada à temperatura ambiente durante 4 horas. A mistura

reaccional foi diluída com hexanos, éter dietílico, solução aquosa saturada de cloreto de sódio e água. A camada orgânica foi seca, filtrada e concentrada para dar 4,4-dimetilciclo-hexilcarboxaldeído (1,0 g, 7,1 mmol, 57%).

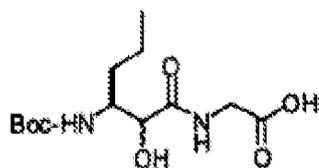
Passo 4. Síntese de N-formil-N-glicosil-4,4-dimetilciclo-hexil-terc-butilamida:



A uma solução de 4,4-dimetilciclo-hexil-carboxaldeído (1,17 g, 8,34 mmol), 2,3,4-tri-O-pivaloíl- $\alpha$ -D-arabinosilamina (3,43 g, 8,55 mmol), ácido fórmico (350  $\mu\text{L}$ , 9,17 mmol) e isocianeto de terc-butilo (990  $\mu\text{L}$ , 8,76 mmol) em THF (70 mL) a  $-30^\circ\text{C}$  adicionou-se cloreto de zinco 0,5 M em tetra-hidrofurano (17 mL, 8,5 mmol). A solução foi agitada a  $-20^\circ\text{C}$  durante 2 dias e depois concentrada. O resíduo foi diluído com diclorometano (200 mL), lavado com bicarbonato de sódio saturado (2 x 200 mL) e água (200 mL). A camada orgânica foi seca, filtrada e concentrada para dar um óleo transparente. A cromatografia "flash" (20% de acetato de etilo em hexanos) deu produto puro (2,1 g, 3,3 mmol, 39%)

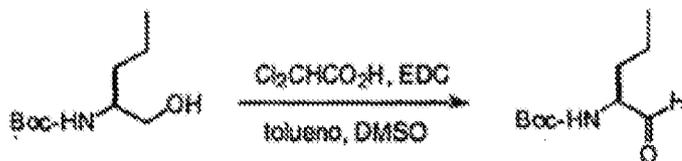
Passo 5. Síntese de (4,4-dimetilciclo-hexil)glicina:

Uma solução do produto Ugi obtido no passo 4 acima (2,1 g, 3,3 mmol) em diclorometano (20 mL) e HCl metanólico anidro saturado (20 mL) foi agitada de um dia para o outro. A solução foi concentrada e o resíduo foi dissolvido em água (100 mL) e lavada com pentano (2 x 100 mL). A camada aquosa foi concentrada e o resíduo foi dissolvido em HCl 6 N (40 mL) e aquecido a refluxo durante 30 horas. A solução foi concentrada para dar cloridrato de (1-metilciclo-hexil)glicina em bruto (300 mg, 1,36 mmol, 41%).

Exemplo XVIII. Síntese de Boc-nVal-(CHOH)-Gly-OH:Passo 1. Preparação de Boc-norvalinol:

A uma solução de Boc-norvalina (25,0 g, 0,115 mol) em tetra-hidrofurano (461 mL), arrefecida a 0°C, adicionou-se complexo de borano/tetra-hidrofurano (461 mL de uma solução 1,0 M em tetra-hidrofurano) gota a gota. Após 1 h a 0°C, a solução foi aquecida até à temperatura ambiente ao longo de um período de 1,5 h. A TLC indicou que a reacção foi completa. Adicionou-se metanol para desactivar a reacção. A solução foi concentrada para dar o composto em epígrafe (22,56 g, 96%) como um xarope espumoso. TLC dos produtos indicou pureza satisfatória.  $R_f = 0,34$  (40% de acetato de etilo/hexanos).

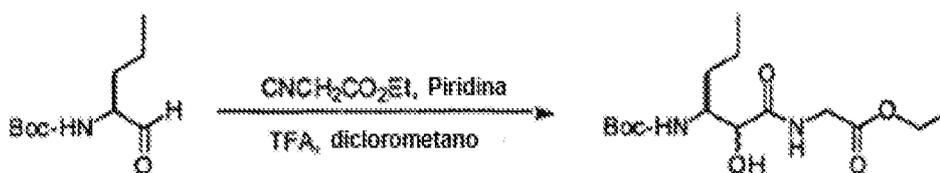
Passo 2. Preparação de Boc-norvalinal:



A Boc-norvalinol (7,77 g, 38 mmol), em sulfóxido de dimetilo anidro (153 mL) e tolueno (153 mL) adicionou-se EDC (73,32g, 382 mmol). Após a solução ter arrefecido a 0°C, adicionou-se ácido dicloroacético (15,8 mL, 191 mmol) gota a gota. Depois de completada a adição, a reacção foi agitada durante 15 min. A solução foi deixada aquecer até à temperatura ambiente ao longo de um período de 2 h. A mistura reaccional foi concentrada para remover o tolueno, depois foi dissolvida em acetato de etilo. A solução foi

lavada sucessivamente com bissulfato de sódio 1 N, bicarbonato de sódio saturado e solução aquosa saturada de cloreto de sódio, seca sobre sulfato de sódio, filtrada e concentrada para dar Boc-norvalinal em bruto que foi utilizado directamente no passo seguinte. TLC  $R_f = 0,84$  (40% de acetato de etilo/hexanos).

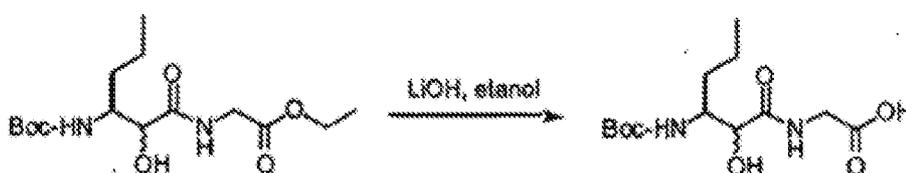
Passo 3. Síntese de Boc-nVal-(CHOH)-Gly-OEt:



A uma solução de Boc-norvalinal em bruto (4,18 g, 20,77 mmol) em diclorometano (83 mL) adicionou-se isocianoacetato de etilo (2,72 mL, 24,93 mmol) e piridina (6,72 mL, 83,09 mmol). Depois de a solução ter sido arrefecida a 0°C, adicionou-se ácido trifluoroacético (4,15 mL, 41,54 mmol) gota a gota. Após agitação durante 1 h, a solução foi agitada à temperatura ambiente durante 18 horas enquanto se deixava o solvente da mistura reaccional num recipiente aberto para evaporar em condições ambientes. A mistura reaccional foi concentrada e depois dissolvida em acetato de etilo. A solução foi lavada sucessivamente com bissulfato de sódio 1 N, bicarbonato de sódio saturado e solução aquosa saturada de cloreto de sódio, seca sobre sulfato de sódio, filtrada e depois concentrada. O resíduo foi purificado por cromatografia "flash" eluindo com 20% a

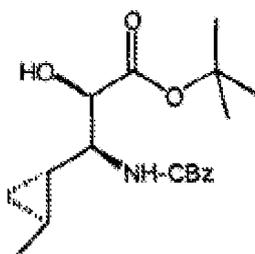
40% de acetato de etilo/hexanos para dar 2,8 g do composto em epígrafe como um xarope amarelo. A espectrometria de massa de baixa resolução confirmou a presença do produto desejado ( $MH^+$  333).

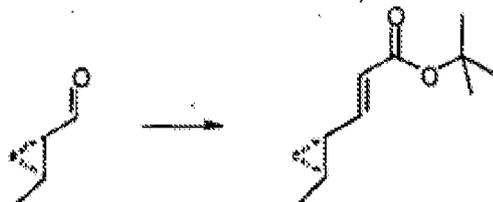
Passo 4. Síntese de Boc-nVal-(CHOH)-Gly-OH:



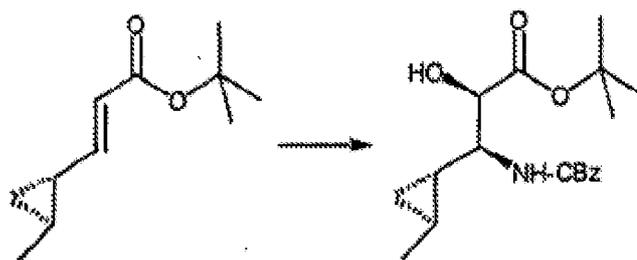
O produto obtido (Boc-nVal-(CHOH)-Gly-OEt) (1,52 g, 4,70 mmol) dissolvido em etanol (23 mL) foi saponificado com hidróxido de lítio 1 N (18,81 mL) durante duas horas à temperatura ambiente. A mistura reaccional foi acidificada até pH = 2 com resina de permuta iónica Dowex® 50 WX8, agitada durante 20 minutos e depois filtrada. A resina foi bem lavada com etanol e água e os filtrados combinados foram concentrados até uma espuma branca (0,48 g, 33%).

Exemplo XVIV. Síntese de N-CBz-3-amino-2-hidroxi-4,5 metileno-hexanoato de (2R,3S,4S,5S)-terc-butilo:



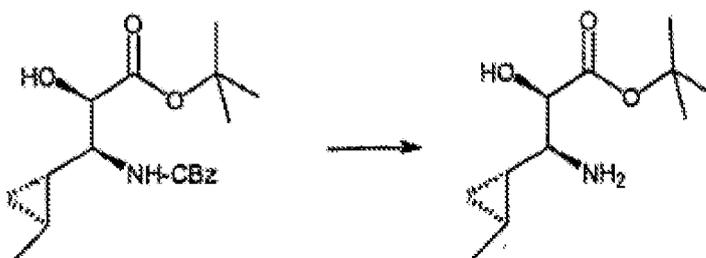
Passo 1:

A uma solução de dietilfosfonoacetato de terc-butilo (4,7 mL, 20 mmol) dissolvido em THF (50 mL) a  $-78^{\circ}\text{C}$  adicionou-se n-butil lítio 1,6 M em hexanos (12,4 mL). Após 30 minutos (1S,2S)-2-metilciclopropilcarboxaldeído (1 g, 12 mmol) (Barrett, A. G. M.; Doubleday, W. W.; Kasdorf, K.; Tustin, G. J., *J. Org. Chem.* (1996) 61, 3280) adicionou-se éter dietílico (100 mL) ao longo de 10 min. A reacção foi aquecida a  $0^{\circ}\text{C}$  durante 2 horas e a  $6^{\circ}\text{C}$  durante 12 horas. A reacção foi desactivada com cloreto de amónio saturado (20 mL) e a camada orgânica foi separada, lavada com 50 mL de solução aquosa saturada de cloreto de sódio e seca sobre sulfato de sódio, filtrada e concentrada para dar 3,5 g de um óleo transparente. A cromatografia "flash" (20% de acetato de etilo em hexanos) deu éster terc-butílico insaturado puro (1,4 g).

Passo 2:

A uma solução de carbamato de benzilo (3,55 g, 23,5 mmol) em n-propanol (24 mL) adicionou-se uma solução de hidróxido de sódio (900 mg, 22,7 mmol) em água (48 mL), seguida por hipoclorito de terc-butilo (2,57 mL, 22,7 mmol). Após 15 minutos a reacção foi arrefecida a 0°C e adicionou-se (DHQ)<sub>2</sub>PHAL (350 mg, 0,45 mmol) em n-propanol (24 mL), seguido por éster terc-butílico insaturado (1,4 g) do passo acima em n-propanol (48 mL). Finalmente adicionou-se osmato de potássio (110 mg, 0,30 mmol) em água (2 mL) e a solução muito rapidamente desenvolveu uma cor verde escura que persistiu durante 4 horas. Após 6 horas adicionou-se sulfato de sódio saturado (50 mL) e a mistura foi extraída com acetato de etilo (2 x 50 mL). As camadas orgânicas combinadas foram lavadas com solução aquosa saturada de cloreto de sódio (30 mL), secas sobre sulfato de sódio, filtradas e concentrada. A cromatografia "flash" com 20% de acetato de etilo em hexanos deu o amino éster terc-butílico protegido com CBz desejado como um sólido branco (316 mg).

Passo 3:



Uma mistura de amino éster terc-butílico

protegido com CBz (316 mg, 0,9 mmol) e 32 mg de paládio a 10% sobre carvão em 9 mL de metanol foi hidrogenado durante 8 horas. A mistura foi filtrada e concentrada para dar a amina livre como um óleo transparente (195 mg).

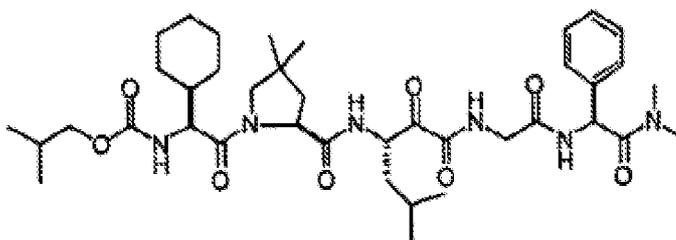
Exemplo XX. Síntese de cloroformato de 1R,2-dimetilpropilo:



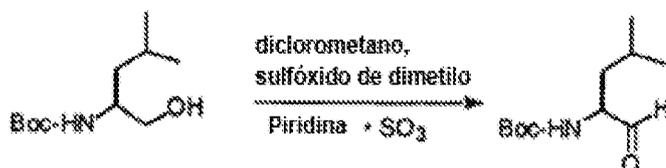
A 2R-hidroxi-3-metilbutano disponível comercialmente (410 mg, 4,65 mmol) adicionou-se uma solução de fosgénio a 20% em tolueno (1 mL, 2 mmol). A solução foi agitada durante 6 horas para produzir o cloroformato (2 mmol) que reagiu directamente e imediatamente com a amina desejada. O isómero S foi sintetizado pelo mesmo procedimento.

II) Síntese representativa em fase de solução de inibidores de HCV

Exemplo XXI. Síntese em fase de solução de iBoc-G(Chx)-Pro(4,4-dimetil)-Leu(CO)-Gly-Phg-dimetilamida:

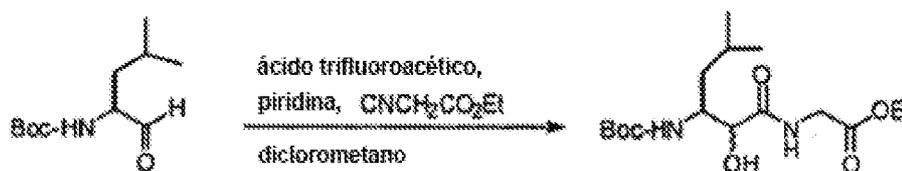


Passo 1. Síntese de terc-butiloxicarbonil-leucinal (Boc-Leu-CHO) :



A uma solução de Boc-L-leucinol disponível comercialmente (Advanced Chem Tech) (0,78 g, 3,6 mmol) em diclorometano anidro (17,5 mL) adicionou-se trietilamina (2 mL, 14,36 mmol) e a mistura foi arrefecida a 0°C. Adicionou-se sulfóxido de dimetilo (17,5 mL) seguido por complexo de trióxido de enxofre e piridina (2,3 g, 14,36 mmol) e a reacção foi agitada durante duas horas. A TLC em acetato de etilo:hexanos 1:1 confirmou que a reacção estava completa. A mistura reaccional foi concentrada e o resíduo remanescente diluído com acetato de etilo. A camada de acetato de etilo foi lavada com ácido clorídrico 1 M (2 x 75 mL) seguido por solução saturada de bicarbonato de sódio (2 x 75 mL) e solução aquosa saturada de cloreto de sódio (75 mL). A camada orgânica foi seca (sulfato de sódio), filtrada e concentrada para dar 775 mg de produto.

Passo 2. Síntese de éster etílico de Boc-2-hidroxi-3-amino-5-metil hexanoíl-glicina (Boc-Leu-(CHOH)-Gly-OEt) :



A uma solução de Boc-Leucina aldeído (0,77 g, 3,59 mmol) em diclorometano anidro (24 mL) adicionou-se piridina anidra (1,16 mL, 14,36 mmol) e isocianoacetato de etilo (0,4 mL, 4,66 mmol). A mistura reaccional foi arrefecida a 0°C e adicionou-se ácido trifluoroacético (0,55 mL, 7/18 mmol) ao longo de dois minutos. A mistura reaccional foi tapada e agitada a 4°C durante quatro dias, e à temperatura ambiente durante um dia. A mistura reaccional foi diluída com diclorometano (350 mL) e lavada duas vezes cada com porções de 75 mL de ácido clorídrico 1 M, bicarbonato de sódio saturado e solução aquosa saturada de cloreto de sódio. A camada orgânica foi seca, filtrada e concentrada. O resíduo obtido foi submetido a cromatografia "flash" numa coluna 2" x 6" de gel de sílica utilizando 10% de acetato de etilo em hexanos (800 mL) seguido por acetato de etilo em hexanos 1:1 (800 mL). As fracções correspondentes ao produto foram combinadas e concentradas para dar 980 mg (79%) de produto.

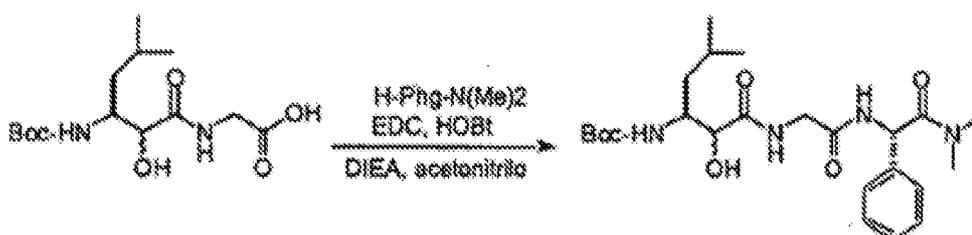
Passo 3. Síntese de Boc-Leu-(CHOH)-Gly-OH:



A uma solução de Boc-Leu-(CHOH)-Gly-OEt (0,98 g, 2,83 mmol) em etanol (11,3 mL) adicionou-se hidróxido de lítio 2 M (4,25 mL) e a reacção foi agitada durante cinco horas à temperatura ambiente. O etanol foi removido a pressão reduzida e a camada aquosa foi diluída com acetato

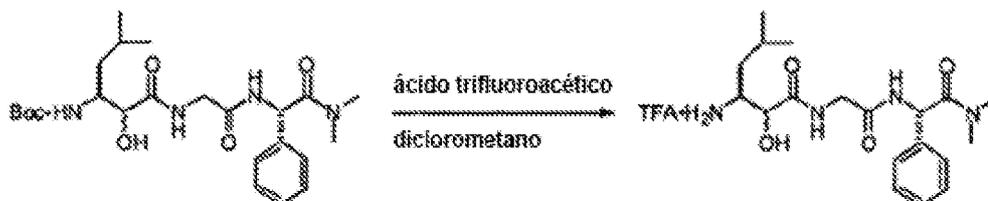
de etilo. A camada orgânica foi lavada com ácido clorídrico 1 M seguido por solução aquosa saturada de cloreto de sódio, seca, filtrada e concentrada para dar 775 mg (86%) de produto como um sólido branco.

Passo 4. Síntese de Boc-Leu-(CHOH)-Gly-Phg-dimetilamida:



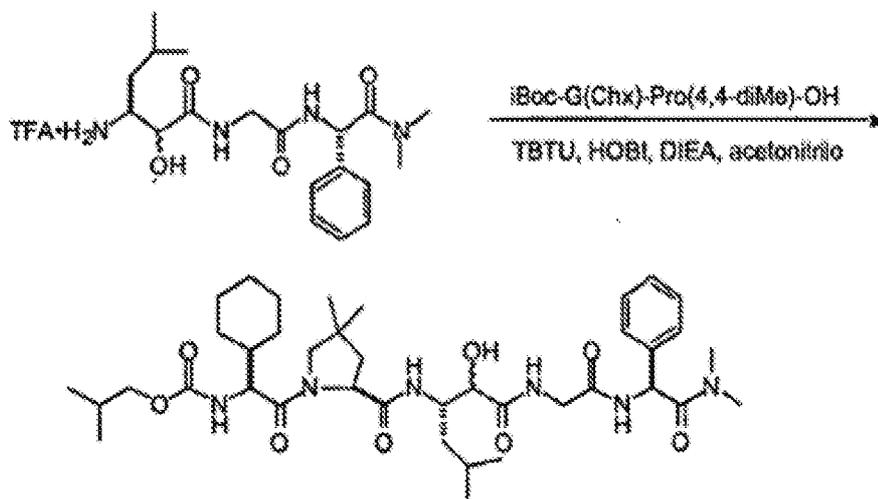
A uma solução de Boc-Leu-(CHOH)-Gly-OH (0,37 g, 1,18 mmol) em acetonitrilo (23 mL) adicionou-se sucessivamente fenilglicina dimetilamida (obtida no Exemplo XV, Passo 2), EDC (0,34 g, 1,76 mmol), N-hidroxibenzotriazole (HOBT) (0,18 g, 1,18 mmol) e diisopropiletilamina (DIEA) (0,82 mL, 4,7 mmol) e a reacção foi agitada durante 18 horas à temperatura ambiente. A mistura reaccional foi concentrada e o resíduo remanescente foi diluído com acetato de etilo e lavado sucessivamente com duas porções de 75 mL de ácido clorídrico 1 M, bicarbonato de sódio saturado e solução aquosa saturada de cloreto de sódio. A camada orgânica foi depois seca, filtrada e concentrada. O produto em bruto foi submetido a cromatografia "flash" numa coluna 2" x 6" de gel de sílica utilizando acetato de etilo:hexanos 4:1 (700 mL) seguido por acetato de etilo (1000 mL) e 10% de metanol em diclorometano (600 mL). As fracções correspondentes ao produto foram combinadas e concentradas para dar 445 mg (80%) de sólido branco.

Passo 5. Síntese de sal trifluoroacetato de H-Leu-(CHOH)-Gly-Phg-dimetilamida:



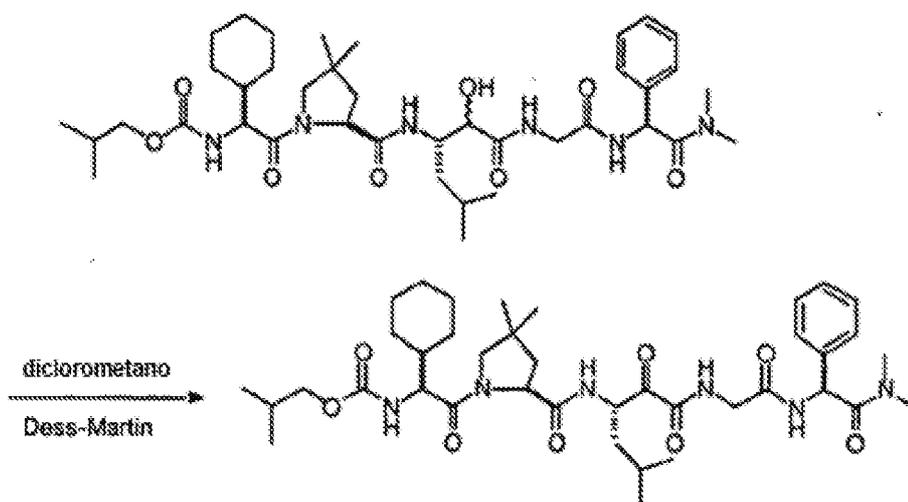
A uma solução de Boc-Leu-(CHOH)-Gly-Phg-dimetilamida (70 mg, 0,146 mmol) em diclorometano (1 mL) adicionou-se ácido trifluoroacético (1 mL) e a reacção foi agitada à temperatura ambiente durante 1 hora. A mistura reaccional foi concentrada e utilizada no passo seguinte sem purificação adicional.

Passo 6. Síntese de iBoc-G(Chx)-Pro(4,4-dimetil)-Leu-(CHOH)-Gly-Phg-dimetilamida:



A uma solução de iBoc-G(Chx)-P(4,4-diMe)-OH (Exemplo XIV, passo 2) (53 mg, 0,148 mmol) em acetonitrilo (3 mL) adicionou-se sucessivamente TFA.2HN-Leu(CHOH-Gly-Phg-NMe<sub>2</sub>) (61 mg, 0,148 mmol), N-hidroxibenzotriazole (HOBT) (23 mg, 0,148 mmol), TBTU (71,5 mg, 0,222 mmol) e diisopropiletilamina (103 µL, 0,593 mmol). A reacção foi agitada à temperatura ambiente durante 18 horas e concentrada. O resíduo remanescente foi dissolvido em acetato de etilo e lavado com ácido clorídrico 1 M (2 x 5 mL), solução saturada de bicarbonato de sódio (2 x 5 mL) e solução aquosa saturada de cloreto de sódio (2 x 5 mL). A camada orgânica foi seca, filtrada e concentrada. O produto (100 mg) foi utilizado no passo seguinte sem purificação adicional.

Passo 7. Síntese de iBoc-G(Chx)-Pro(4,4-dimetil)-Leu-(CO)-Gly-Phg-dimetilamida:



A uma solução de iBoc-G(Chx)-Pro(4,4-dimetil)-

Leu-(CHOH)-Gly-Phe-dimetilamida (30 mg, 0,04 mmol) em diclorometano (1 mL) adicionou-se o reagente de Dess-Martin disponível comercialmente (Omega Chemical Company Inc.) (67,8 mg, 0,16 mmol) e a reacção foi agitada à temperatura ambiente durante 90 minutos. A mistura reaccional foi concentrada e o resíduo remanescente foi agitado em tiosulfato de sódio a 5%. Foi depois diluída com diclorometano e as camadas foram separadas. A camada orgânica foi lavada com tiosulfato de sódio (4 x 3 mL), seguida por água e solução aquosa saturada de cloreto de sódio. A camada orgânica foi seca sobre sulfato de sódio, filtrada e concentrada. O produto em bruto foi dissolvido em hexanos e álcool isopropílico e foi submetido a purificação por HPLC utilizando uma coluna de sílica de fase normal Kromasil 5 (Phenomenex, 250 x 21,20 mm, 100 angstrom de tamanho do poro, partículas de gel de 5 µm) eluindo com um gradiente de 30 minutos que consistiu em 0 a 25% de álcool isopropílico em hexanos (25 mL/minuto). As fracções correspondentes ao produto foram combinadas e concentradas. A liofilização a partir de água deu 6,7 mg de pó branco. O espectro de massa de baixa resolução confirmou a massa desejada ( $MH^+ = 741,4$ ).

### III) Síntese em fase sólida:

A síntese em fase sólida é útil para a produção de pequenas quantidades de determinados compostos da presente invenção. Tal como com a síntese de péptidos em fase sólida convencional, os reactores para a síntese em

fase sólida de peptidil cetoamidas são constituídos por um vaso de reacção com pelo menos uma superfície permeável a solvente e reagentes dissolvidos, mas não permeável à resina de síntese com o tamanho de malha seleccionado. Esses reactores incluem vasos de reacção em fase sólida de vidro, com uma frita de vidro sinterizada, tubos ou colunas de polipropileno com fritas, ou reactor Kans™ fabricados por Irori Inc., San Diego CA. O tipo de reactor escolhido depende do volume de resina de fase sólida necessário, e diferentes tipos de reactores podem ser utilizados em diferentes fases de uma síntese. Os procedimentos seguintes vão ser referidos nos exemplos subsequentes:

Procedimento A: Reacção de condensação: À resina suspensa em N-metilpirrolidina (NMP) (10-15 mL/grama de resina) adicionou-se Fmoc-aminoácido (2 eq), HOAt (2 eq), HATU (2 eq) e diisopropiletilamina (4 eq). A mistura foi deixada reagir durante 4-48 horas. Os reagentes foram escorridos e a resina foi lavada sucessivamente com dimetilformamida, diclorometano, metanol, diclorometano e éter dietílico (utilizar 10-15 mL de solvente/grama de resina). A resina foi depois seca em vácuo.

Procedimento B: Desprotecção de Fmoc: A resina protegida com Fmoc foi tratada com 20% de piperidina em dimetilformamida (10 mL de reagente/g de resina) durante 30 minutos. Os reagentes foram escorridos e a resina foi lavada sucessivamente com dimetilformamida, diclorometano, metanol, diclorometano e éter dietílico (10 mL de solvente/grama de resina).

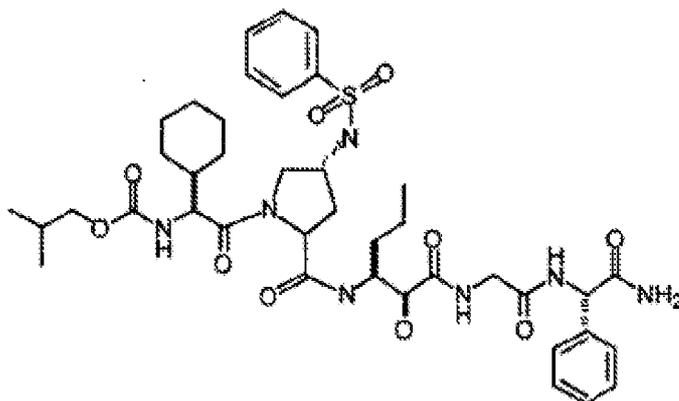
Procedimento C: Desprotecção de Boc: A resina protegida com Boc foi tratada com uma mistura de diclorometano e ácido trifluoroacético 1:1 durante 20-60 minutos (10 mL de solvente/grama de resina). Os reagentes foram escorridos e a resina foi lavada sucessivamente com diclorometano, dimetilformamida, 5% de diisopropiletilamina em dimetilformamida, dimetilformamida, diclorometano e dimetilformamida (10 mL de solvente/grama de resina).

Procedimento D: Hidrólise da semicarbazona: A resina foi suspensa na mistura de clivagem (10 mL/g de resina) que consiste em ácido trifluoroacético:ácido pirúvico:diclorometano:água 9:2:2:1 durante 2 horas. Os reagentes foram escorridos e o procedimento foi repetido mais três vezes. A resina foi lavada sucessivamente com diclorometano, água e diclorometano e seca em vácuo.

Procedimento E: Clivagem com HF: A resina péptido-nVal(CO)-G-O-PAM seca (50 mg) foi colocada num reactor para HF contendo uma pequena barra de agitação. Adicionou-se anisole (10% do volume total) como um sequestrante. Na presença de ácido glutâmico e aminoácidos de cisteína, também se adicionou tioanisole (10%) e 1,2-etanoditiol (0,2%). O reactor para HF foi depois fixado ao aparelho de HF (Immuno Dynamics) e o sistema foi purgado com azoto durante cinco minutos. Foi depois arrefecido a -70°C com um banho de gelo seco/isopropanol. Após 20 minutos, destilou-se HF até ao volume desejado (10 mL de

HF/g de resina). Deixou-se que a reacção decorresse durante uma hora e meia a 0°C. O processamento consistiu na remoção de todo o HF utilizando azoto. Adicionou-se depois diclorometano à resina e a mistura foi agitada durante cinco minutos. Isto foi seguido pela adição de 20% de ácido acético em água (4 mL). Após agitação durante 20 minutos, a resina foi filtrada utilizando um funil com frita e o diclorometano foi removido a pressão reduzida. O resíduo remanescente e a mistura foram lavados com hexanos (2x) para remover sequestrantes. Entretanto, a resina foi impregnada em 1 mL de metanol. A camada aquosa (HOAc a 20%) foi adicionada à resina e a mistura foi agitada durante cinco minutos e depois filtrada. O metanol foi removido a pressão reduzida e a camada aquosa foi liofilizada. O péptido foi depois dissolvido em 10-25% de metanol (contendo 0,1% de ácido trifluoroacético) e purificado por HPLC de fase inversa.

Exemplo XXII: Síntese em fase sólida representativa de inibidores de Hep C: (iBocG(Chx)-P(4t-NHSO<sub>2</sub>Ph)-nV-(CO)-G-G(Ph)-NH<sub>2</sub>)



Passo 1. Síntese de Fmoc-nV-(dpsc)-Gly-OH:A) Síntese de isocianoacetato de alilo (passos a-b adiante):a) Síntese de sal de potássio do ácido isocianoacético:

Adicionou-se isocianoacetato de etilo (96,6 mL, 0,88 mol) gota a gota a uma solução refrigerada de etanol (1,5 L) e hidróxido de potássio (59,52 g, 1,0 mol). A reacção foi lentamente aquecida até à temperatura ambiente. Após duas horas o produto precipitado foi filtrado num funil de vidro e lavado com várias porções de etanol refrigerado. O sal de potássio do ácido isocianoacético assim obtido foi seco em vácuo até um sólido castanho dourado (99,92 g, 91,8%).

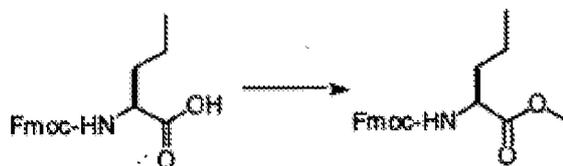
b) Síntese de isocianoacetato de alilo:

Ao produto da parte a (99,92 g, 0,81 mol) dissolvido em acetonitrilo (810 mL) adicionou-se brometo de alilo (92 mL, 1,05 mol). Após aquecimento a refluxo durante qua-

tro horas obteve-se uma solução castanha escura. A mistura reaccional foi concentrada e o resíduo remanescente foi dissolvido em éter (1,5 L) e lavado três vezes com água (500 mL). A camada orgânica foi seca, filtrada e concentrada até um xarope castanho escuro. O produto em bruto foi purificado por destilação em vácuo a 7 mm Hg (98°C) até um óleo transparente (78,92 g, 78%). NMR  $\delta$  ppm (CDCl<sub>3</sub>): 5,9 (m, 1H), 5,3 (m, 2H), 4,7 (d, 2H), 4,25 (s, 2H).

B) Síntese de 9-fluorenilmetoxicarbonil-norvalinal (passos a-c adiante):

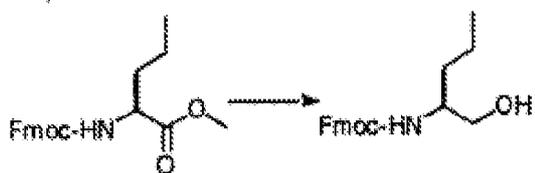
a) Síntese de éster metílico de 9-fluorenilmetoxicarbonil-L-norvalina (Fmoc-nVal-OMe):



A uma solução refrigerada de Fmoc-norvalina disponível comercialmente (25 g, 73,75 mmol) em metanol anidro (469 mL) adicionou-se cloreto de tionilo (53,76 mL, 737,5 mmol) ao longo de uma hora. A TLC em acetato de etilo feita uma hora mais tarde confirmou que a reacção estava completa ( $R_f = 0,85$ ). A mistura reaccional foi concentrada e o resíduo remanescente foi dissolvido em acetato de etilo. A camada orgânica foi lavada com várias porções de 200 mL de bicarbonato de sódio saturado seguidas por

solução aquosa saturada de cloreto de sódio. A camada orgânica foi seca, filtrada e concentrada para dar Fmoc-norVal-OMe) como um sólido branco (26.03 g) com rendimento quantitativo. NMR  $\delta$  ppm ( $\text{CD}_3\text{OD}$ ): 7,7 (m, 2H), 7,6 (m, 2H), 7,4 (m, 2H), 7,3 (m, 2H), 4,3 (m, 2H), 4,1 (m, 2H), 3,7 (s, 3H), 1,7 (m, 1H), 1,6 (m, 1H), 1,4 (m, 2H), 0,95 (t, 3H).

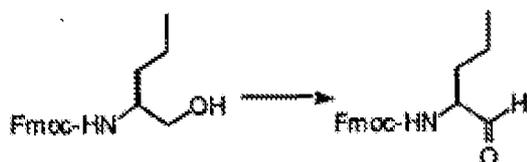
b) Síntese de 9-fluorenilmetoxicarbonil-norvalinol (Fmoc-nValinol):



A Fmoc-nVal-OMe (26,03 g, 73,75 mmol) em tetra-hidrofurano (123 mL) e metanol (246 mL) adicionou-se cloreto de cálcio (16,37 g, 147,49 mmol). A mistura reaccional foi arrefecida a 0°C e adicionou-se boro-hidreto de sódio (11,16 g, 294,98 mmol) em várias porções. À pasta espessa obtida, adicionou-se metanol (500 mL) e a reacção foi deixada com agitação à temperatura ambiente durante 90 minutos. A TLC em acetato de etilo:hexanos 2:3 confirmou que a reacção estava completa ( $R_F = 0,25$ ). A reacção foi desactivada com a adição lenta de água (100 mL) a 0°C. O metanol foi removido a pressão reduzida e a fase aquosa remanescente foi diluída com acetato de etilo. A camada orgânica foi lavada com água (3 x 500 mL), bicarbonato de sódio saturado (3 x 500 mL) e solução aquosa saturada de cloreto de sódio (500 mL). A camada orgânica foi seca sobre

sulfato de sódio, filtrada e concentrada até um sólido branco (21,70 g, 90,5%). NMR  $\delta$  ppm (CD<sub>3</sub>OD): 7,8 (m, 2H), 7,7 (m, 2H), 7,4 (m, 2H), 7,3 (m, 2H), 4,3-4,5 (m, 2H), 4,2 (m, 1H), 3,6 (s, 1H), 3,5 (s, 2H), 1,5 (m, 1H), 1,3-1,4 (m, 3H), 0,99 (m, 3H).

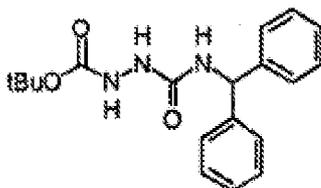
c) Síntese de 9-fluorenilmetoxicarbonil-norvalinal (Fmoc-nVal-CHO):



A uma solução de Fmoc-norValinol (21,70 g, 66,77 mmol) em diclorometano (668 mL) adicionou-se trietilamina (37,23 mL, 267 mmol) e a solução foi arrefecida a 0°C. Adicionou-se uma suspensão de complexo de piridina e trióxido de enxofre (42,51 g, 267 mmol) em sulfóxido de dimetilo (96 mL) à solução refrigerada. Após uma hora, a TLC em acetato de etilo:hexanos 2:3 confirmou que a reacção estava completa. O diclorometano foi removido a pressão reduzida e o resíduo remanescente foi dissolvido em acetato de etilo e lavado com água (2 x 50 mL), bissulfato de sódio saturado 1 N (2 x 50 mL), bicarbonato de sódio saturado (2 x 50 mL) e solução aquosa saturada de cloreto de sódio (50 mL). A camada orgânica foi concentrada para dar um sólido branco. Foi considerado o rendimento teórico (21,57 g) e a reacção foi utilizada no passo seguinte sem purificação adicional.

C) Síntese de sal trifluoroacetato de difenilmetil semicarbazida (dpSC) (passos a-b adiante):

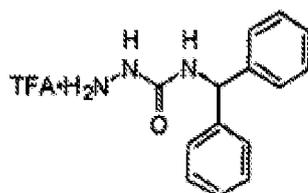
a) Síntese de Boc-semicarbazid-4-il difenilmetano



A uma solução de carbonildiimidazole (16,2 g, 0,10 mole) em dimetilformamida (225 mL) adicionou-se uma solução de carbazato de t-butilo (13,2 g, 0,100 mol) em dimetilformamida (225 mL) gota a gota ao longo de 30 minutos. A seguir adicionou-se difenilmetilamina (18,3 g, 0,10 mol) ao longo de 30 minutos. A reacção foi deixada com agitação à temperatura ambiente durante uma hora. Adicionou-se água (10 mL) e a mistura foi concentrada até cerca de 150 mL a pressão reduzida. Esta solução foi vertida em água (500 mL) e extraída com acetato de etilo (400 mL). A fase de acetato de etilo foi lavada duas vezes cada com 75 mL de HCl 1 N, água, solução saturada de bicarbonato de sódio e cloreto de sódio, e seca com sulfato de magnésio. A mistura foi filtrada e a solução foi concentrada para dar 29,5 g (85% de rendimento) de uma espuma branca. Este material pode ser purificado por recristalização de acetato de etilo/hexano, mas estava suficientemente puro para ser utilizado directamente no passo seguinte: p.f. 142-143°C.  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  1,45 (s, 9H), 6,10 (dd, 2H), 6,42 (s, 1H), 6,67 (bs, 1H), 7,21 -7,31

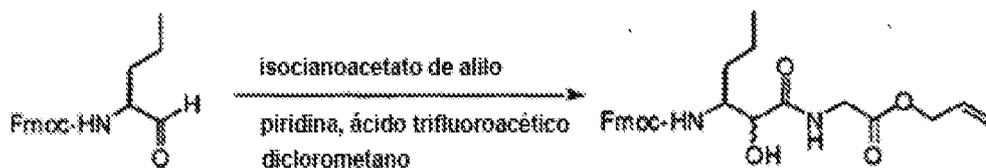
(m, 10H). Análise calculada para  $C_{19}H_{23}N_3O_3$ : C, 66,84; H, 6,79; N, 12,31. Determinada: C, 66,46; H, 6,75; N; 12,90.

b) Síntese de sal trifluoroacetato de difenilmetil semicarbazida (dpssc)



Uma solução de Boc-semicarbazid-4-il difenilmetano (3,43 g, 10 mmol) em diclorometano (12,5 mL) foi tratada com 12,5 mL de ácido trifluoroacético à temperatura ambiente e agitada durante 30 min. A solução foi adicionada gota a gota a 75 mL de éter e o sólido resultante (2,7 g, 80%) foi recolhido por filtração, p.f. 182-184°C.  $^1H$  NMR ( $CD_3OD$ )  $\delta$  6,05 (s, 1H), 7,21-7,35 (m, 10H).  $^{13}C$  NMR ( $CD_3OD$ )  $\delta$  57,6, 118,3 (q,  $CF_3$ ), 126,7, 127,9, 141,6, 156,9, 160,9 (q,  $CF_3CO_2H$ ).

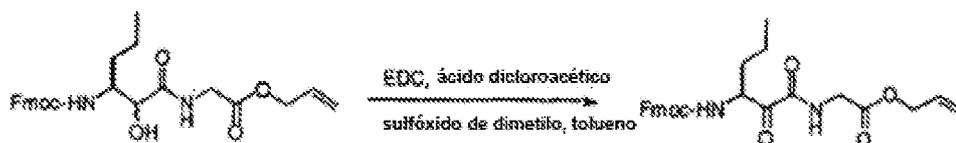
D) Síntese de Fmoc-nVal-(CHOH)-Gly-Oalil:



A uma solução de Fmoc-nVal-CHO (Passo IB) (5,47 g, 16,90 mmol) em diclorometano (170 mL) adicionou-se isocianoacetato de alilo (Passo IA) (2,46 mL, 20,28 mmol) e

piridina (5,47 mL, 67,61 mmol). A mistura reaccional foi arrefecida a 0°C e adicionou-se ácido trifluoroacético (3,38 mL, 33,80 mmol) gota a gota. A reacção foi agitada a 0°C durante 1 h e depois à temperatura ambiente durante 48 horas. A TLC feita em acetato de etilo confirmou que a reacção estava completa. A mistura reaccional foi concentrada e submetida a cromatografia "flash" utilizando 20% a 70% de acetato de etilo em hexanos. As fracções contendo o produto desejado foram combinadas e concentradas até uma espuma branca (6,88 g, 87,3%). TLC em acetato de etilo 50:50 mostra uma mancha ( $R_f = 0,37$ ). NMR  $\delta$  ppm ( $CD_3OD$ ): 7,8 (m, 2H), 7,65 (m, 2H), 7,4 (m, 2H), 7,3 (m, 2H), 5,9 (m, 1H), 5,1-5,4 (m, 2H), 4,55-4,65 (m, 2H), 4,3-4,4 (m, 2H), 4,15-4,25 (m, 1H), 4,01 (s, 1H), 3,9-4,0 (m, 3H), 1,5-1,6 (m, 2H), 1,35-1,45 (m, 3H), 0,9 (m, 3H).

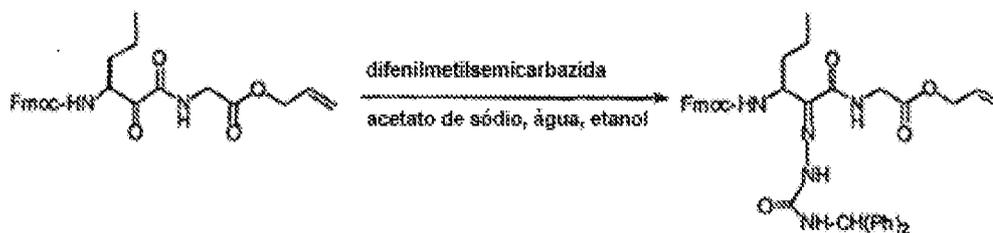
E) Síntese de Fmoc-nVal-(CO)-Gly-Oalil:



A uma solução de Fmoc-nVal-(CHOH)-Gly-Oalil (Passo D) (5,01 g, 10,77 mmol) em sulfóxido de dimetilo (100 mL) e tolueno (100 mL) adicionou-se EDC (20,6 g, 107,7 mmol). A mistura reaccional foi arrefecida a 0°C e adicionou-se ácido dicloroacético (4,44 mL, 53,83 mmol) gota a gota. A reacção foi agitada durante 15 minutos a 0°C

e 1 h à temperatura ambiente. Após reaquecimento até 0°C, adicionou-se água (70 mL) e o tolueno foi removido a pressão reduzida. O resíduo remanescente foi diluído com acetato de etilo e lavado várias vezes com uma solução saturada de bicarbonato de sódio seguida por bissulfato de sódio 1 N e solução aquosa saturada de cloreto de sódio. A camada orgânica foi seca sobre sulfato de sódio, filtrada e concentrada. Considerou-se o rendimento teórico de 4,99 g e a reacção foi utilizada no passo seguinte sem purificação adicional. TLC em acetato de etilo 50:50 mostra uma mancha ( $R_f = 0,73$ ).

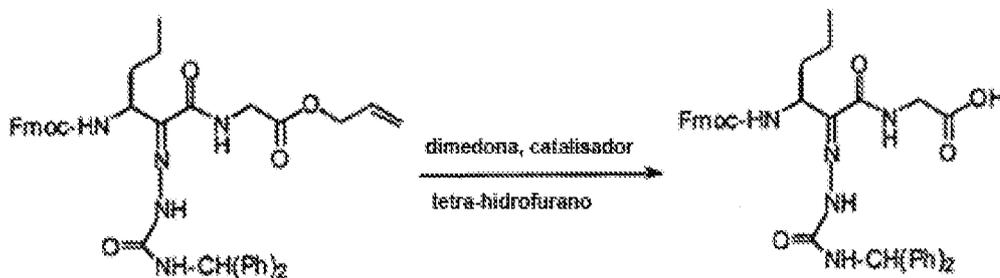
F) Síntese de Fmoc-nVal-(dpsc)-Gly-Oalil:



A uma solução de Fmoc-nVal-(CO)-Gly-Oalil (Passo E) (4,99 g, 10,75 mmol) em etanol (130 mL) e água (42 mL) adicionou-se sal trifluoroacetato de difenilmetil semicarbazida (dpsc) (Passo IC) (7,6 g, 21,5 mmol) e acetato de sódio.3H<sub>2</sub>O (1,76 g, 12,9 mmol), sucessivamente. A mistura reaccional foi aquecida a refluxo durante 90 minutos. Foi confirmado que a reacção estava completa por TLC feita em acetato de etilo:hexano 1:1. O etanol foi

removido a pressão reduzida e o resíduo remanescente foi dissolvido em acetato de etilo e lavado com bissulfato de sódio 1 N (2 x 10 mL), bicarbonato de sódio saturado (2 x 10 mL), seguido por solução aquosa saturada de cloreto de sódio (10 mL). A camada orgânica foi seca, filtrada e concentrada. O resíduo resultante foi purificado por cromatografia "flash" em 20% a 50% de acetato de etilo em hexanos para dar um sólido branco (5,76 g, 78%). A TLC em acetato de etilo:hexanos 50:50 mostrou duas manchas (isômeros cis e trans) com  $R_f = 0,42$  e  $0,5$ .

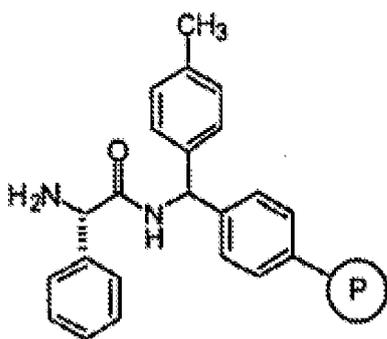
G) Síntese de Fmoc-nVal-(dpSC)-Gly-OH:



A uma solução de Fmoc-nVal-(dpSC)-Gly-Oalil (Passo IG) (4,53 g, 6,59 mmol) em tetra-hidrofurano (300 mL) adicionou-se dimedona (4,62 g, 32,97 mmol) seguida por catalisador de tetraquis(trifenilfosfina)paládio(0) (0,76 g, 0,66 mmol). Foi confirmado que a reacção estava completa por TLC após 90 minutos utilizando diclorometano:metanol 9:1. A mistura reaccional foi concentrada e o resíduo remanescente foi dissolvido em acetato de etilo e lavado três vezes com porções de 50 mL de bifosfato de potássio

0,1 M. A camada orgânica foi depois tratada com 50 mL de bissulfito de sódio e o sistema bifásico foi agitado durante 15 minutos. As fases foram separadas e o procedimento foi repetido mais duas vezes. A camada orgânica foi seca e concentrada e submetida a cromatografia "flash" com 20% a 100% de acetato de etilo em hexanos. Esta foi seguida de solução de diclorometano:metanol 9:1. As fracções correspondentes ao produto puro foram combinadas e concentradas para se obter um sólido branco (3,99 g, 94%). A TLC em diclorometano:metanol 9:1 mostrou duas manchas (isómeros cis e trans). NMR  $\delta$  ppm ( $\text{CD}_3\text{OD}$ ): 7,75 (m, 2H), 7,6 (m, 3H), 7,2-7,4 (m, 14H), 6,1-6,2 (m, 1H), 4,25-4,4 (m, 2H), 4,1-4,2 (m, 2H), 3,85 (s, 2H), 1,6-1,8 (m, 2H), 1,3-1,5 (m, 2H), 0,95 (t, 3H).

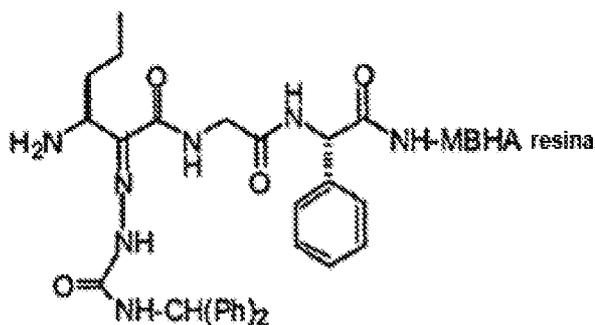
Passo 2. Síntese de resina H-Phg-MBHA:



A resina MBHA disponível comercialmente (2,6 g, 1,12 mmol/g, 2,91 mmol) foi transferida para um vaso reaccional de fase sólida com frita de 250 mL equipado com uma entrada de azoto. Foi depois muito bem lavado com

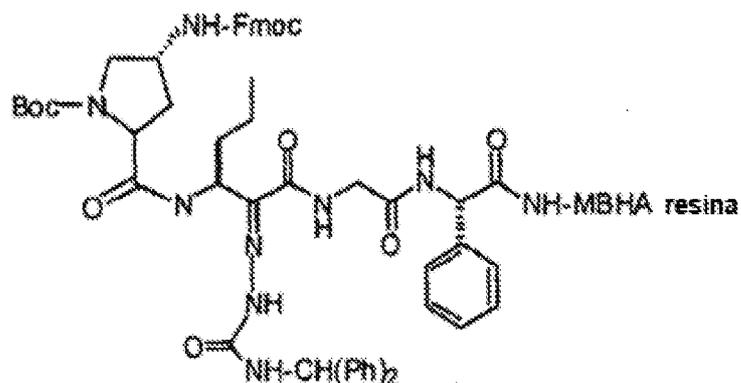
porções de 30 mL de diclorometano, metanol, dimetilformamida e diclorometano e condensado ao longo de 18 horas ao Fmoc-Phg-OH disponível comercialmente (2,17 g, 5,82 mmol) de acordo com o Procedimento A com 99,82% de eficiência. A resina foi depois submetida a desprotecção de Fmoc de acordo com o procedimento B. Um ensaio qualitativo com ninidrina numa pequena alíquota deu resina e solução azul escura, indicando uma reacção com êxito.

Passo 3. Síntese de resina H-nVal(dpsc)-Gly-Phq-MBHA:



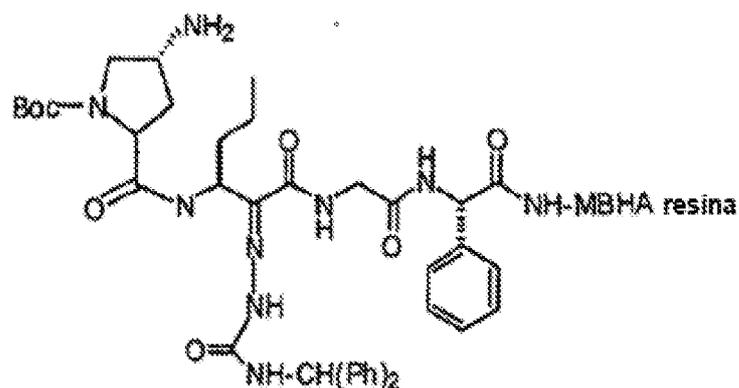
Fez-se reagir a resina obtida no passo II (2,6 g, 0,8 mmol/g, 2,91 mmol) com Fmoc-nVal-(dpsc)-Gly-Oalil (Passo IG) (5,82 mmol, 3,7 g) de acordo com o Procedimento A. Após 18 horas, a análise quantitativa com ninidrina indicou 99,91% de eficiência de condensação. A resina foi submetida a desprotecção de Fmoc de acordo com o procedimento B. Um ensaio qualitativo com ninidrina numa pequena alíquota deu resina e solução azul escura, indicando uma reacção com êxito.

Passo 4. Síntese de resina Boc-Pro(4t-NHFmoc)-nVal(dpsc)-Gly-Phg-MBHA:



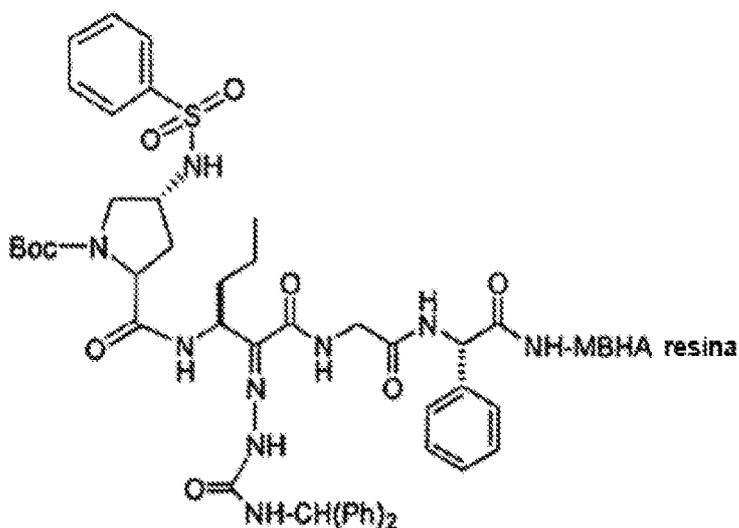
O composto resina H-nVal(dpsc)-Gly-Phg-MBHA (Passo 3 acima) (600 mg, 0,8 mmol/g, 0,67 mmol) foi transferida para um tubo de polipropileno com frita e foi condensado com Boc-Pro(4t-NHFmoc)-OH (Exemplo VI, Passo 3) (610 mg, 1,34 mmol) de acordo com o procedimento A. Após 18 horas, a análise quantitativa com ninidrina indicou uma eficiência de condensação de 99,96%.

Passo 5. Síntese de resina Boc-Pro(4t-NH<sub>2</sub>)-nVal(dpsc)-Gly-Phg-MBHA:



A resina do passo anterior (Boc-Pro(4t-NHFmoc)-nVal(dpsc)-Gly-PhgMBHA resina) foi submetida a desprotecção de Fmoc de acordo com o procedimento B. Um ensaio qualitativo com ninidrina numa pequena alíquota deu resina e solução azul escura, indicando uma reacção com êxito. Um ensaio qualitativo com ninidrina numa pequena alíquota deu resina e solução azul escura, indicando uma reacção com êxito.

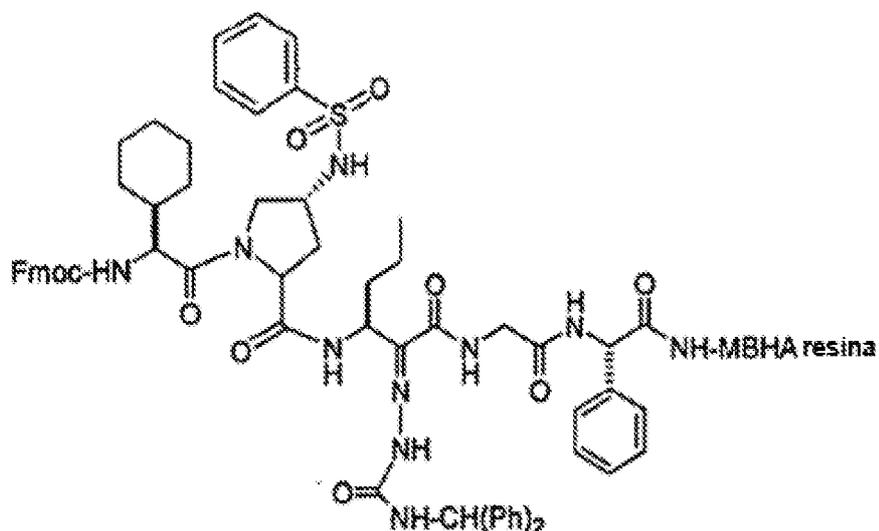
Passo 6. Síntese de resina Boc-Pro(4t-NHSO<sub>2</sub>Bn)-nVal(dpsc)-Gly-Phg-MBHA:



À resina obtida no passo anterior (resina Boc-Pro(4t-NH<sub>2</sub>)-nVal(dpsc)Gly-Phg-MBHA) (0,2 g, 0,22 mmol) suspensa em NMP (2 mL) adicionou-se 2,4,6-colidina (0,24 mL, 1,79 mmol) e cloreto de benzenossulfonilo e a reacção foi agitada durante 18 horas. O solvente foi escorrido e a

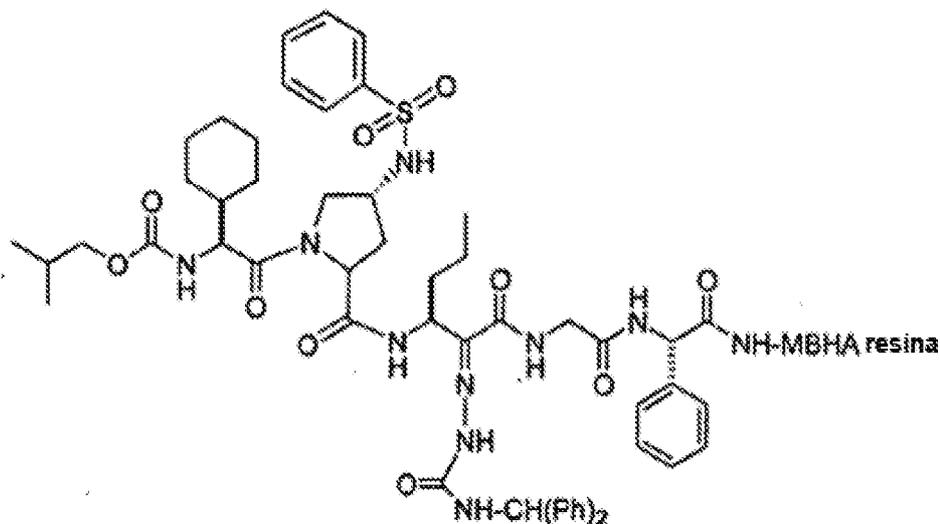
resina foi bem lavada com porções de 2 mL de diclorometano, metanol, dimetilformamida e diclorometano. A análise qualitativa com ninidrina mostrou pérolas e solução incolores indicando uma reação com êxito.

Passo 7. Síntese de resina Fmoc-G(Chx)-Pro(4t-NHSO<sub>2</sub>Bn)-nVal(dpsc)-Gly-Phg-MBHA:



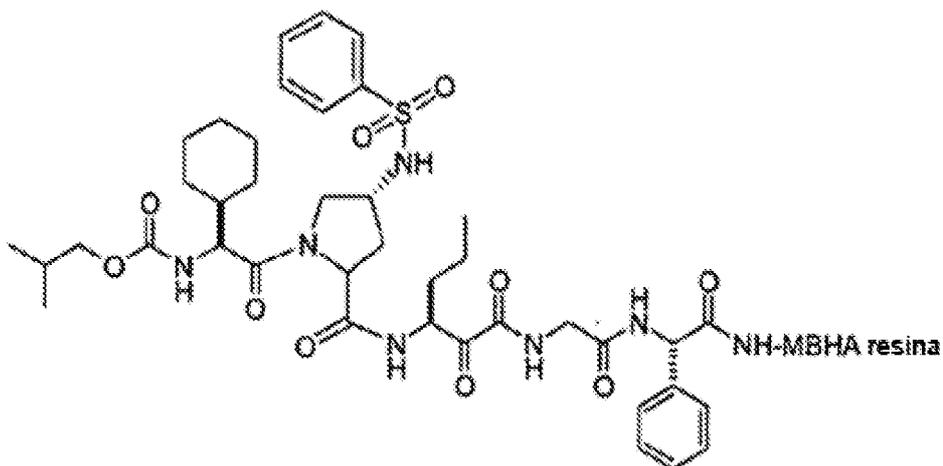
A resina obtida no passo anterior (resina Boc-Pro(4t-NHSO<sub>2</sub>Bn)-nVal(dpsc)Gly-Phg-MBHA) foi submetida ao procedimento de desproteção de Boc de acordo com o Procedimento C. Fmoc-G(Chx) (0,17 g, 0,45 mmol) foi depois condensado de acordo com o procedimento A. Após 18 horas a análise qualitativa com ninidrina mostrou pérolas incolores e a análise quantitativa com ninidrina indicou uma eficiência de condensação de 99,79%.

Passo 8. Síntese de resina iBoc-G(Chx)-Pro(4t-NHSO<sub>2</sub>Bn)-  
nVal(dpsc)-Gly-Phg-MBHA:



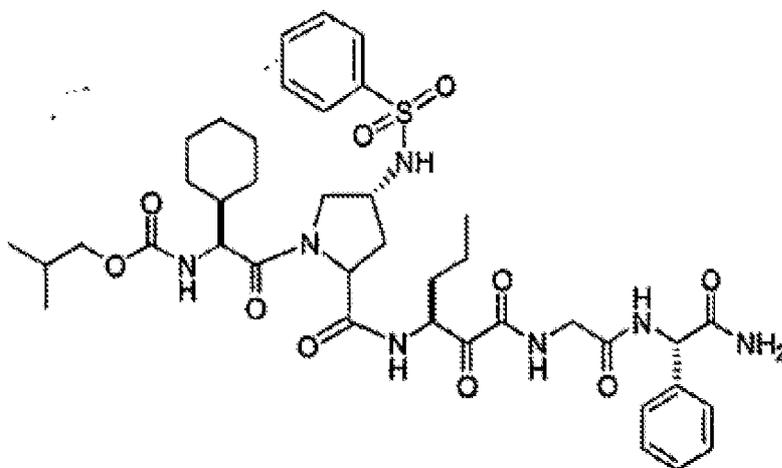
A resina obtida no passo anterior (resina Fmoc-G(Chx)-Pro(4t-NHSO<sub>2</sub>Bn)nVal(dpsc)-Gly-Phg-MBHA) foi submetida a desprotecção de Fmoc de acordo com o procedimento B. Um ensaio com ninidrina numa pequena alíquota deu resina e solução azul escura, indicando uma reacção com êxito. À resina (0,2 g, 0,22 mmol) suspensa em 2 mL de NMP adicionou-se cloroformato de isobutilo (0,12 mL, 0,90 mmol) seguido por diisopropiletilamina (0,31 mL, 1,79 mmol), e a mistura reaccional foi agitada durante 18 horas à temperatura ambiente. A análise qualitativa com ninidrina mostrou pérolas e solução incolores indicando uma reacção com êxito.

Passo 9. Síntese de resina iBoc-G(Chx)-Pro(4t-NHSO<sub>2</sub>Bn)-nVal(CO)-Gly-Phg-MBHA:



O composto do passo anterior (resina iBoc-G(Chx)-Pro(4t-NHSO<sub>2</sub>Bn)nVal(dp<sub>sc</sub>)-Gly-Phg-MBHA) (200 mg) foi submetido ao Procedimento D de hidrólise da semicarbazona.

Passo 10. Síntese da Síntese de iBoc-G(Chx)-Pro(4t-NHSO<sub>2</sub>Bn)-nVal(CO)-Gly-Phg-NH<sub>2</sub>:

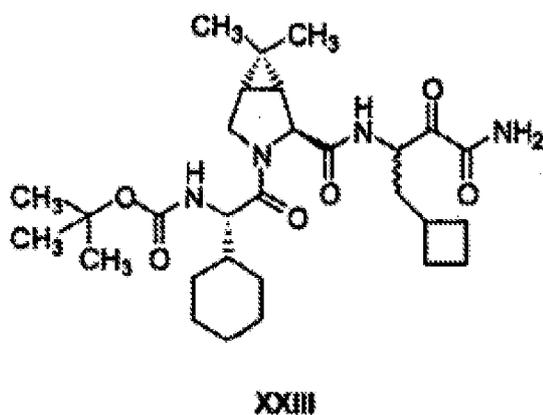


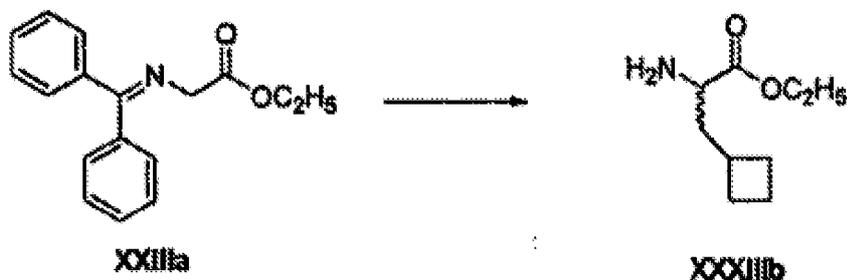
A resina do passo anterior (resina iBoc-G(Chx)-Pro(4t-NHSO<sub>2</sub>Bn)-nVal(CO)Gly-Phg-MBHA) (100 mg) foi subme-

tida a condições de clivagem com HF (Procedimento E) para dar o produto em bruto desejado. O material foi purificado por HPLC utilizando uma coluna de fase inversa de 2,2 x 25 cm, contendo uma resina C-18 constituída por partículas de gel de sílica com tamanho de 10 micrometros com um tamanho dos poros de 300 angstrom, eluindo com um gradiente utilizando 20-50% de acetonitrilo em água. A HPLC analítica utilizando uma coluna de fase inversa de 4,6 x 250 mm, contendo uma resina C-18 constituída por partículas de gel de sílica com tamanho de 5 micrometros com um tamanho dos poros de 300 angstrom, eluindo com 25-75% de acetonitrilo (contendo 0,1% de ácido trifluoroacético) mostrou um pico aos 13,5 minutos. O espectro de massa de baixa resolução confirmou a massa desejada ( $MH^+$  826,4).

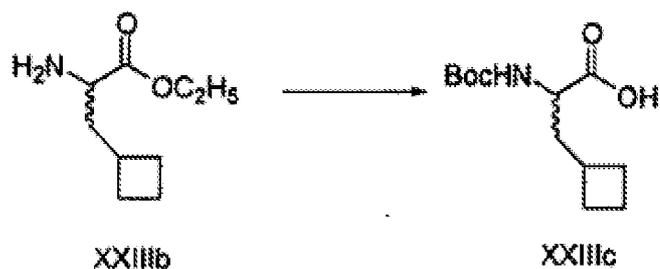
#### IV. Compostos adicionais preparados por síntese em fase de solução:

Exemplo XXIII: Preparação de um composto de Fórmula XXIII:



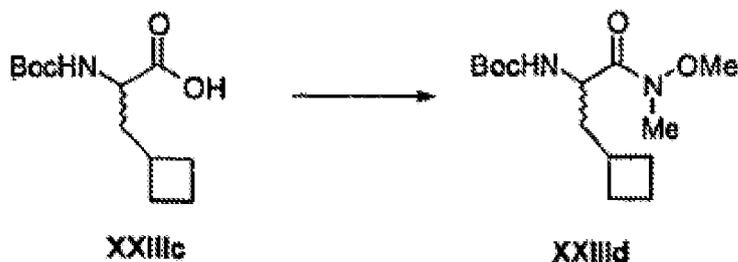
Passo 1

Uma solução com agitação de cetimina **XXIIIa** (50 g, 187,1 mmol) sob  $N_2$  em THF seco (400 mL) foi arrefecida a  $-78^\circ C$  e tratada com solução 1 M de  $K^+tBuO^-$  (220 mL, 1,15 equiv.) em THF. A mistura reaccional foi aquecida a  $0^\circ C$  e agitada durante 1 h e tratada com bromometil ciclobutano (28 mL, 249 mmol). A mistura reaccional foi agitada à temperatura ambiente durante 48 h e concentrada em vácuo. O resíduo foi dissolvido em  $Et_2O$  (300 mL) e tratado com HCl aquoso (2 M, 300 mL). A solução resultante foi agitada à temperatura ambiente durante 5 h e extraída com  $Et_2O$  (1 L). A camada aquosa foi tornada básica até pH -12-14 com NaOH (aquoso a 50%) e extraída com  $CH_2Cl_2$  (3x300 mL). As camadas orgânicas combinadas foram secas ( $MgSO_4$ ), filtradas, e concentradas para dar amina (**XXIIIb**, 18 g) pura como um óleo incolor.

Passo 2.

Uma solução de amina **XXIIIb** (18g, 105,2 mmol) a 0°C em CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (350 mL) foi tratada com dicarbonato de di-terc-butilo (23 g, 105,4 mmol) e agitada à t.a. durante 12 h. Depois de completada a reacção (TLC), a mistura reaccional foi concentrada em vácuo e o resíduo foi dissolvido em THF/H<sub>2</sub>O (200 mL, 1:1 ) e tratada com LiOH.H<sub>2</sub>O (6,5 g, 158,5 mmol) e agitada à temperatura ambiente durante 3 h. A mistura reaccional foi concentrada e a camada aquosa básica foi extraída com Et<sub>2</sub>O. A camada aquosa foi acidificada com HCl concentrado até pH~1-2 e extraída com CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>. As camadas orgânicas combinadas foram secas (MgSO<sub>4</sub>), filtradas e concentradas em vácuo para dar **XXIIIc** como um óleo viscoso incolor que foi utilizado no passo seguinte sem qualquer purificação adicional.

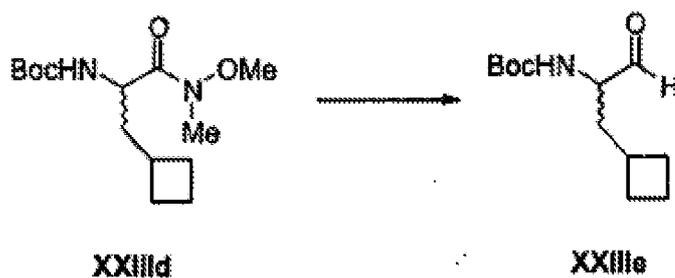
Passo 3.



Uma solução de ácido **XXIIIc** (15,0 g, 62 mmol) em CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (250 mL) foi tratada com reagente BOP (41,1 g, 93 mmol), N-metil morfolina (27 mL), cloridrato de N,O-dimetil hidroxilamina (9,07 g, 93 mmol) e agitada de um dia para o outro à t.a. A mistura reaccional foi diluída com HCl aq. 1 N (250 mL), e as camadas foram separadas e a camada aquosa foi extraída com CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (3x300 mL). As camadas orgânicas combinadas foram secas (MgSO<sub>4</sub>), filtradas e concentradas em

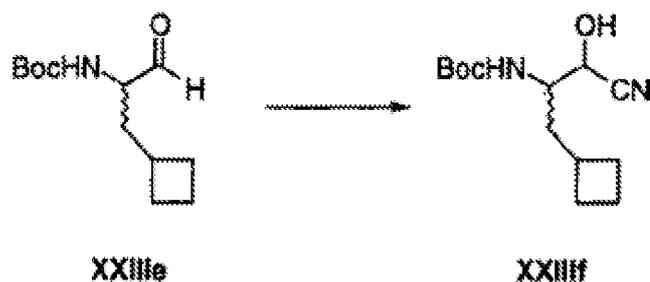
vácuo e purificadas por cromatografia ( $\text{SiO}_2$ , EtOAc/hexano 2:3) para dar a amida **XXIIIId** (15,0 g) como um sólido incolor.

Passo 4.



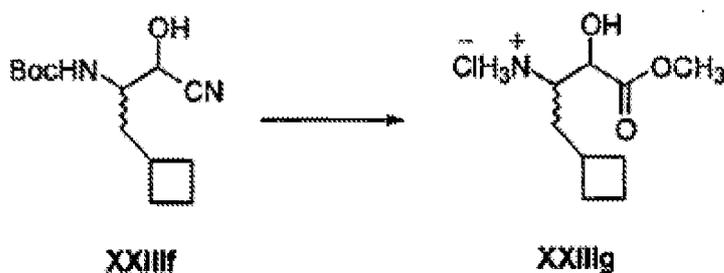
Uma solução de amida **XXIIIId** (15 g, 52,1 mmol) em THF seco (200 mL) foi tratada gota a gota com a solução de  $\text{LiAlH}_4$  (1 M, 93 mL, 93 mmol) a  $0^\circ\text{C}$ . A mistura reaccional foi agitada à temperatura ambiente durante 1 h e cuidadosamente desactivada a  $0^\circ\text{C}$  com uma solução de  $\text{KHSO}_4$  (aquoso a 10%) e agitada durante 0,5 h. A mistura reaccional foi diluída com HCl aquoso (1 M, 150 mL) e extraída com  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (3x200 mL), As camadas orgânicas combinadas foram lavadas com HCl aquoso (1 M),  $\text{NaHCO}_3$  saturado, solução aquosa saturada de cloreto de sódio, e secas ( $\text{MgSO}_4$ ). A mistura foi filtrada e concentrada em vácuo para dar **XXIIIe** como um óleo incolor viscoso (14 g).

Passo 5.



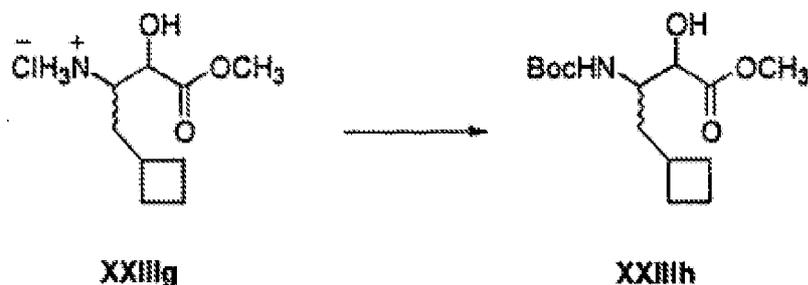
Uma solução do aldeído **XXIIIe** (14 g, 61,6 mmol) em  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (50 mL), foi tratada com  $\text{Et}_3\text{N}$  (10,73 mL, 74,4 mmol), e cianidrina de acetona (10,86 g, 127,57 mmol) e agitada à temperatura ambiente durante 24 horas. A mistura reaccional foi concentrada em vácuo e diluída com aq. HCl (1 M, 200 mL) e extraída com  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (3x200 mL). As camadas orgânicas combinadas foram lavadas com  $\text{H}_2\text{O}$ , solução aquosa saturada de cloreto de sódio, secas ( $\text{MgSO}_4$ ), filtradas, concentradas em vácuo e purificadas por cromatografia ( $\text{SiO}_2$ , EtOAc/Hex 1:4) para dar **XXIII f** (10,3 g) como um líquido incolor.

Passo 6.

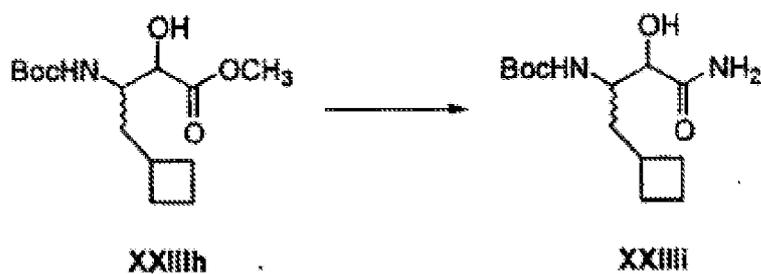


Metanol saturado com HCl\*, preparado fazendo borbulhar HCl gasoso em  $\text{CH}_3\text{OH}$  (700 mL) a  $0^\circ\text{C}$ , foi tratado com a cianidrina **XXIII f** e aquecido a refluxo durante 24 h. A reacção foi concentrada em vácuo para dar **XXIII g**, que foi utilizada no passo seguinte sem purificação.

\*Alternativamente também pode ser utilizado HCl 6 M preparado por adição de AcCl a metanol seco.

Passo 7.

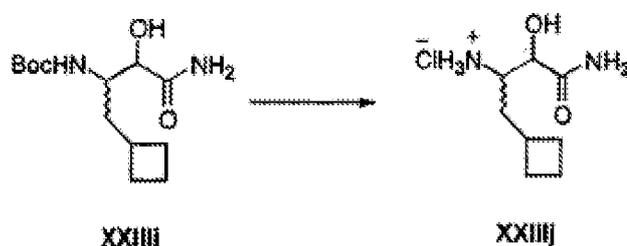
Uma solução do cloridrato da amina **XXIIIg** em  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (200 mL) foi tratada com  $\text{Et}_3\text{N}$  (45,0 mL, 315 mmol) e  $\text{Boc}_2\text{O}$  (45,7g, 209 mmol) a  $-78^\circ\text{C}$ . A mistura reaccional foi depois agitada à temperatura ambiente de um dia para o outro e diluída com  $\text{HCl}$  (2 M, 200 mL) e extraída com  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ . As camadas orgânicas combinadas foram secas ( $\text{MgSO}_4$ ) filtradas, concentradas em vácuo e purificadas por cromatografia (EtOAc/Hex 1:4) para dar o hidroxí éster **XXIIIh**.

Passo 8.

Uma solução de éster metílico **XXIIIh** (3 g, 10,5 mmol) em THF/ $\text{H}_2\text{O}$  (1:1) foi tratada com  $\text{LiOH}\cdot\text{H}_2\text{O}$  (645 mg, 15,75 mmol) e agitada à t.a. durante 2 h. A mistura reaccional foi acidificada com  $\text{HCl}$  aquoso (1 M, 15 mL) e concentrada em vácuo. O resíduo foi seco em vácuo.

Uma solução do ácido em  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (50 mL) e DMF (25 mL) foi tratada com  $\text{NH}_4\text{Cl}$  (2,94 g, 55,5 mmol), EDCI (3,15 g, 16,5 mmol), HOObt (2,69 g, 16,5 mmol) e NMM (4,4 g, 44 mmol). A mistura reaccional foi agitada à temperatura ambiente durante 3 dias. Os solventes foram removidos em vácuo e o resíduo foi diluído com HCl aquoso (250 mL) e extraído com  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ . As camadas orgânicas combinadas foram lavadas com  $\text{NaHCO}_3$  aquoso saturado, secas ( $\text{MgSO}_4$ ), filtradas e concentradas em vácuo para obter **XXIIIi**, que foi utilizado tal e qual nos passos seguintes. (Alternativamente **XXIIIi** também pode ser obtido directamente por uma reacção de **XXIII f** (4,5 g, 17,7 mmol) com  $\text{H}_2\text{O}_2$  aquoso (10 mL),  $\text{LiOH}\cdot\text{H}_2\text{O}$  (820 mg, 20,8 mmol) a  $0^\circ\text{C}$  em 50 mL de  $\text{CH}_3\text{OH}$  durante 0,5 h.)

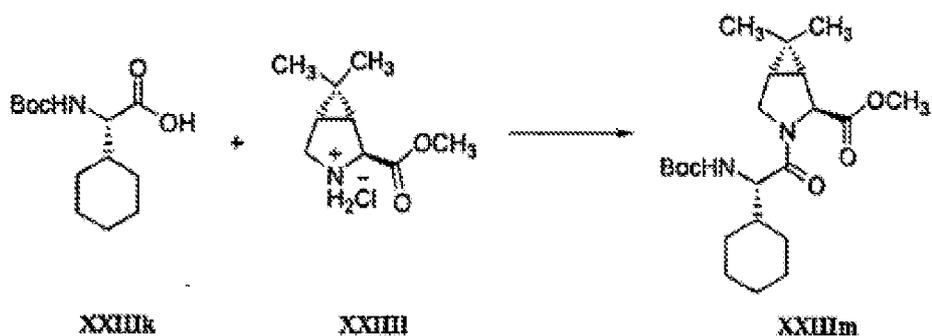
Passo 9.



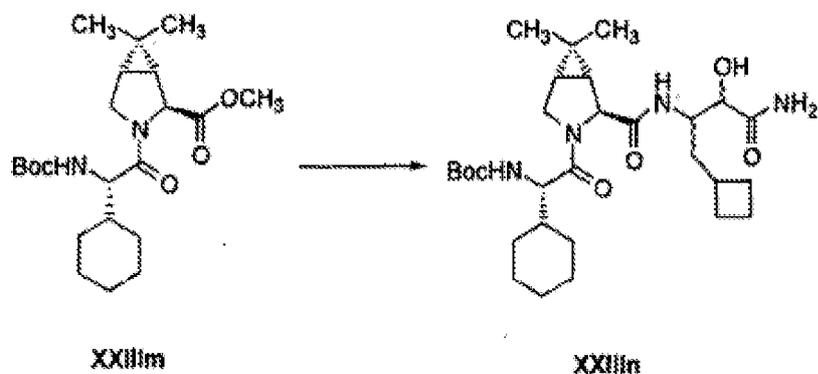
Uma solução de **XXIIIi** obtida no passo anterior foi dissolvida em HCl 4 N em dioxano e agitada à t.a. durante 2 h. A mistura reaccional foi concentrada em vácuo

para dar **XXIIIj** como um sólido, que foi utilizado sem purificação adicional.

Passo 10.

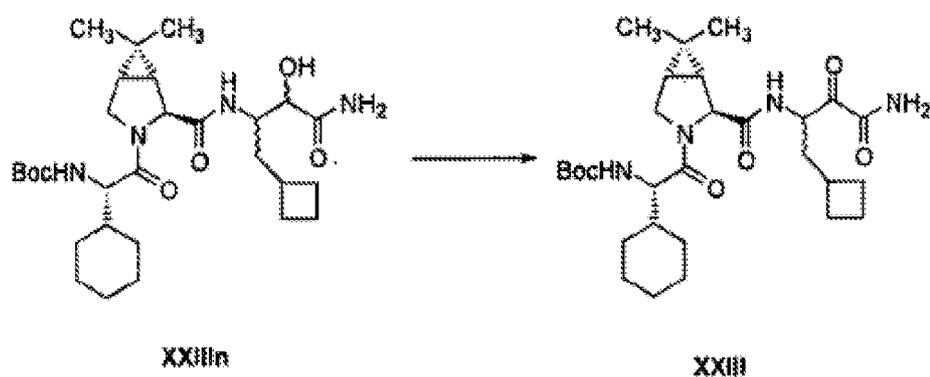


O amino éster **XXIII** foi preparado seguindo o método de R. Zhang e J. S. Madalengoitia (*J. Org. Chem.* 1999, 64, 330), com a exceção de que o grupo Boc foi clivado por uma reacção do aminoácido protegido com Boc com HCl metanólico. Uma solução de aminoácido Boc-Chg-OH comercial, **XXIIIk** (Senn Chemicals, 6,64 g, 24,1 mmol) e cloridrato da amina **XXIII** (4,5 g, 22 mmol) em CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (100 mL) a 0°C foi tratada com reagente BOP e agitada à t.a.. durante 15 h. A mistura reaccional foi concentrada em vácuo, depois foi diluída com HCl aquoso 1 M e extraída com EtOAc (3x200 mL). As camadas orgânicas combinadas foram lavadas com NaHCO<sub>3</sub> saturado (200 mL), secas (MgSO<sub>4</sub>), filtradas e concentradas em vácuo, e cromatografadas (SiO<sub>2</sub>, EtOAc/Hex 3:7) para se obter **XXIIIIm** (6,0 g) como um sólido incolor.

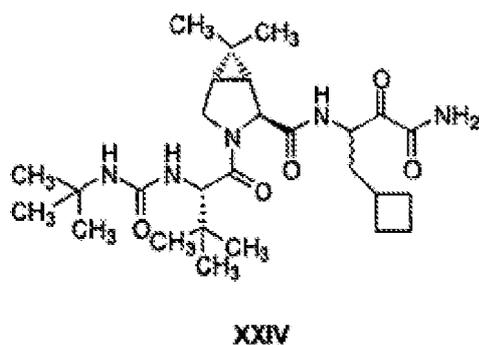
Passo 11.

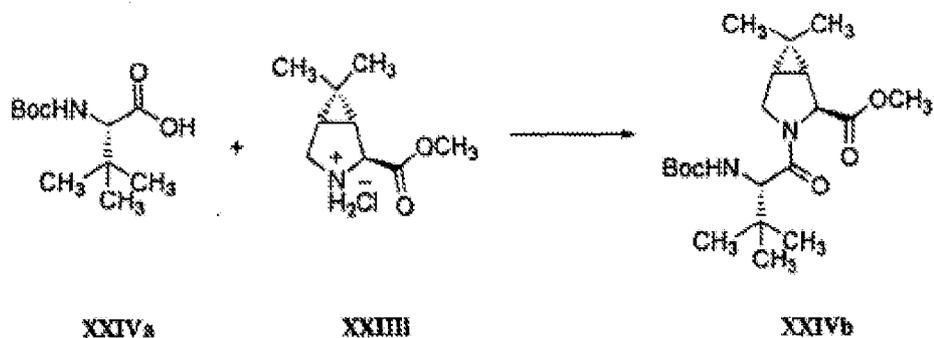
Uma solução de éster metílico **XXIIIIm** (4,0 g, 9,79 mmol) em THF/H<sub>2</sub>O (1:1) foi tratada com LiOH.H<sub>2</sub>O (401 mg, 9,79 mmol) e agitada à t.a. durante 3 h. A mistura reaccional foi acidificada com HCl aquoso e concentrada em vácuo para obter o ácido livre.

Uma solução de ácido (1,5 g, 3,74 mmol) em DMF/CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (1:1, 50 mL) foi tratada com amina **XXIIIJ** (772 mg, 3,74 mmol), EDCI (1,07 g, 5,61 mmol), HOObt (959 mg, 5,61 mmol) e NMM (2,15 mL, 14,96 mmol) a -10°C. A mistura reaccional foi agitada a 0°C durante 48 h e concentrada em vácuo. O resíduo foi diluído com HCl aquoso 1 M e extraído com CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>. As camadas orgânicas combinadas foram extraídas com NaHCO<sub>3</sub> aquoso, HCl aquoso, solução aquosa saturada de cloreto de sódio, secas (MgSO<sub>4</sub>), filtradas e concentradas em vácuo para se obter **XXIIIIn** (2,08 g) como um sólido de cor castanha dourada.

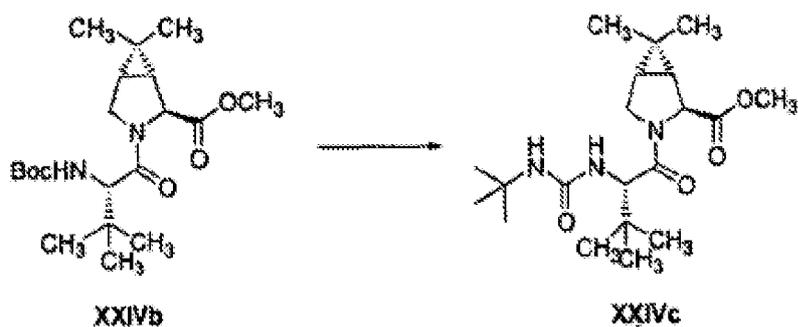
Passo 12.

Uma solução de amida **XXIIIIn** (2,08 g, 3,79 mmol) em tolueno e DMSO (1:1, 20 mL) a 0°C foi tratada com EDCI (7,24 g, 37,9 mmol) e ácido dicloroacético (2,42 g, 19,9 mmol) e agitada à t.a. durante 4 h. A mistura reaccional foi diluída com CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, lavada com NaHCO<sub>3</sub> saturado e solução aquosa saturada de cloreto de sódio. As camadas orgânicas foram secas (MgSO<sub>4</sub>), filtradas, concentradas em vácuo e purificadas por cromatografia (SiO<sub>2</sub>, acetona/hexanos 3:7) para dar **XXIII** como um sólido incolor.

Exemplo XXIV Preparação de um composto de fórmula XXIV:

Passo 1.

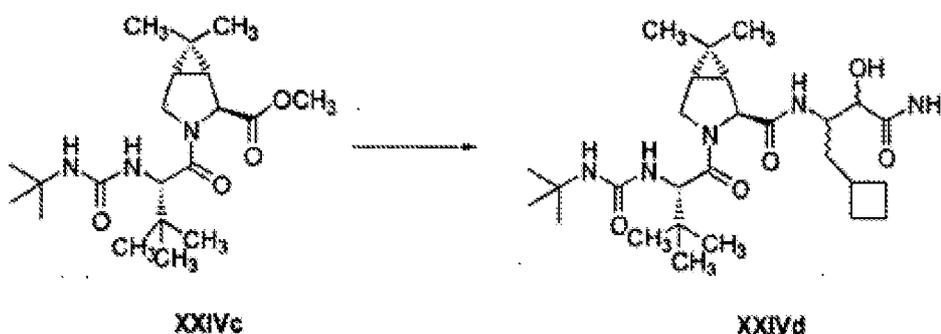
Uma solução de Boc-terc-Lue **XXIVa** (Fluka, 5,0 g, 21,6 mmol) em  $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{DMF}$  secos (50 mL, 1:1) foi arrefecida a  $0^\circ\text{C}$  e tratada com a amina **XXIII** (5,3 g, 25,7 mmol), NMM (6,5 g, 64,8 mmol) e reagente BOP (11,6 g, 25,7 mmol). A reacção foi agitada à t.a. durante 24 h, diluída com HCl aquoso (1 M) e extraída com  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ . As camadas orgânicas combinadas foram lavadas com HCl (aquoso, M),  $\text{NaHCO}_3$  saturado, solução aquosa saturada de cloreto de sódio, secas ( $\text{MgSO}_4$ ), filtradas e concentradas em vácuo e purificadas por cromatografia ( $\text{SiO}_2$ , acetona/hexano 1:5) para dar **XXIVb** como um sólido incolor.

Passo 2.

Uma solução de éster metílico **XXIVb** (4,0 g, 10,46 mmol) foi dissolvida em HCl (solução 4 M em dioxano) e agitada à t.a.. durante 3 h. A mistura reaccional foi concentrada em vácuo para se obter o sal cloridrato da amina utilizado no passo seguinte.

Uma solução do sal cloridrato da amina (397 mg, 1,24 mmol) em CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (10 mL) foi arrefecida a -78°C e tratada com isocianato de *terc*-butilo (250 mg, 2,5 mmol) e agitada à t.a. de um dia para o outro. A mistura reaccional foi concentrada em vácuo e o resíduo foi diluído com HCl aquoso (1 M) e extraída com CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>. As camadas orgânicas combinadas foram lavadas com HCl aquoso (1 M), NaHCO<sub>3</sub> saturado e solução aquosa saturada de cloreto de sódio. As camadas orgânicas foram secas, filtradas e concentradas em vácuo e o resíduo foi purificado por cromatografia (SiO<sub>2</sub>, acetona/hexano 1:4) para dar **XXIVc** como um sólido incolor.

Passo 3.

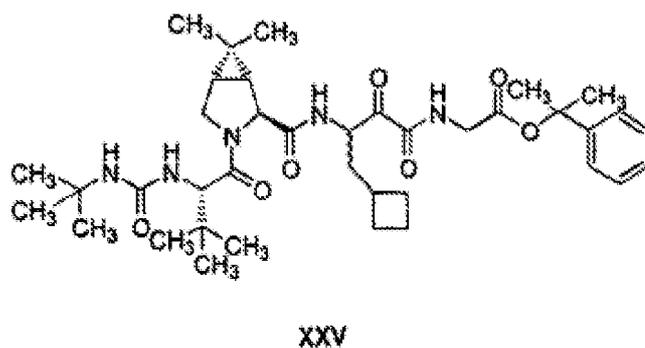


Uma solução de éster metílico **XXIVc** (381 mg, 1,0

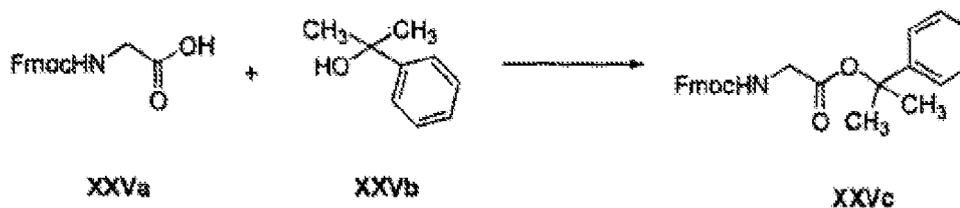


mmol) e agitada a 0°C durante 4 h. A mistura reaccional foi diluída com CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, e lavada com NaHCO<sub>3</sub> saturado e solução aquosa saturada de cloreto de sódio. A camada orgânica foi seca (MgSO<sub>4</sub>), filtrada, concentrada em vácuo e purificada por cromatografia (SiO<sub>2</sub>, acetona/hexanos 3:7) para dar **XXIV** como um sólido incolor.

**Exemplo XXV** Preparação de um composto de fórmula XXV:



Passo 1.



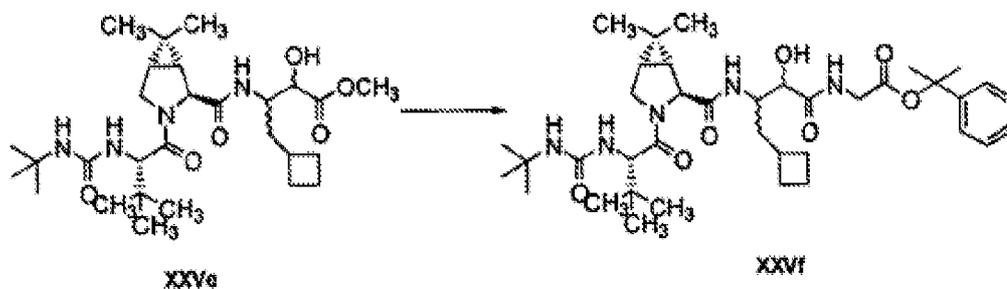
Uma solução de Fmoc-glicina (Bachem, 2,0 g, 6,87 mmol) em CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (20 mL) foi tratada com 2-fenil-2-propanol (Aldrich, 3,36 g, 24,7 mmol), DCC (solução 1 M em CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>) 8,24 mL, DMAP (167 mg, 1,37 mmol) e agitada à t.a.. durante 24 h. A mistura reaccional foi concentrada em vácuo e diluída com Et<sub>2</sub>O (100 mL). O sólido que se separou foi



Uma solução de éster metílico **XXIVc** (381 mg, 1,0 mmol) em THF/H<sub>2</sub>O (1:1, 5 mL) foi tratada com LiOH.H<sub>2</sub>O (62 mg, 1,5 mmol) e agitada à t.a. durante 3 h. A mistura reaccional foi acidificada com HCl aquoso e concentrada em vácuo para se obter o ácido livre.

Uma solução de ácido (2,0 g, 5,5 mmol) em DMF/CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (1:1, 40,0 mL) a -10°C foi tratada com amina **XXIIIg** (1,51 g, 6,8 mmol), EDCI (1,57 g, 8,25 mmol), HOObt (1,41 g, 8,25 mmol) e NMM (2,5 g, 24,7 mmol). A mistura reaccional foi agitada a 0°C durante 48 h e concentrada em vácuo. O resíduo foi diluído com HCl aquoso 1 M (100 mL) e extraído com CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (3x100 mL). As camadas orgânicas combinadas foram extraídas com NaHCO<sub>3</sub> aquoso, HCl aquoso, solução aquosa saturada de cloreto de sódio, secas (MgSO<sub>4</sub>) filtradas e concentradas em vácuo para se obter **XXVe** (3,17 g) como um sólido de cor castanha dourada utilizado a seguir sem qualquer purificação.

Passo 4.

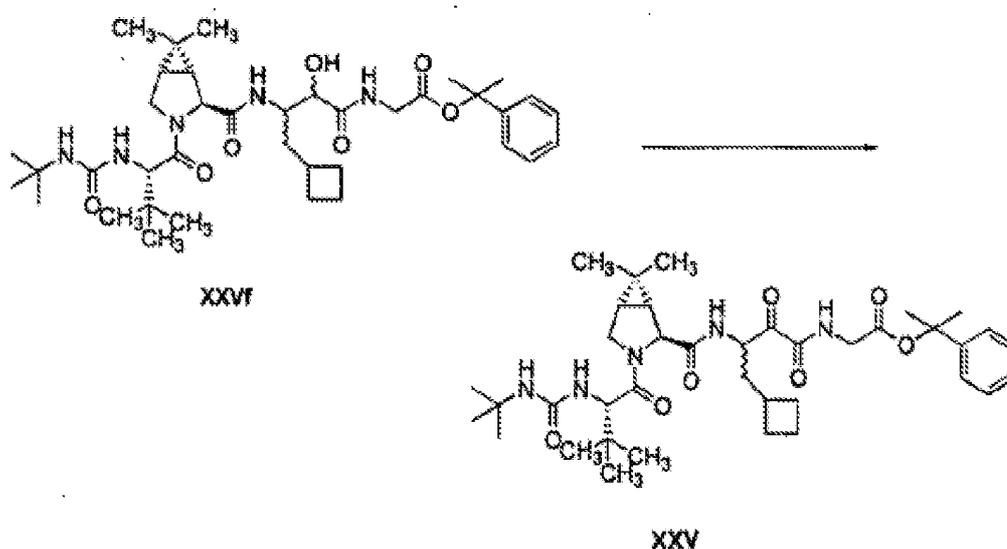


Uma solução de éster metílico **XXVe** (2,5 g, 4,66

mmol) em THF/H<sub>2</sub>O/CH<sub>3</sub>OH (1:1:1, 60 mL) foi tratada com LiOH.H<sub>2</sub>O (200 mg, 4,87 mmol) e agitada à t.a. durante 4 h. A mistura reaccional foi acidificada com HCl aquoso e concentrada em vácuo para se obter o ácido livre.

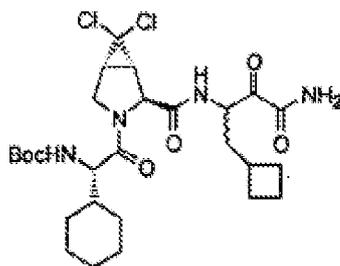
Uma solução de ácido (200,0 mg, 0,38 mmol) em DMF/CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (1:1, 6,0 mL) a 10°C foi tratada com amina **xxvd** (78 mg, 0,4 mmol), EDCI (105 mg, 0,55 mmol), HOObt (95 mg, 0,55 mmol) e NMM (150 mg, 1,48 mmol). A mistura reaccional foi agitada a 0°C durante 48 h e concentrada em vácuo. O resíduo foi diluído com HCl aquoso 1 M (30 mL) e extraído com CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (3x30 mL). As camadas orgânicas combinadas foram extraídas com NaHCO<sub>3</sub> aquoso (2x30 mL), HCl aquoso, solução aquosa saturada de cloreto de sódio (30 mL), secas (MgSO<sub>4</sub>) filtradas e concentradas em vácuo para se obter **xxvf** (240 mg) como um sólido de cor castanha dourada.

Passo 5.



Uma solução de **XXVf** (240 mg, 0,28 mmol) em  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (10 mL) foi tratada com reagente de Dess-Martin (Omega, 242 mg, 0,56 mmol) e agitada à t.a. durante 2 h. Depois de a oxidação estar completa (TLC, acetona/hexano 1:4) a mistura reaccional foi diluída com  $\text{NaHCO}_3$  saturado (20 mL) e  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$  (solução aquosa a 10%, 20 mL). A mistura reaccional foi agitada durante 30 min e extraída com  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (3x30 mL). As camadas orgânicas combinadas foram extraídas com  $\text{NaHCO}_3$  saturada, solução aquosa saturada de cloreto de sódio, secas ( $\text{MgSO}_4$ ), filtradas e concentradas em vácuo e purificadas por cromatografia ( $\text{SiO}_2$ , acetona/hexanos 1:5) para dar **XXV** (122 mg) como um sólido incolor.

**Exemplo XXVI** Preparação de um composto de fórmula XXVI:



**XXVI**

Passo 1:



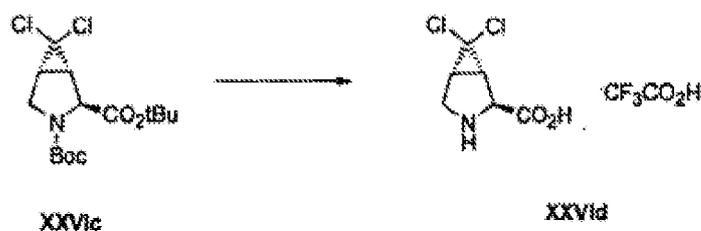
A uma solução com agitação de N-Boc-3,4-

desidroprolina **XXVIa** (5,0 g, 23,5 mmol), dicarbonato de di-terc-butilo (7,5 g, 34,4 mmol) e 4-*N,N*-dimetilaminopiridina (0,40 g, 3,33 mmol) em acetonitrilo (100 mL) à temperatura ambiente adicionou-se trietilamina (5,0 mL, 35,6 mmol). A solução resultante foi agitada a esta temperatura durante 18 h antes de ser concentrada em vácuo. O resíduo castanho escuro foi purificado por cromatografia em coluna "flash" eluindo com 10-25% de EtOAc/hexano para dar o produto **XXVIb** como um óleo amarelo pálido (5,29 g, 84%).

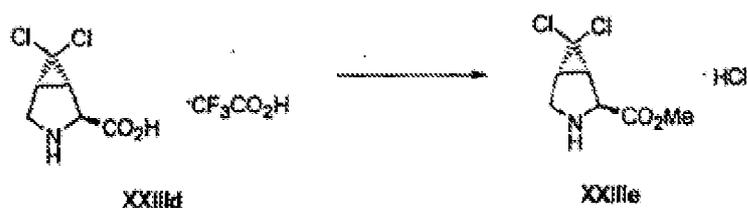
Passo 2:



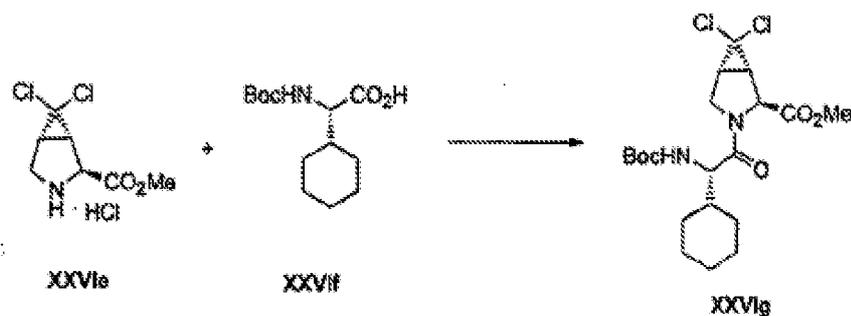
A uma solução com agitação de desidroprolina **XXVIb** (10,1 g, 37,4 mmol), cloreto de benziltriethylamônio (1,60 g, 7,02 mmol) em clorofórmio (120 mL) à temperatura ambiente adicionou-se hidróxido de sódio aquoso a 50% (120 g). Depois de agitada vigorosamente a esta temperatura durante 24 h, a mistura preta foi diluída com  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (200 mL) e éter dietílico (600 mL). Depois de as camadas terem sido separadas, a solução aquosa foi extraída com  $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{Et}_2\text{O}$  (1:2, 3x600 mL). A solução orgânica foi seca ( $\text{MgSO}_4$ ) e concentrada. O resíduo foi purificado por cromatografia em coluna "flash" utilizando 5-20% de EtOAc/hexano para dar 9,34 g (71%) de **XXVIc** como um sólido branco sujo.

Passo 3:

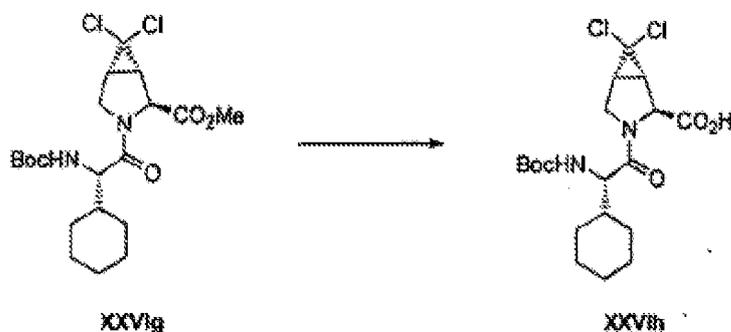
A solução de **XXVIc** (9,34 g, 26,5 mmol) em  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (25 mL) e  $\text{CF}_3\text{CO}_2\text{H}$  (50 mL) foi agitada à temperatura ambiente durante 4,5 h antes de ser concentrada em vácuo para dar um resíduo castanho que foi utilizado no Passo 4 sem purificação adicional.

Passo 4

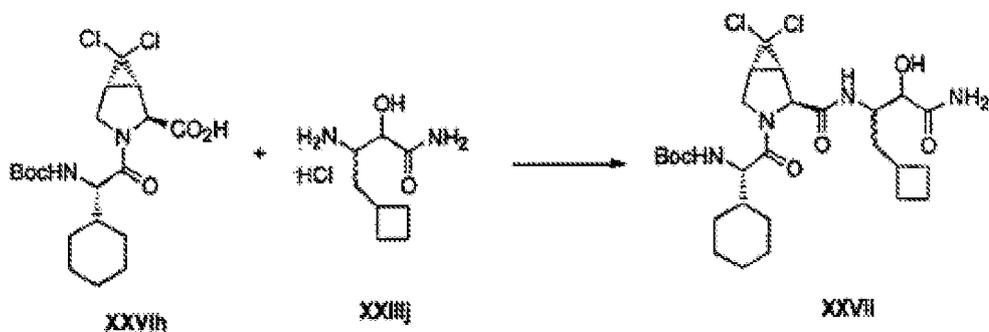
Adicionou-se ácido clorídrico concentrado comercial (4,5 mL) a uma solução do resíduo do Passo 3 em metanol (70 mL) e a mistura resultante foi aquecida a  $65^\circ\text{C}$  num banho de óleo. Após 18 h, a mistura foi concentrada em vácuo para dar um óleo castanho **XXVIIE**, que foi utilizado no Passo 5 sem purificação adicional.

Passo 5:

A uma solução com agitação do éster metílico de prolina **XXVie** do Passo 4, N-Boc-ciclo-hexilglicina comercial **XXVif** (10,2 g, 40,0 mmol) e [hexafluorofosfato de O-(7-azabenzotriazol-1-il)-1,1,3,3-tetrametilurônio] (HATU) (16,0 g, 42,1 mmol) em DMF (200 mL) a 0°C adicionou-se diisopropiletilamina (18,0 mL, 104 mmol). Depois de ser deixada aquecer até à temperatura ambiente juntamente com o banho de gelo de um dia para o outro (18 h), a mistura reaccional foi diluída com EtOAc (600 mL), H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> a 5% (150 mL) e solução aquosa saturada de cloreto de sódio (150 mL). A solução orgânica foi lavada com H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> a 5% (150 mL), NaHCO<sub>3</sub> saturado (2x200 mL) antes de ser seca (MgSO<sub>4</sub>), filtrada e concentrada em vácuo. O resíduo foi purificado por cromatografia em coluna "flash" utilizando 5-20% de EtOAc/hexano para dar 3,84 g (32%, três passos) de **XXVIg** como um sólido branco sujo.

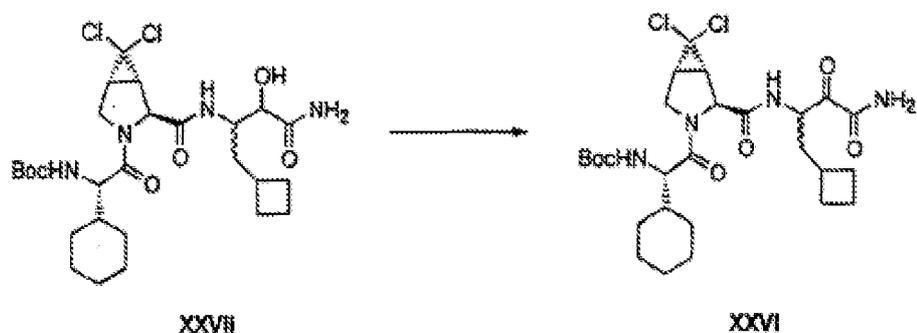
Passo 6:

A solução de éster metílico **XXVIg** (5,87 g, 13,1 mmol) e LiOH (1,65 g, 39,3 mmol) em THF/MeOH/H<sub>2</sub>O (1:1:1, 90 mL) foi agitada à temperatura ambiente durante 4 h. O metanol e o THF foram removidos a pressão reduzida. A solução aquosa foi acidificada a pH~2 utilizando solução aquosa de HCl 1 N (50 mL) e saturada com cloreto de sódio sólido antes de ser extraída com EtOAc (3x150 mL). As soluções orgânicas foram combinadas, seco (MgSO<sub>4</sub>), filtradas e concentradas em vácuo para dar um sólido branco **XXVIh** (5,8 g, quantitativo).

Passo 7:

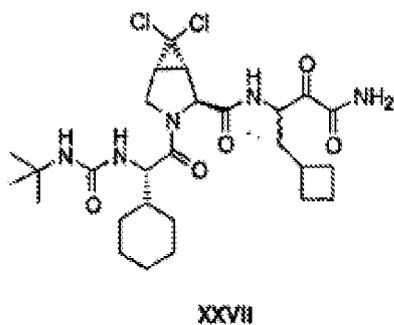
O produto **XXIIIi** desejado foi preparado de acordo com o procedimento do Exemplo XXIII, Passo 11.

Passo 8:

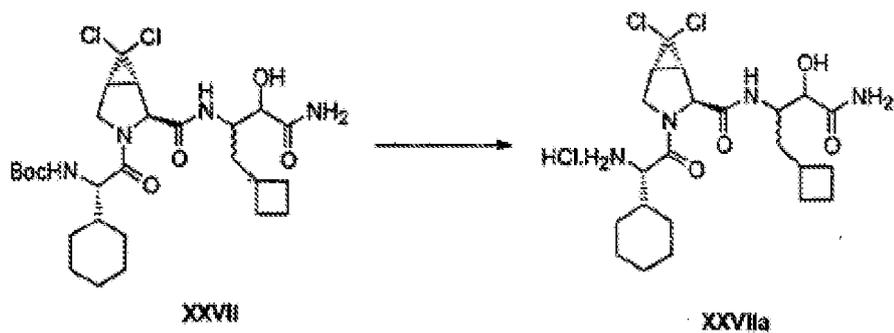


O produto **XXVI** desejado foi preparado de acordo com o procedimento do Exemplo XXIII, Passo 12.

**Exemplo XXVII: Preparação do composto de fórmula XXVII:**

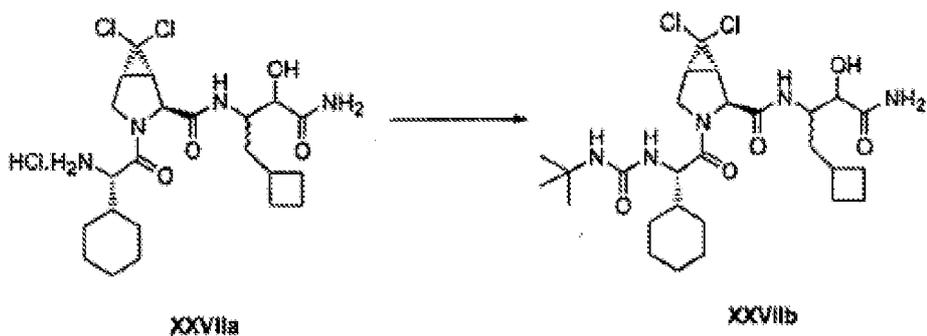


Passo 1



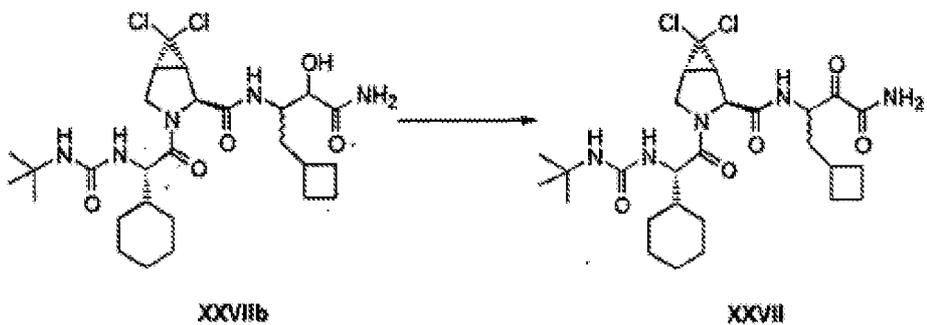
O produto **XXVIIa** desejado foi preparado de acordo com o procedimento do Exemplo XXIII, Passo 9.

Passo 2



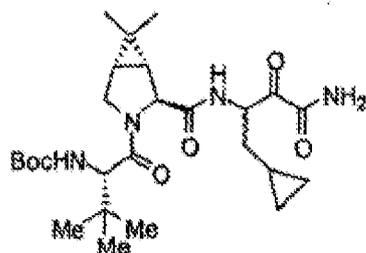
O produto **XXVIIb** desejado foi preparado de acordo com o procedimento do Exemplo XXIV, Passo 2.

Passo 3



O produto **XXVII** desejado foi preparado de acordo com o procedimento do Exemplo XXIII, Passo 12.

**Exemplo XXVIII: Preparação de um composto de fórmula XXVIII:**



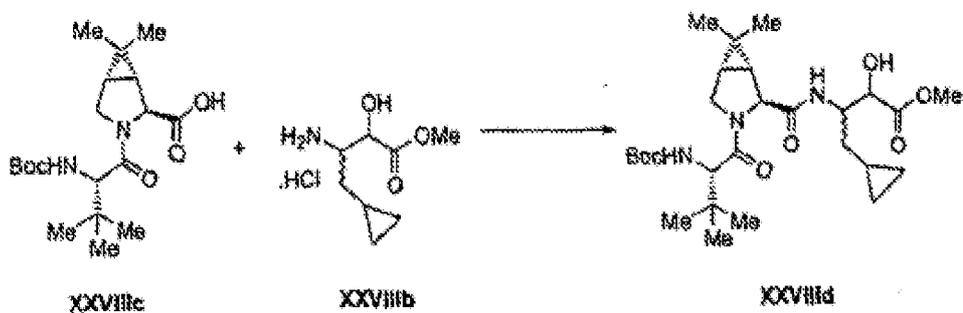
XXVIII

Passo 1:



O intermediário **XXVIIIb** foi preparado de acordo com o procedimento do Exemplo XXIII, Passos 3-6.

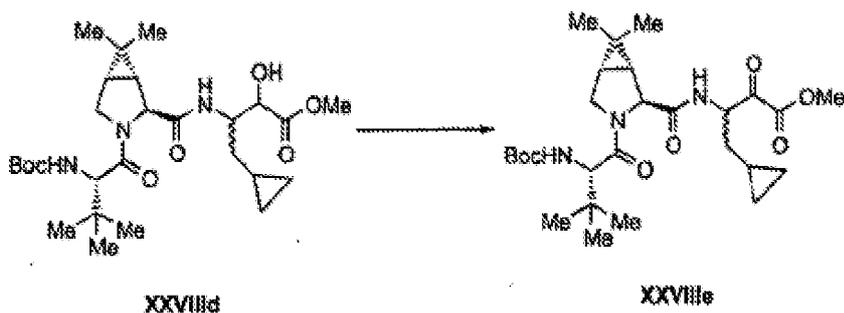
Passo 2:



Fez-se reagir o ácido do Exemplo XXIV, Passo 2 (**XXVIIIc**) (0,7 g) com produto do Passo 1 acima (0,436 g), HATU (0,934 g) e DIPEA (1,64 mL) do modo anteriormente

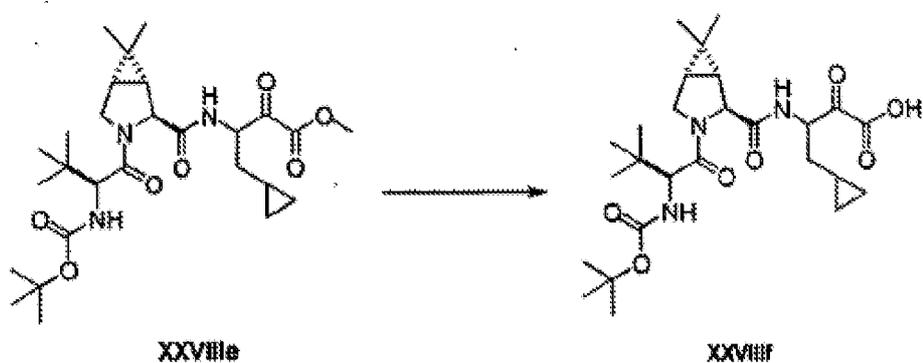
descrito no Exemplo IX, Passo 2a para dar 0,66 g do produto **XXVIIIId** desejado.

Passo 3:



Fez-se reagir o produto do Passo 2 (0,5 g) com reagente de Dess-Martin (1 g) do modo anteriormente descrito no Exemplo XX, Passo 7. A purificação por cromatografia em coluna "flash" (40% de EtOAc, hexano, sílica) deu 0,35 g de produto **XXVIIIe**. Espectro de massa (LCMS) 522 ( $M+H^+$ ).

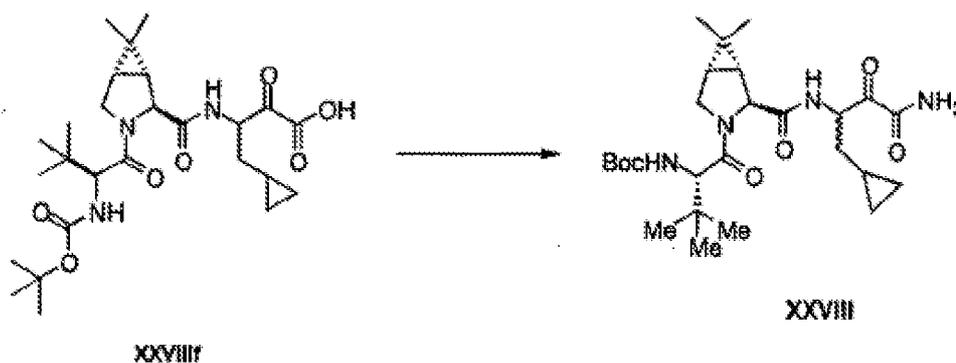
Passo 4:



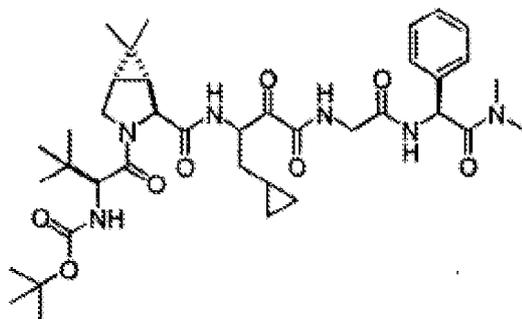
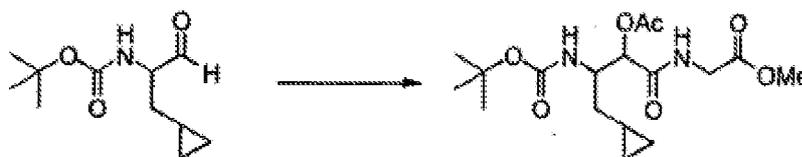
Adicionou-se o produto do Passo 4 (0,3 g) a solução de  $H_2O/MeOH$  1/1 (20 mL) e  $NaHCO_3$  sólido (242 mg, 5 equiv.). Depois de ser agitada durante 18 horas à

temperatura ambiente, a reacção foi diluída com EtOAc e as camadas foram separadas. A camada aquosa foi acidificada até pH 2 com HCl 1,0 N e extraída com EtOAc. A camada de EtOAc foi lavada com solução aquosa saturada de cloreto de sódio e depois seca sobre MgSO<sub>4</sub>, filtrada e concentrada em vácuo para dar produto **XXVIII**f como um pó branco (0,26 g). Espectro de massa (LCMS) 508 (M+H<sup>+</sup>).

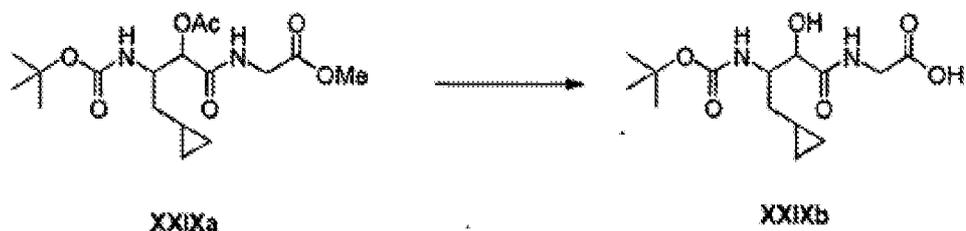
Passo 5:



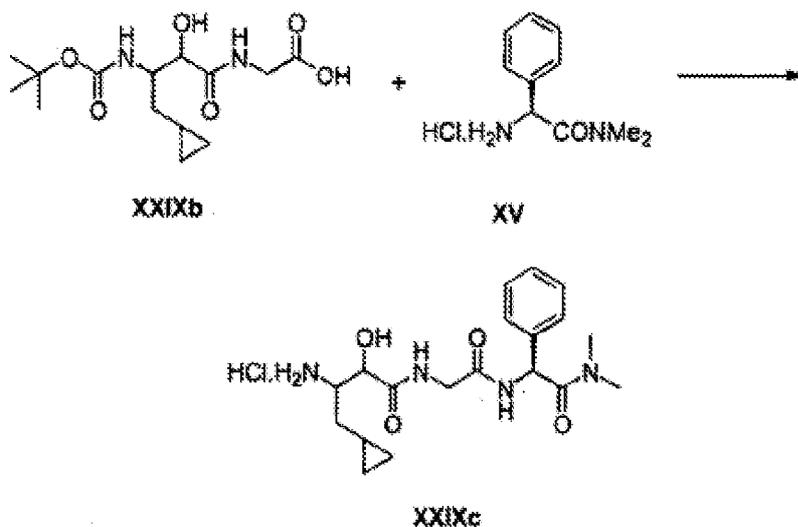
Dissolveu-se o produto do Passo 5 (0,15 g) em CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> e fez-se reagir com HATU (0,137 g), NH<sub>4</sub>Cl (0,08 g, 5 equiv.) e DIPEA (0,53 mL). Após 2 horas à temperatura ambiente, a reacção foi diluída com EtOAc, lavada com uma solução de ácido cítrico a 10% e depois com uma solução saturada de NaHCO<sub>3</sub>. A camada de EtOAc foi lavada com solução aquosa saturada de cloreto de sódio e depois seca sobre MgSO<sub>4</sub>, filtrada e concentrada em vácuo para dar uma mistura em bruto. A purificação por cromatografia em coluna "flash" (30% de acetona, hexano, sílica) deu o produto **XXVIII** desejado (0,096 g). Espectro de massa (LCMS) 507 (M+H<sup>+</sup>).

**Exemplo XXIX: Preparação de um composto de fórmula XXIX:****XXIX****Passo 1:****XXIXa**

A uma solução a 0°C do aldeído de partida (4,0 g) em CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (75 mL) adicionou-se ácido acético (2,0 equiv., 2,15 mL) seguido por isocianoacetato de metilo (1,1 equiv., 1,9 mL). A reacção foi depois gradualmente aquecida até à temperatura ambiente. Após 18 horas (de um dia para o outro), a reacção foi diluída com EtOAc e lavada com uma solução saturada de NaHCO<sub>3</sub>. A camada de EtOAc foi lavada com solução aquosa saturada de cloreto de sódio e depois seca sobre MgSO<sub>4</sub>, filtrada e concentrada em vácuo para dar uma mistura em bruto. A purificação por cromatografia em coluna "flash" (30 a 40% de EtOAc, hexano, sílica) deu o produto **XXIXa** (4,5 g).

Passo 2:

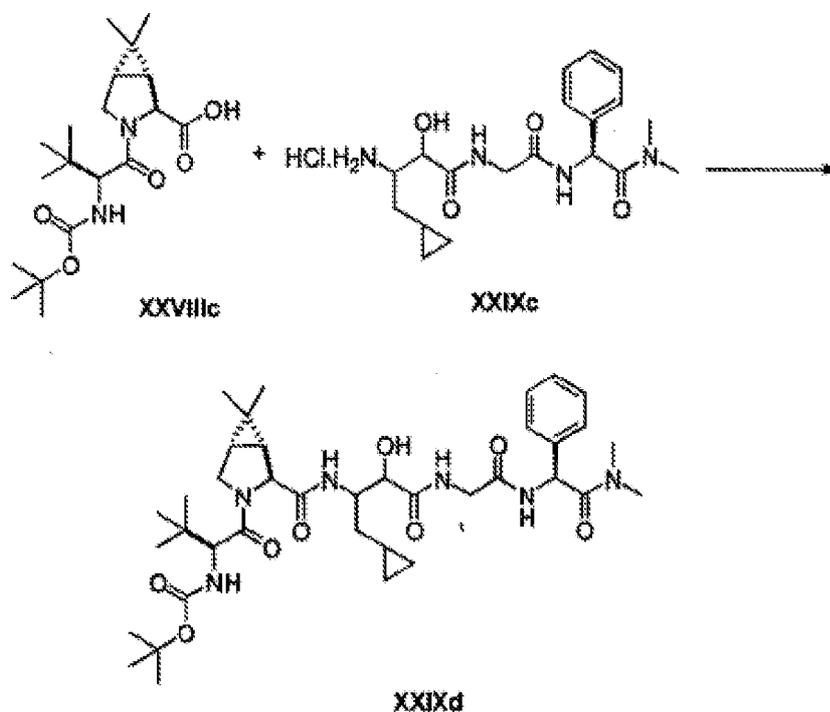
A uma solução a 0°C de **XXIXa** (4,4 g) em THF (100 mL) adicionou-se 26 mL (2,2 equiv.) de uma solução de LiOH 1,0 N. A reacção foi agitada a esta temperatura durante 2 horas e depois foi aquecida até à temperatura ambiente. Após 2 horas, a mistura reaccional foi acidificada até pH 2 com uma solução de HCl 1,0 N. Adicionou-se EtOAc e as camadas foram separadas. A camada de EtOAc foi lavada com solução aquosa saturada de cloreto de sódio e depois foi seca sobre MgSO<sub>4</sub>, filtrada e concentrada em vácuo para dar produto **XXIXb** (3,7 g).

Passo 3:

Fez-se reagir o ácido **XXIXb** com a amina do

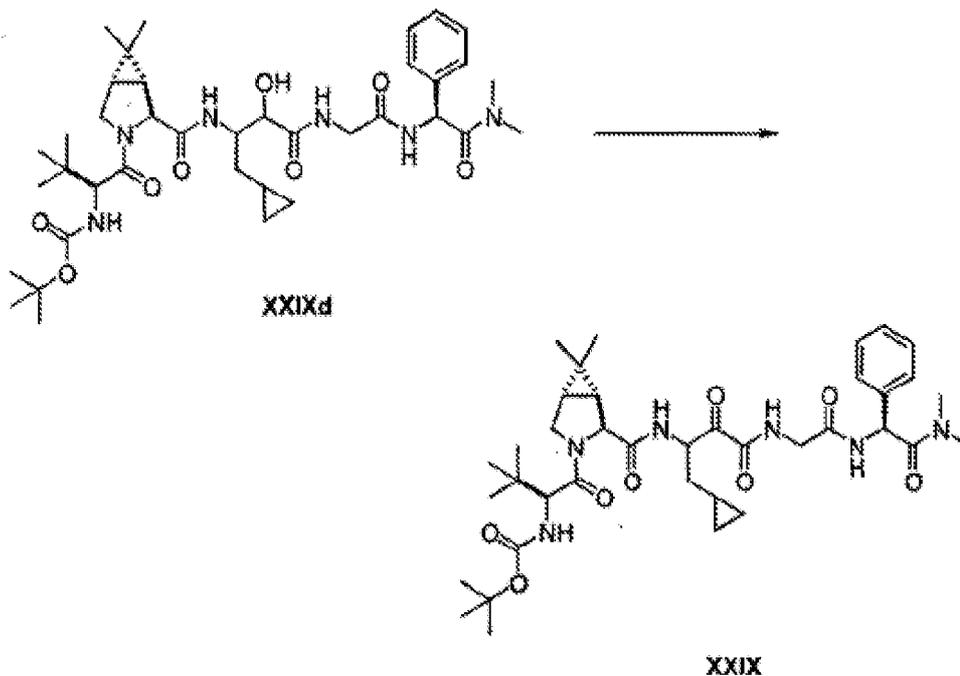
Exemplo XV do modo anteriormente descrito no Exemplo XXI, Passo 4. O intermediário resultante foi depois tratado com HCl do modo anteriormente descrito no Exemplo XXIII, Passo 9 para dar produto **XXIXc**.

Passo 4:



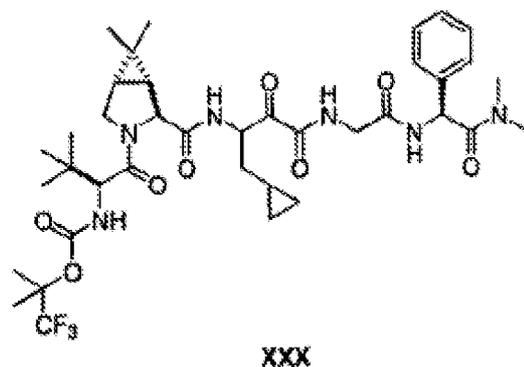
Dissolveu-se o ácido **XXVIIIc** (2,43 g) em  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  e fez-se reagir com amina **XXIXc** (2,47 g), HATU (2,5 g) e DIPEA (5,8 mL) do modo anteriormente descrito no Exemplo IX, Passo 2a para dar, após purificação por cromatografia em coluna "flash" (4% de MeOH,  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ , sílica), o produto **XXIXd** desejado (4,35 g). Espectro de massa (LCMS) 727 ( $\text{M}+\text{H}^+$ ).

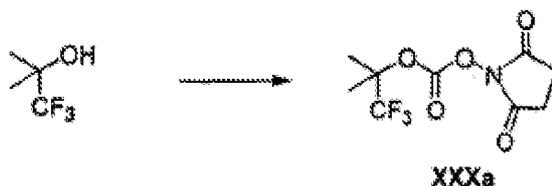
Passo 5:



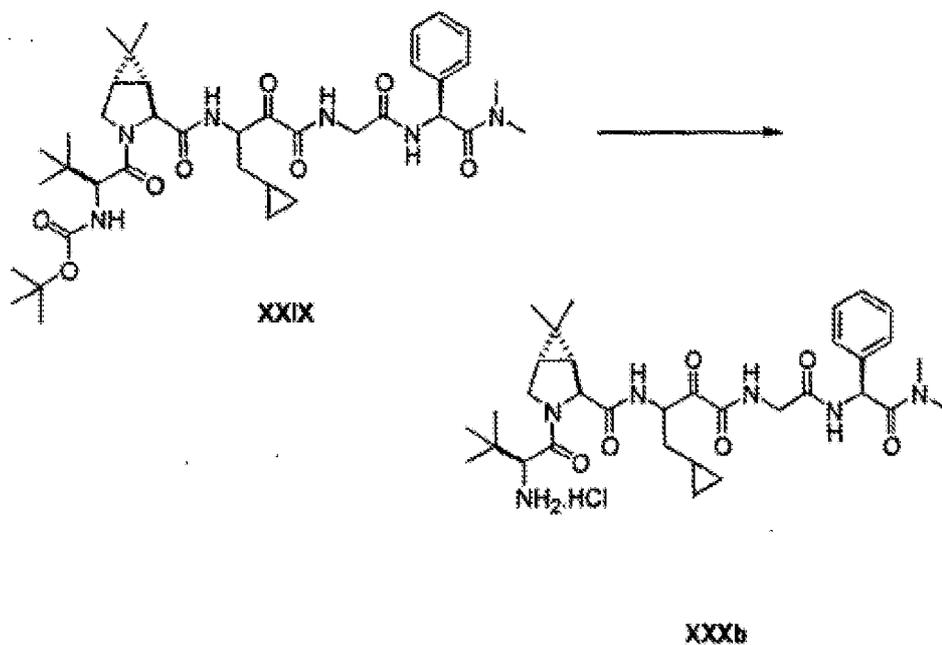
Fez-se reagir o produto do Passo 4 (4,2 g) com reagente de Dess-Martin (6,4 g) do modo anteriormente descrito no Exemplo preparativo XX, Passo 7. A purificação por cromatografia em coluna "flash" (100% de EtOAc, sílica) deu 3 g do produto final **XXIX**. Espectro de massa (LCMS) 725 ( $M+H^+$ ).

**Exemplo XXX: Preparação de um composto de fórmula XXX:**



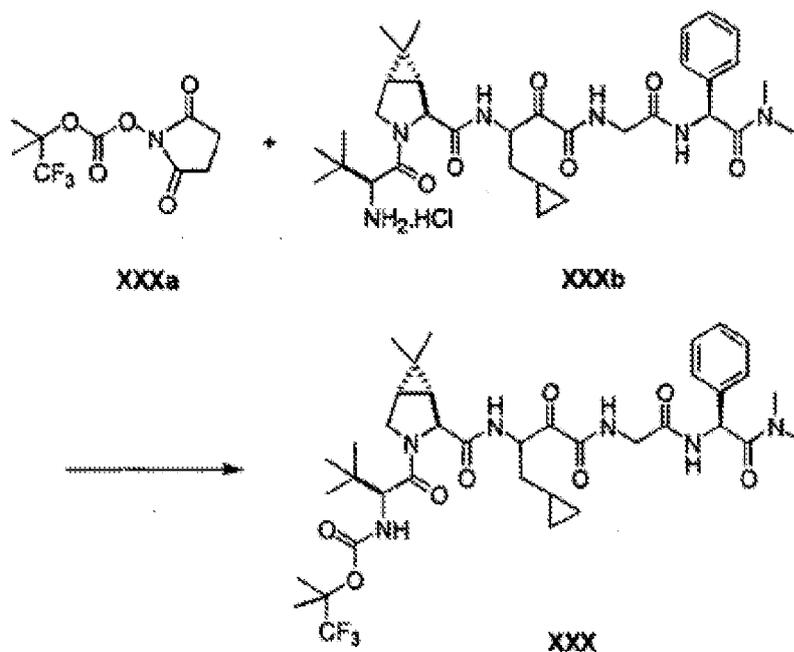
Passo 1:

Fez-se reagir o álcool 2-(trifluorometil)propan-2-ol (1,28 g) com carbonato de N,N-dissucciminidilo (3,84 g) e Et<sub>3</sub>N (4,2 mL) em CH<sub>3</sub>CN seco (50 mL) durante 18 horas. A mistura foi diluída com EtOAc (200 mL) e filtrada. O filtrado foi lavado com NaHCO<sub>3</sub>, solução aquosa saturada de cloreto de sódio e depois seco sobre MgSO<sub>4</sub>, filtrado e concentrado em vácuo para dar uma mistura em bruto. A purificação por cromatografia em coluna "flash" (50% de EtOAc, hexano, sílica) deu o produto **XXXa** desejado (0,3 g).

Passo 2:

O produto do Exemplo XXIX (0,3 g) foi tratado com 100 mL de HCl 4,0 N em dioxano. Após 1 h, adicionou-se 200 mL de Et<sub>2</sub>O e o precipitado resultante foi separado por filtração e seco em vácuo para dar o produto **XXXb** (0,27 g) como um pó branco. Espectro de massa (LCMS) 625 (M-HCl+H<sup>+</sup>).

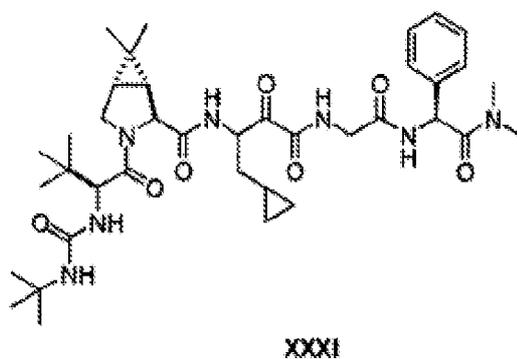
Passo 3:



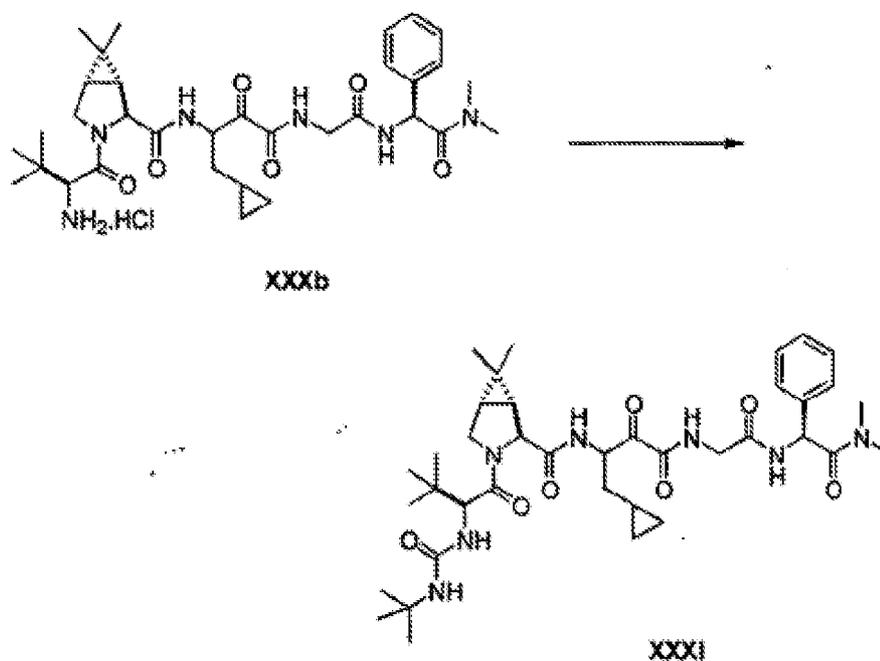
A uma solução à temperatura ambiente de **XXXb** (0,05 g) em  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (5 mL) adicionou-se DIPEA (0,040 mL), **XXXa** (1,5 equiv., 0,030 g), seguido por 1 cristal de DMAP. Após 30 minutos, a reação foi diluída com EtOAc (20 mL) e lavada com HCl 1,5 N, depois  $\text{NaHCO}_3$  e depois solução aquosa saturada de cloreto de sódio. A camada de EtOAc foi seca sobre  $\text{MgSO}_4$ , filtrada e concentrada em vácuo para dar uma

mistura em bruto. A purificação por cromatografia preparativa (40% de acetona, hexano, sílica) deu o produto **XXX** desejado (0,044 g). Espectro de massa (LCMS) 779 ( $M+H^+$ ).

**Exemplo XXXI: Preparação de um composto de fórmula XXXI:**



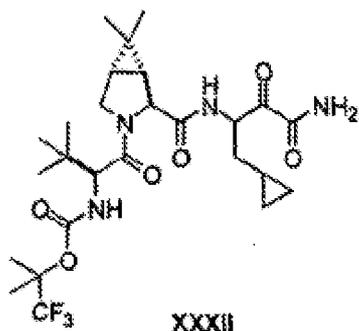
**Passo 1:**



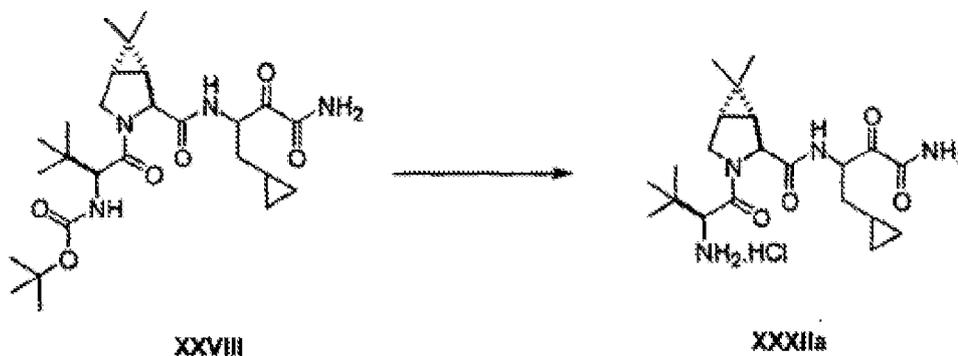
A uma solução de **XXXb** (0,05 g) em  $CH_2Cl_2$  (5 mL) à temperatura ambiente adicionou-se DIPEA (0,040 mL) e isocianato de terc-butilo (1,2 equiv., 0,01 mL). Após 18

horas, a reacção foi diluída com EtOAc (20 mL) e lavada com HCl 1,5 N, NaHCO<sub>3</sub> e solução aquosa saturada de cloreto de sódio. A camada de EtOAc foi seca sobre MgSO<sub>4</sub>, filtrada e concentrada em vácuo para dar uma mistura em bruto. A purificação por cromatografia preparativa (100% de EtOAc, sílica) deu o produto final **XXXI** (0,021 g). Espectro de massa (LCMS) 724 (M+H<sup>+</sup>).

**Exemplo XXXII: Preparação de um composto de fórmula XXXII:**



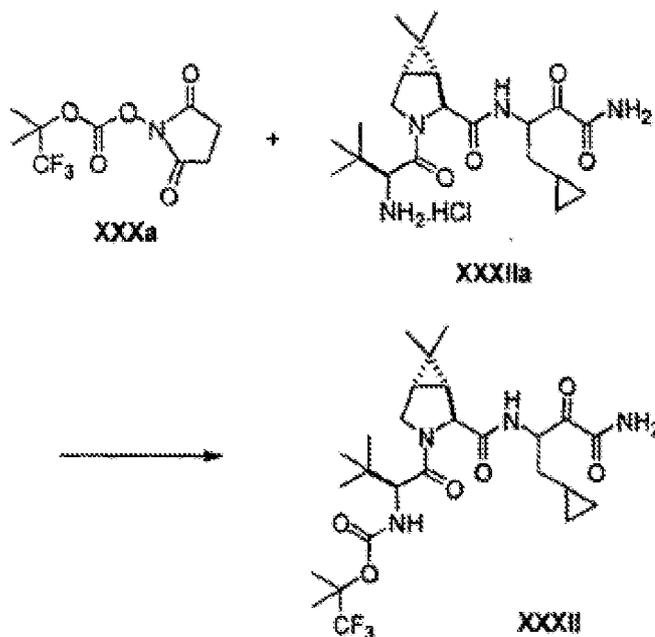
Passo 1:



O produto do Exemplo XXVIII foi tratado do modo anteriormente descrito no Exemplo preparativo XXX, Passo 2

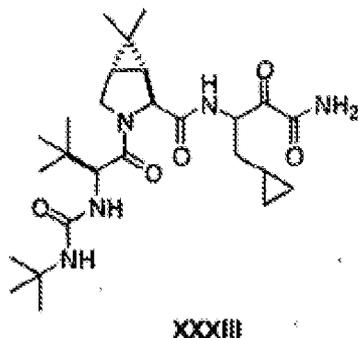
para dar produto **XXXIIa**. Espectro de massa (LCMS) 407 (M - HCl + H<sup>+</sup>).

Passo 2:

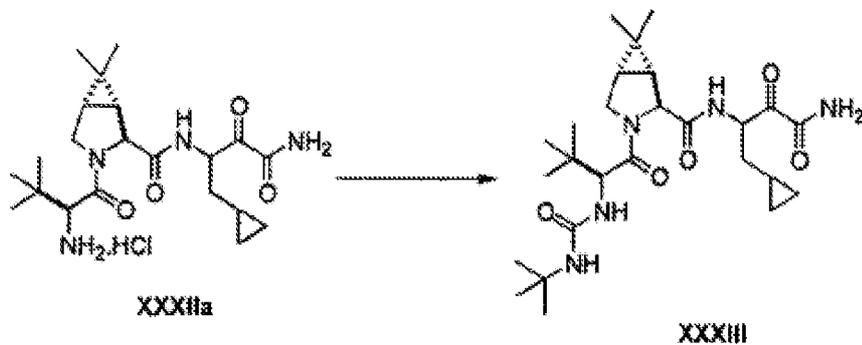


Fez-se reagir a amina **XXXIIa** com **XXXa** do modo anteriormente descrito no Exemplo preparativo XXX, Passo 3 para dar o produto **XXXII** desejado. Espectro de massa (LCMS) 508 (M+H<sup>+</sup>).

Exemplo XXXIII: Preparação de um composto de fórmula XXXIII:

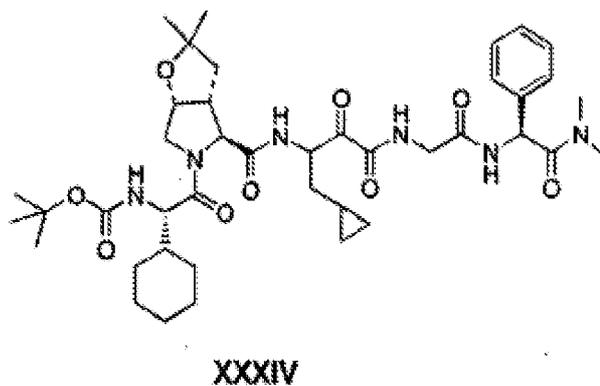


Passo 1:

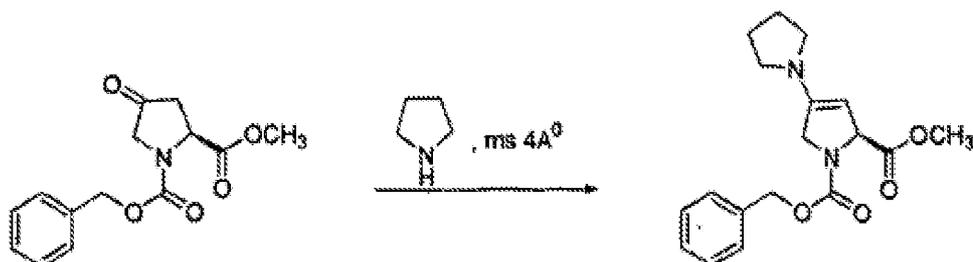


Fez-se reagir a amina **XXXIIa** com isocianato de terc-butilo do modo anteriormente descrito no Exemplo XXXI, Passo 1, para dar o produto **XXXIII**. Espectro de massa (LCMS) 561 ( $M+H^+$ ).

**Exemplo XXXIV: Preparação de um composto de fórmula XXXIV:**

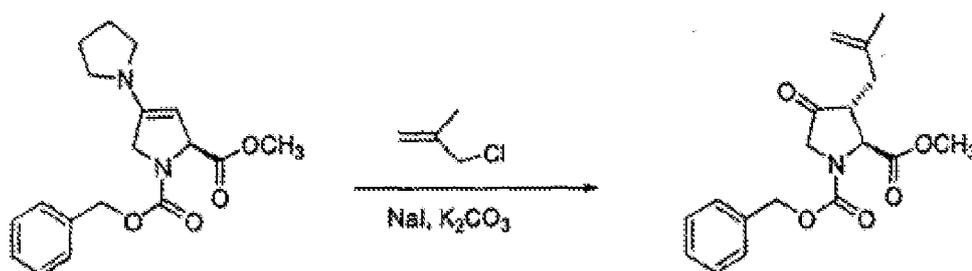


Passo 1:



À mistura de éster (6,0 g) e crivos moleculares (5,2 g) em cloreto de metileno anidro (35 mL) adicionou-se pirrolidina (5,7 mL, 66,36 mmol). A suspensão castanha resultante foi agitada à temperatura ambiente sob N<sub>2</sub> durante 24 h, filtrada e lavada com CH<sub>3</sub>CN anidro. O filtrado combinado foi concentrada para dar o produto desejado.

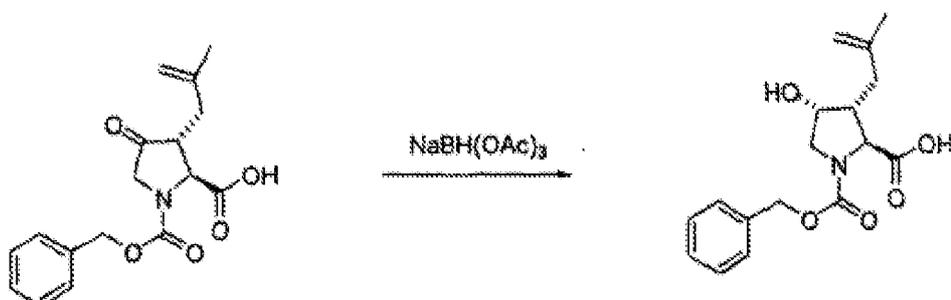
Passo 2:



A uma solução do produto do passo anterior em CH<sub>3</sub>CN (35 mL) adicionou-se K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> anidro, cloreto de metalilo (2,77 g, 30,5 mmol) e NaI (1,07 g, 6,7 mmol). A suspensão resultante foi agitada à temperatura ambiente sob N<sub>2</sub> durante 24 h. Adicionou-se 50 mL de água gelada seguida por solução de KHSO<sub>4</sub> 2 N até o pH ser 1. Adicionou-se EtOAc (100 mL) e a mistura foi agitada durante 0,75 h. A camada orgânica combinada foi recolhida e lavada com solução aquosa saturada de cloreto de sódio, seca sobre MgSO<sub>4</sub> e evaporada para dar o produto desejado.

Passo 3:

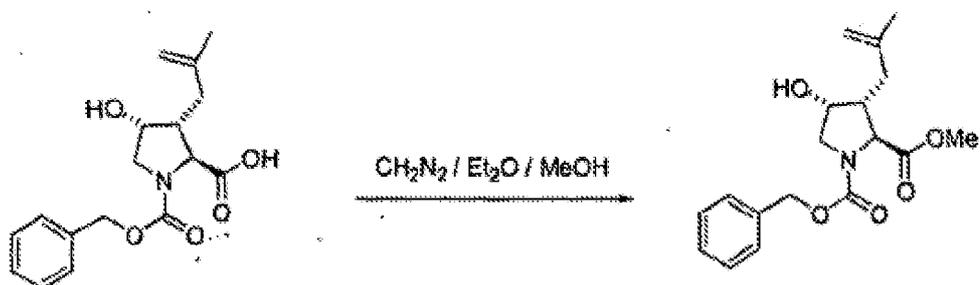
O produto do passo anterior (2,7 g, 8,16 mmol) foi dissolvido em dioxano (20 mL) e tratado com LiOH 1 N preparado de fresco (9 mL). A mistura reaccional foi agitada à temperatura ambiente sob N<sub>2</sub> durante 20 h. A mistura reaccional foi retomada em EtOAc e lavada com H<sub>2</sub>O. A fase aquosa combinada foi arrefecida a 0°C e acidificada até pH 1,65 utilizando HCl 1 N. A mistura turva foi extraída com EtOAc (2 x 100 L). A camada orgânica combinada foi lavada com solução aquosa saturada de cloreto de sódio, seca sobre MgSO<sub>4</sub> e concentrada para dar o ácido desejado (3,40 g).

Passo 4:

A uma suspensão de NaBH(OAc)<sub>3</sub> (3,93g, 18,5 mmol) em CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (55 mL) adicionou-se uma solução de produto do passo anterior em CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> anidro (20 mL) e ácido acético (2

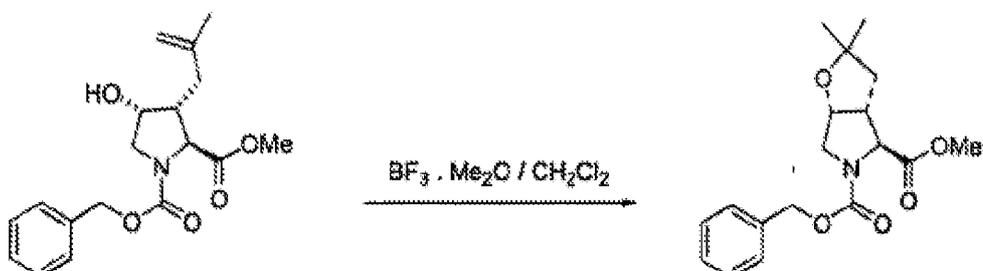
mL). A suspensão foi agitada à temperatura ambiente durante 20 h. Adicionou-se água gelada (100 mL) à suspensão e foi agitada durante 1/2 h. A camada orgânica foi separada, filtrada, seca e evaporada para dar o produto desejado.

Passo 5:



Uma solução do produto do passo anterior (1,9 g) em MeOH (40 mL) foi tratada com excesso de  $\text{CH}_2\text{N}_2/\text{Et}_2\text{O}$  e agitada de um dia para o outro. A mistura reaccional foi concentrada até à secura para dar um resíduo em bruto. O resíduo foi cromatografado em gel de sílica, eluindo com um gradiente de EtOAc/hexano para dar 1,07 g do produto puro desejado.

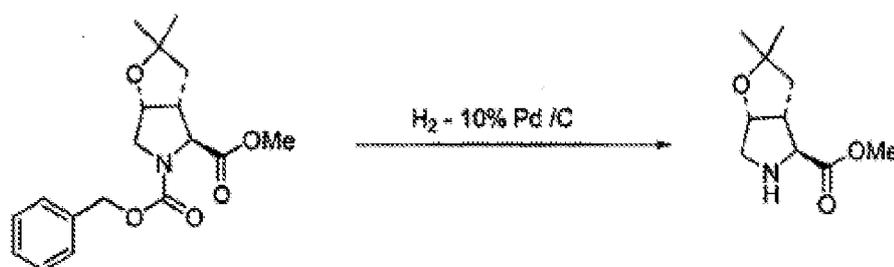
Passo 6:



Uma solução de produto do passo anterior (1,36 g) em  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  anidro (40 mL) foi tratada com  $\text{BF}_3 \cdot \text{Me}_2\text{O}$  (0,7 mL). A mistura reaccional foi agitada à temperatura ambiente

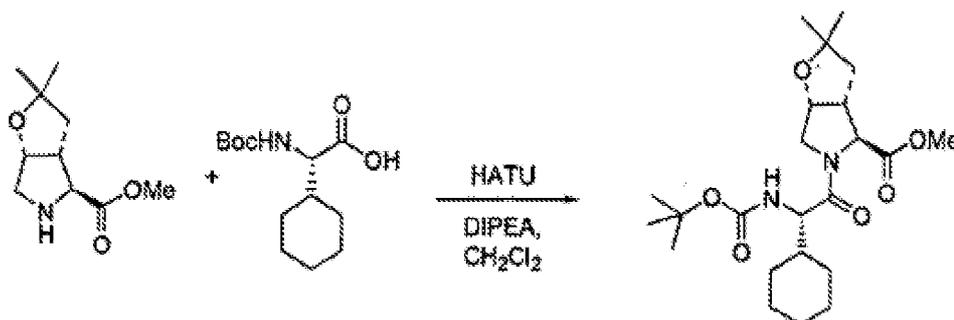
durante 20 h e desactivada com  $\text{NaHCO}_3$  saturado (30 mL) e agitada durante 1/2 h. A camada orgânica foi separada e a camada orgânica combinada foi lavada com solução aquosa saturada de cloreto de sódio, seca sobre  $\text{MgSO}_4$  e concentrada para dar resíduo em bruto. O resíduo foi cromatografado em gel de sílica eluindo com um gradiente de EtOAc/hexano para dar 0,88 g do composto desejado.

Passo 7:



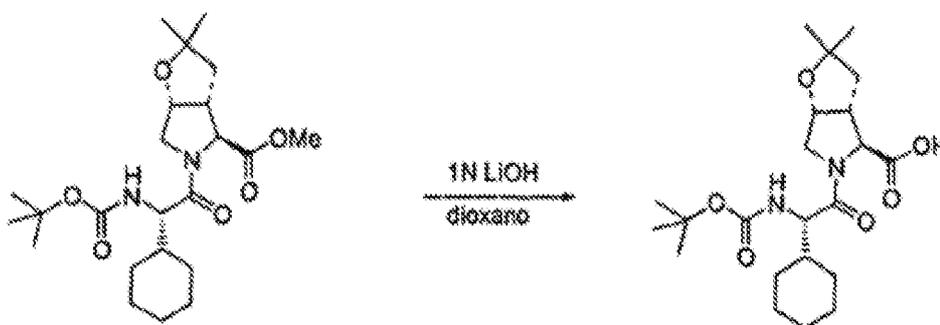
A uma solução do produto (0,92 g) do passo anterior em MeOH (30 mL) adicionou-se Pd a 10% sobre C (0,16 g) à temperatura ambiente e hidrogenou-se à temperatura ambiente sob 1 atm. de pressão. A mistura reaccional foi agitada durante 4 h e concentrada até à secura para dar o composto desejado.

Passo 8:



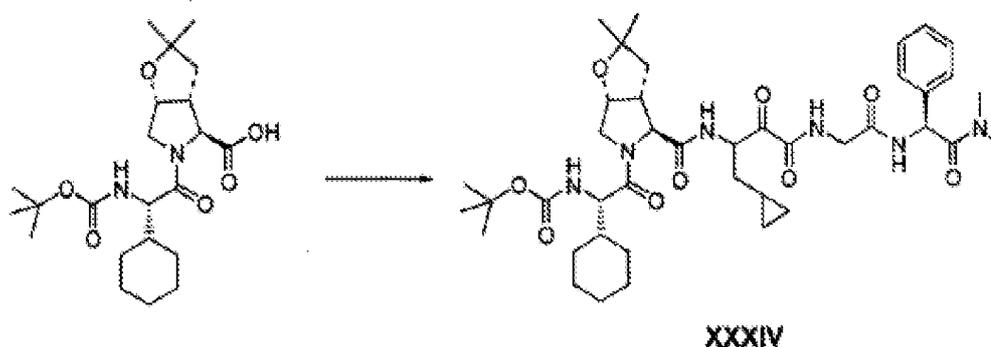
O produto desejado foi preparado de acordo com o procedimento do Exemplo XXIII, Passo 10.

Passo 9:



O produto ácido desejado foi preparado de acordo com o procedimento do Exemplo XXIV, Passo 3.

Passo 10:

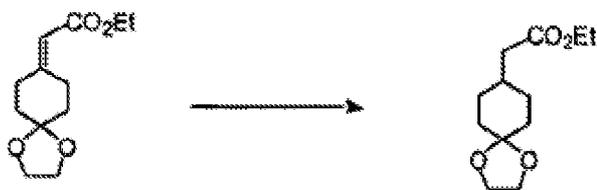


O produto **XXXIV** desejado foi preparado de acordo com o procedimento do Exemplo XXIX, Passos 4-5.



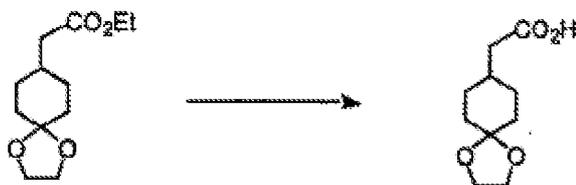
cromatografado em gel de sílica, eluindo com um gradiente de  $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{EtOAc}$  para dar o composto em epígrafe (21 g), 92% de rendimento. Espectro de massa (FAB) 227,3 ( $\text{M}+\text{H}^+$ ).

Passo 2:



O produto do passo anterior (20 g) foi dissolvido em EtOH (150 mL) e tratado com Pd a 10% sobre C sob 1 atm de hidrogénio durante 3 dias. A mistura foi filtrada e o filtrado evaporada para dar o composto em epígrafe (20,3 g), 100% de rendimento. Espectro de massa (FAB) 229,2 ( $\text{M}+\text{H}^+$ ).

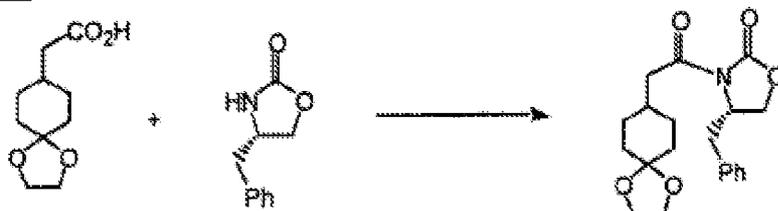
Passo 3:



O produto do passo anterior (20 g) foi dissolvido em MeOH (150 mL) e tratado com uma solução de LiOH (3,6 g) em água (50 mL). A mistura foi agitada durante 18 horas e concentrada em vácuo. O resíduo foi dissolvido em água fria (100 mL), a solução foi acidificada até pH 2-3 com HCl 5N,

e a mistura resultante foi extraída com EtOAc. O extracto foi seco sobre  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  anidro, filtrado e o filtrado evaporado para dar o composto em epígrafe (17,1 g), 97% de rendimento. Espectro de massa (FAB) 201,2 ( $\text{M}+\text{H}^+$ ).

Passo 4:



1. O produto do passo anterior (3,0 g) foi dissolvido em  $\text{Et}_2\text{O}$  (150 mL), tratado com  $\text{Et}_3\text{N}$  (2,1 mL), e a solução arrefecida a  $-78^\circ\text{C}$ . Adicionou-se cloreto de pivaloilo (1,85 mL) gota a gota, e após mais 0,25 horas de agitação, a reacção foi deixada aquecer até  $0^\circ\text{C}$  ao longo de 0,75 horas, e depois foi novamente arrefecida a  $-78^\circ\text{C}$  para dar uma solução de anidrido misto para a reacção na parte 2.

2. Uma solução de (S)-4-benzil-2-oxazolidinona (2,66 g) em THF (22 mL) foi arrefecida a  $-78^\circ\text{C}$ , e adicionou-se uma solução 1,6 M de n-butil lítio em hexano (9,38 mL) gota a gota. Após mais 0,33 horas de agitação a esta temperatura, a solução foi transferida através de uma cânula para a solução fria da parte 1. A mistura foi agitada a  $-78^\circ\text{C}$ , depois aquecida a  $0^\circ\text{C}$  e agitada a esta temperatura durante 0,5 horas. A camada orgânica foi separada, a camada aquosa foi extraída com  $\text{Et}_2\text{O}$ , os

extractos orgânicos combinados foram lavados com solução aquosa saturada de cloreto de sódio, secos sobre  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  anidro, filtrados e o filtrado foi evaporado. O resíduo foi cromatografado em gel de sílica, eluindo com um gradiente de hexano/EtOAc (9:1) para dar o composto em epígrafe (5,0 g), 93% de rendimento. Espectro de massa (FAB) 360,4 ( $\text{M}+\text{H}^+$ ).

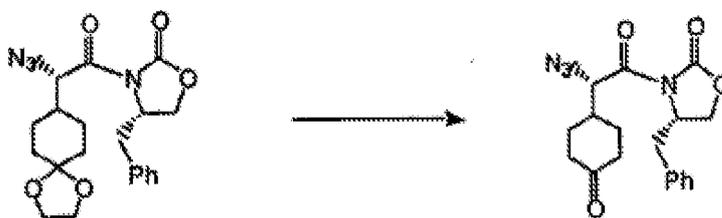
Passo 5:



O produto do passo anterior (2,7 g) foi dissolvido em THF (25 mL), arrefecido a  $-78^\circ\text{C}$ , transferido por cânula para uma solução de 0,5 M de bis(trimetilsilil)amida de potássio/tolueno (16,5 mL) em THF (25 mL) a  $-78^\circ\text{C}$ , e a solução resultante foi agitada a  $-78^\circ\text{C}$  durante 0,75 horas. A esta solução adicionou-se via cânula uma solução de trisilil azida (3,01 g) em THF (25 mL) pré-arrefecida a  $-78^\circ\text{C}$ . Após 1,5 minutos, a reacção foi desactivada com ácido acético (1,99 mL), a reacção foi aquecida até à TA, e depois agitada durante 16 horas. A reacção foi diluída com EtOAc (300 mL), e lavada com NaCl aquoso a 5%. A fase aquosa foi extraída com EtOAc, as fases orgânicas combinadas foram lavadas com  $\text{NaHCO}_3$  aquoso saturado, depois com solução aquosa saturada de cloreto de

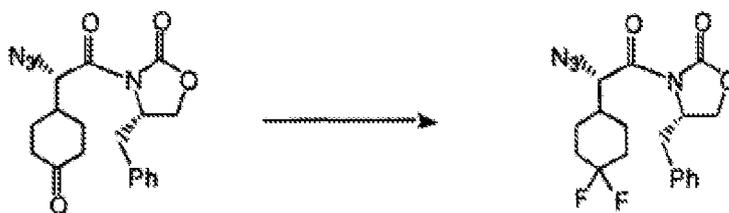
sódio; em seguida secas sobre  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  anidro, filtradas e o filtrado foi evaporado. O resíduo foi cromatografado em gel de sílica, eluindo com EtOAc/hexano (1:3) para dar o composto em epígrafe (2,65 g), 88% de rendimento.

Passo 6:



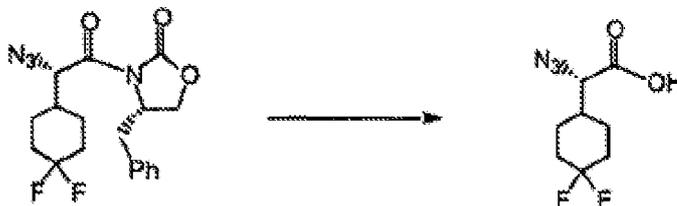
O produto do passo anterior (11,4 g) foi dissolvido em ácido fórmico a 95% (70 mL) e aquecido a  $70^\circ\text{C}$  durante 0,5 horas enquanto se agitava. A solução foi evaporada em vácuo, e o resíduo foi retomado em EtOAc. A solução foi lavada com  $\text{NaHCO}_3$  aquoso saturado, depois com solução aquosa saturada de cloreto de sódio; em seguida foi seca sobre  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  anidro, filtrada e o filtrado foi evaporado. O resíduo foi cromatografado em gel de sílica para dar o composto em epígrafe (8,2 g).

Passo 7:



O produto do passo anterior (8,2 g) foi dissolvido em  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (16 mL) e tratado com trifluoreto de dietilamino enxofre (DAST, 7,00 mL) à TA durante 3 horas. A reacção foi vertida sobre gelo/água (200 cc), e extraída com  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ . O extracto foi lavado com  $\text{NaHCO}_3$  aquoso saturado, depois com solução aquosa saturada de cloreto de sódio; e em seguida seco sobre  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  anidro, filtrado e o filtrado foi evaporada. O resíduo foi cromatografado em gel de sílica, eluindo com EtOAc/hexano (15:85) para dar o composto em epígrafe (4,5 g), 52% de rendimento.

Passo 8:



O produto do passo anterior (3,7 g) foi dissolvido numa mistura de THF (150 mL) e água (48 mL), arrefecido a  $0^\circ\text{C}$ , tratado com  $\text{H}_2\text{O}_2$  a 30% (3,95 mL) e depois com  $\text{LiOH}\cdot\text{H}_2\text{O}$  (0,86 g). A mistura foi agitada durante 1 hora a  $0^\circ\text{C}$ , depois desactivada com uma solução de  $\text{Na}_2\text{SO}_3$  (5,6 g) em água (30 mL), seguida por uma solução de  $\text{NaHCO}_3$  0,5 N (100 mL). A mistura foi concentrada em vácuo até 1/2 do volume, diluída com água (para 500 mL), e extraída com  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (4 x 200 mL). A fase aquosa foi acidificada até pH 1-2 com  $\text{HCl}$  5 N e extraída com EtOAc (4 x 200 mL). O extracto foi lavado com solução aquosa saturada de cloreto de sódio; depois seco sobre  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  anidro, filtrado e o

filtrado foi evaporado para dar o composto em epígrafe (1,95 g), 91% de rendimento, que foi utilizado directamente no passo seguinte.

Passo 9:



O produto do exemplo anterior (2,6 g) foi dissolvido em Et<sub>2</sub>O (50 mL) e tratado gota a gota com uma solução de CH<sub>2</sub>N<sub>2</sub> em Et<sub>2</sub>O até a solução permanecer amarela. A solução foi agitada durante 18 horas, depois evaporada em vácuo para dar o composto em epígrafe (2,8), que foi utilizado directamente no passo seguinte.

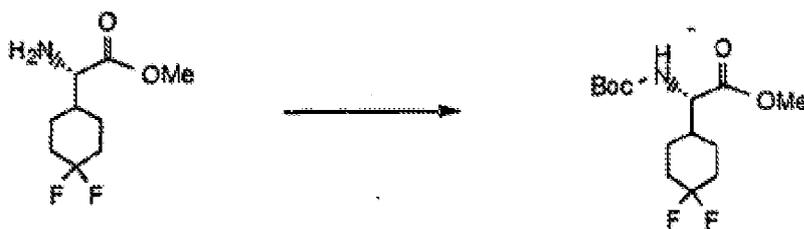
Passo 10:



O produto do passo anterior (1,95 g) foi dissolvido em MeOH (150 mL), tratado com ácido fórmico (1,7 mL) e depois tratado com Pd a 10% sobre C (3,3 g, Degussa tipo E101) sob 1 atm de hidrogénio durante 1,5 horas. A

mistura foi filtrada e o filtrado evaporado para dar o composto em epígrafe (2,1 g) como o sal de ácido fórmico, que foi utilizado directamente no passo seguinte.

Passo 11:



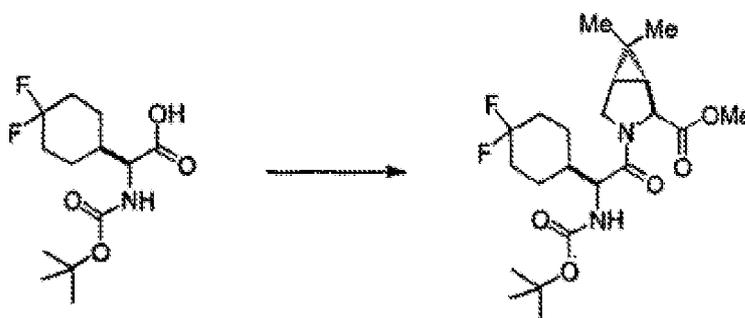
O produto do passo anterior (2,1 g) foi dissolvido em 1,4-dioxano (100 mL) e adicionou-se dicarbonato de di-terc-butilo (1,9 g), seguido por diisopropiletilamina (2,9 mL). A solução foi agitada durante 18 horas e concentrada em vácuo. O resíduo foi tratado com KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> aquoso a 5% e a mistura foi extraída com EtOAc. O extracto foi lavado com solução aquosa saturada de cloreto de sódio; depois foi seco sobre MgSO<sub>4</sub> anidro, filtrado e o filtrado foi evaporado. O resíduo foi cromatografado em gel de sílica, eluindo com um gradiente de CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/Et<sub>2</sub>O para dar o composto em epígrafe (2,5 g), 99% de rendimento. Espectro de massa (FAB) 307,9 (M+H<sup>+</sup>).

Passo 12:



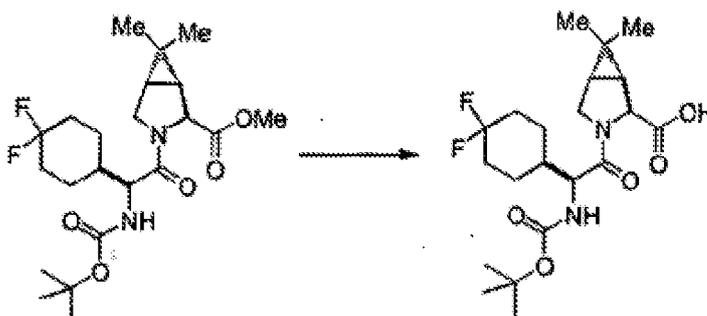
O produto do passo anterior (2,5 g) foi dissolvido em 1,4-dioxano (35 mL), tratado com LiOH aquoso 1 M (17 mL) e agitado durante 2 horas. A mistura foi desactivada com gelo/água (125 cc), a mistura foi acidificada até pH 3-4 com HCl 3 N e extraída com EtOAc. O extracto foi seco sobre MgSO<sub>4</sub> anidro, filtrado e o filtrado foi evaporado para dar o composto em epígrafe (2,3 g), 96% de rendimento. Espectro de massa (FAB) 294,0 (M+H<sup>+</sup>).

Passo 13:

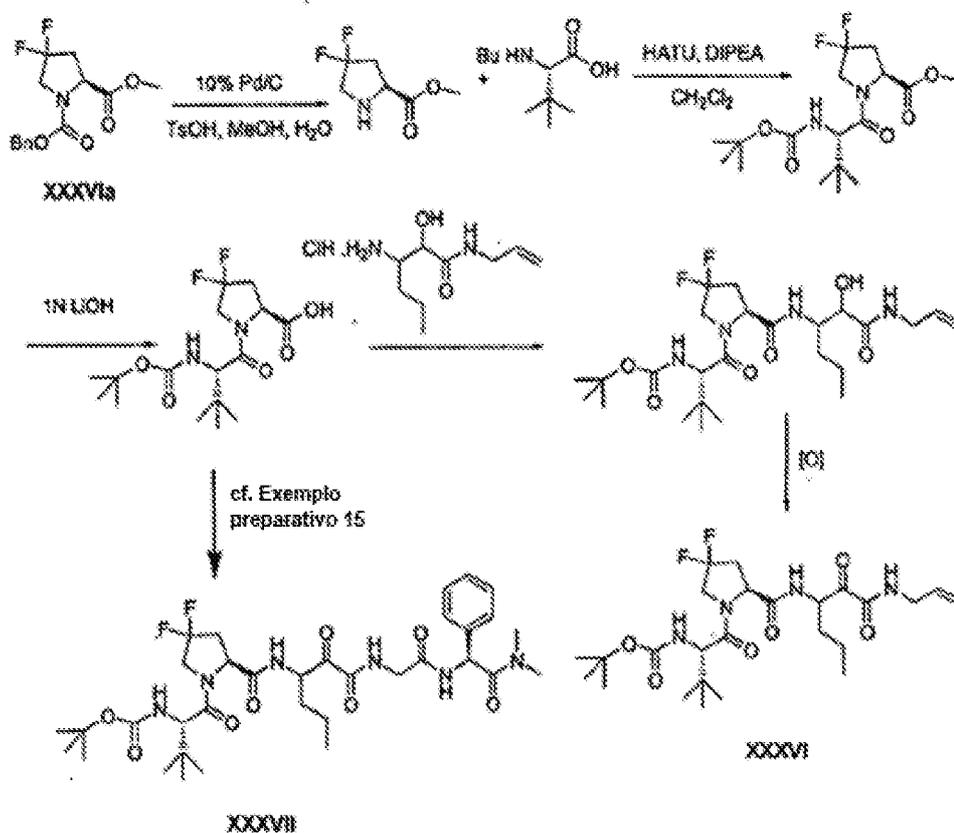


O produto desejado foi preparado de acordo com o procedimento do Exemplo XXIII, Passo 10.

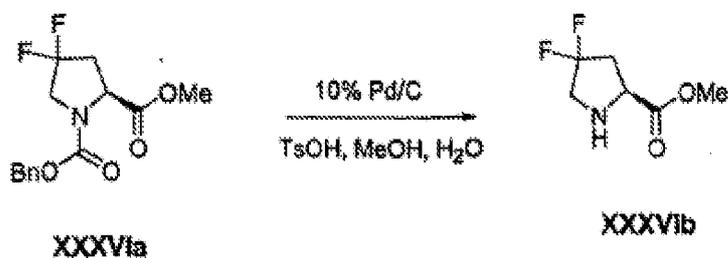
Passo 14:







O composto de fórmula **XXXVIb** foi preparado a partir de um composto de fórmula **XXXVIa** como se segue por procedimentos conhecidos:

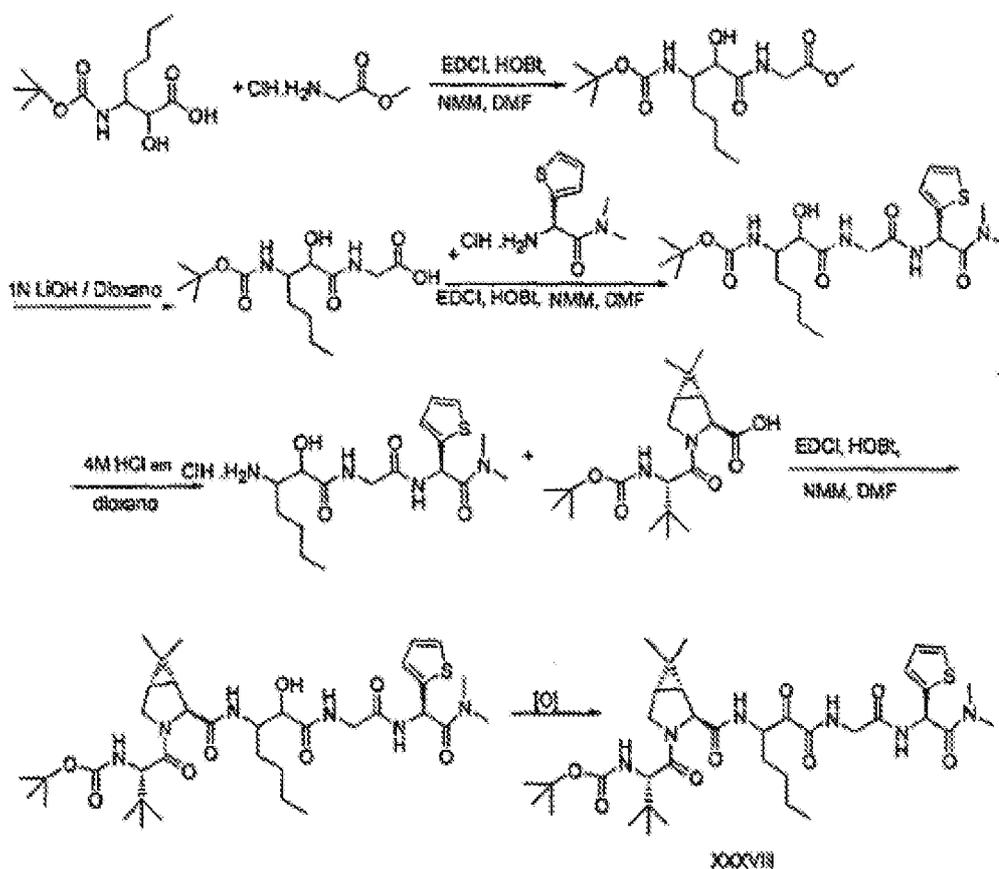


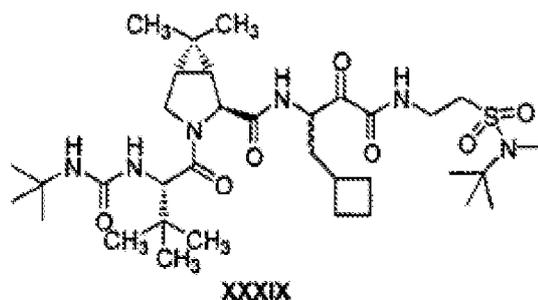
A uma solução de Composto XXXVIa (6,58g, 22 mmol) em 100 mL de MeOH adicionou-se Pd a 10% sobre C (0,8 g) e ácido p-tolueno sulfônico (4,2 g). A mistura reaccional foi submetida a hidrogenação à temperatura ambiente de um dia

para o outro. A mistura reaccional foi filtrada através de celite e lavada com excesso de MeOH. O filtrado combinado foi concentrado em vácuo para dar o composto em epígrafe XXXVIb como uma goma. A conversão de XXXVIb em XXXVI e XXXVII seguiu a via ilustrada no esquema apresentado acima e de acordo com os exemplos preparativos 11-15.

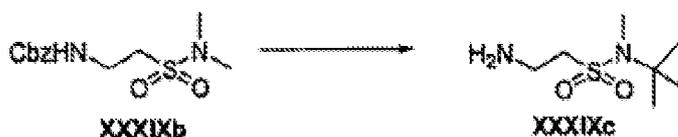
**Exemplo XXXVIII. Preparação de um composto de fórmula XXXVIII:**

Foi preparado um composto de fórmula XXXVIII utilizando o esquema seguinte e seguindo os Exemplos preparativos 11 a 15 discutidos anteriormente.



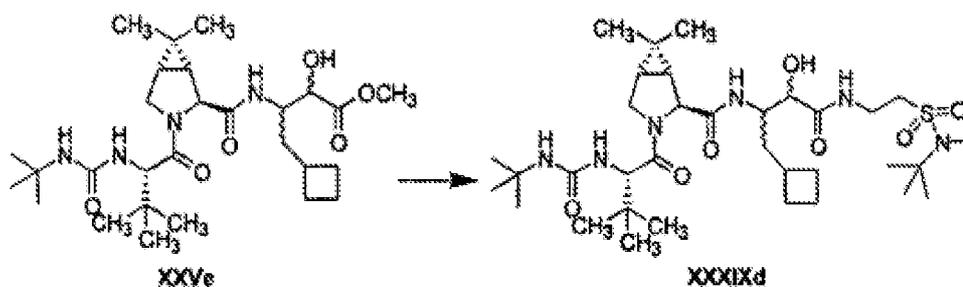
**Exemplo XXXIX. Síntese do composto de fórmula XXXIX:**Passo 1:

Adicionou-se uma solução do cloreto de sulfonilo **XXXIXa** preparado pelo procedimento de H. Mcklwain (*J. Chem. Soc.* 1941, 75) gota a gota a uma mistura de 1,1 equiv de *t*-butilmetilamina e trietilamina a  $-78^{\circ}\text{C}$  e agitou-se à t.a. durante 2 h. A mistura reaccional foi concentrada em vácuo e purificada por cromatografia ( $\text{SiO}_2$ , hexano/acetona 4:1) para dar sulfonamida **XXXIXb** como um óleo incolor.

Passo 2:

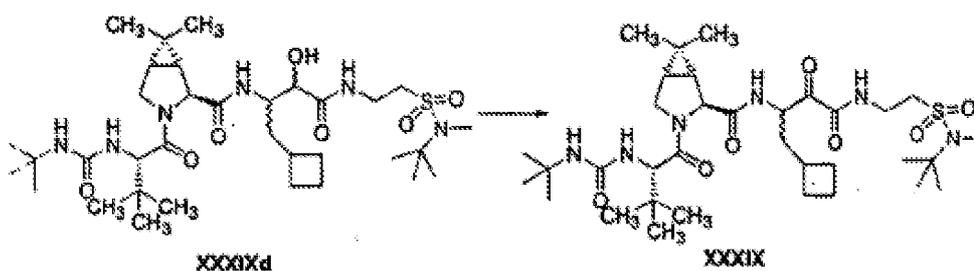
Uma solução da amina protegida com Cbz **XXXIXb** foi dissolvida em metanol e tratada com 5 mol% de Pd/C (5% p/p) e hidrogenada a 60 psi. A mistura reaccional foi filtrada através de uma camada de celite e concentrada em vácuo para se obter a amina livre **XXXIXc** que solidificou em repouso.

Passo 3:



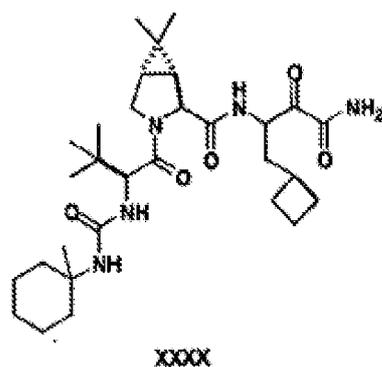
A hidroxi sulfonamida **XXXIXd** foi sintetizada de modo semelhante ao procedimento para a síntese de **XXVf** excepto que se substituiu a amina **XXVd** por **XXXIXc**. A mistura reaccional em bruto foi utilizada directamente na reacção seguinte.

Passo 4:



A hidroxi amida **XXXIXd** foi oxidada ao composto **XXXIX** utilizando o reagente de Dess Martin seguindo o procedimento para a síntese de **XXV** (passo 5). A mistura em bruto foi purificada por cromatografia ( $\text{SiO}_2$ , acetona/hexano 3:7) para se obter **XXXIX** como um sólido incolor.

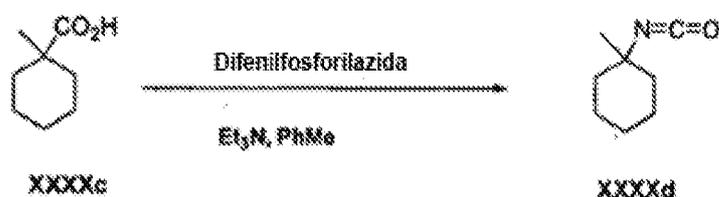
**Exemplo XXXX Preparação de Composto de Fórmula XXXX**



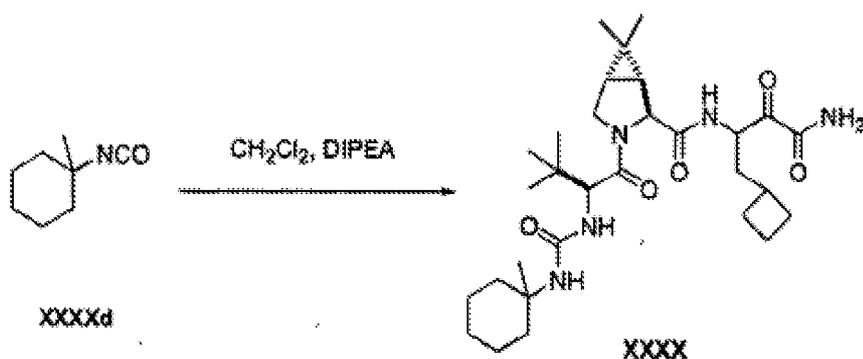
**Passo 1:**



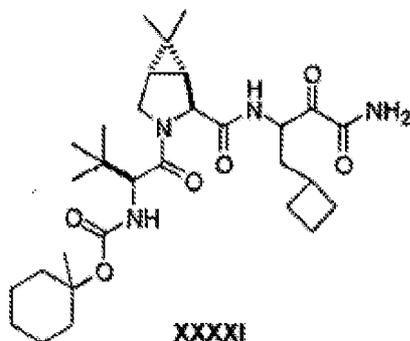
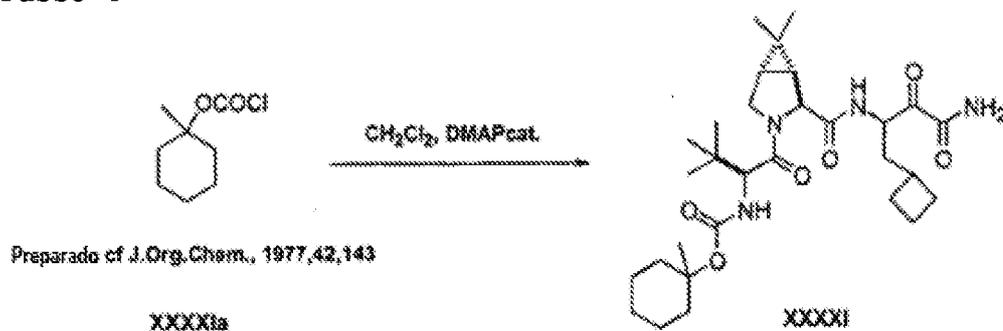
Fez-se reagir **XXXXa** do modo anteriormente descrito para **XXXII** passo 1 para dar o produto **XXXXb** do passo 1. Espectro de massa (LCMS) 421 ( $\text{M}-\text{HCl}+\text{H}^+$ ).

**Passo 2:**

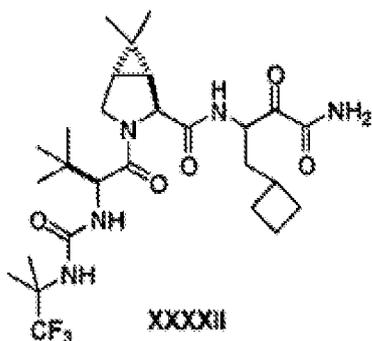
Adicionou-se Et<sub>3</sub>N (1,4 mL) e difenilfosforilazida (2,2 mL) a uma solução do ácido carboxílico **XXXXc** em tolueno (13 mL). A reacção foi agitada à TA durante 30 min e depois aquecida a refluxo de um dia para o outro. Após 18 h, a reacção é arrefecida até à TA para dar o produto do passo 2 **XXXXd**, que foi utilizado directamente como uma solução 0,7 M em tolueno.

**Passo 3**

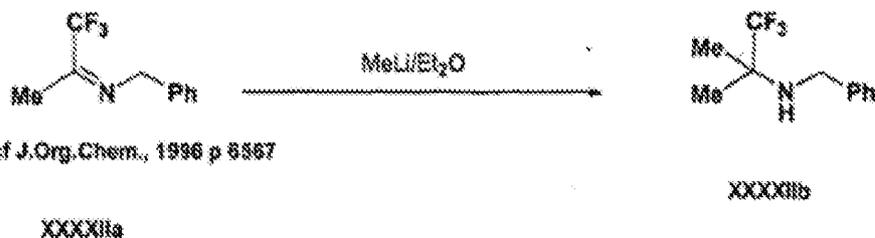
Fez-se reagir **XXXXb**, produto do passo 1 do exemplo preparativo XXXX, com o produto **XXXXd** do passo 2 do exemplo preparativo XXXX do modo anteriormente descrito no exemplo XXXIII para dar **XXXX**. Espectro de massa (LCMS) 560 (M+H<sup>+</sup>).

**Exemplo XXXXI Preparação do composto de fórmula XXXXI****Passo 4**

Fez-se reagir **XXXXb**, produto do passo 1 do exemplo preparativo XXXX, com o cloroformato **XXXXIa** preparado como *J. Org. Chem.*, 1977, 42, 143 do modo anteriormente descrito no exemplo preparativo 12 composto 4.1 para dar **XXXXI**. Espectro de massa (LCMS) 561 ( $\text{M}+\text{H}^+$ ).

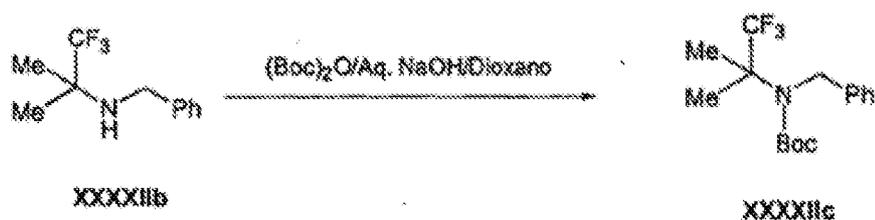
**Exemplo XXXXII Preparação do composto de fórmula XXXXII**

## Passo 1



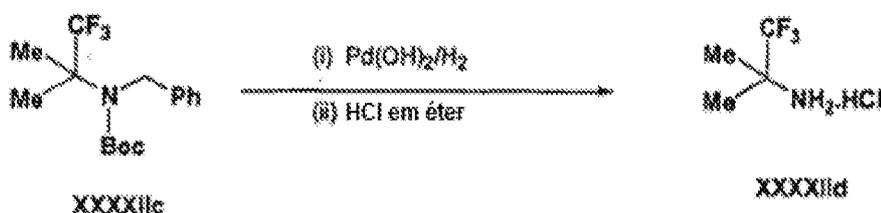
A uma solução com agitação e arrefecida (banho de acetona/gelo seco) da imina de partida **XXXXIIa** (3,679 g) em éter dietílico (50 mL) adicionou-se metil lítio 1,6 M em éter dietílico (12,6 mL). A mistura reaccional foi deixada aquecer até à temperatura ambiente ao longo de 2 horas. Adicionou-se  $\text{NaHCO}_3$  saturado e após agitação durante ~30 min a fase orgânica foi separada. Foi então lavada com solução aquosa saturada de cloreto de sódio, seca sobre  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  anidro e concentrada até à secura em vácuo. O produto em bruto foi submetido a cromatografia em gel de sílica (2% de acetato de etilo em n-hexano) para dar o produto desejado **XXXXIIb** (0,3 g).

## Passo 2



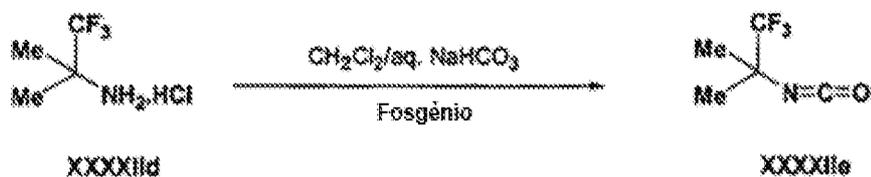
A uma solução com agitação e arrefecimento (banho de gelo) de **XXXXIIb** o produto do passo 1 (0,3 g) adicionou-se NaOH 1,0 N (1,38 mL) seguido por (Boc)<sub>2</sub>O. A mistura reaccional foi agitada à temperatura ambiente durante ~20 horas após o que foi distribuída entre acetato de etilo (50 mL) e água (10 mL). A fase de acetato de etilo foi separada, lavada com solução aquosa saturada de cloreto de sódio e seca sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anidro. A evaporação em vácuo até à secura deu o derivado NBoc desejado **XXXXIIc** (0,660 g), que foi utilizado sem purificação adicional no passo seguinte.

### Passo 3



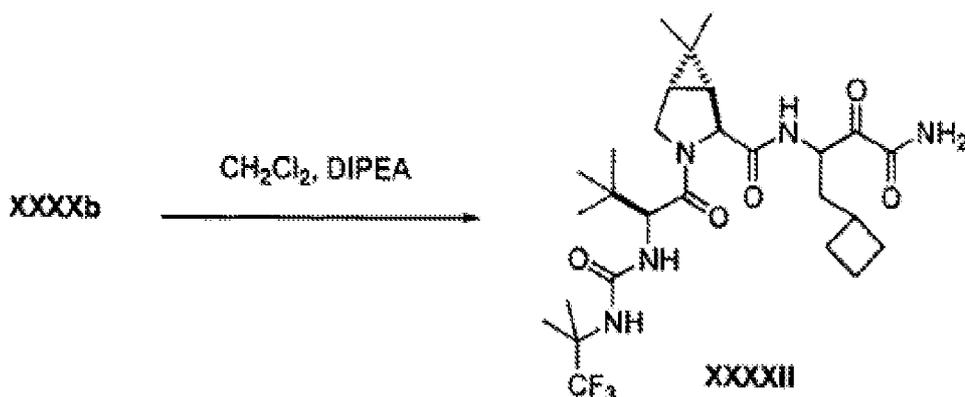
Uma solução do produto **XXXXIIc** do passo 2 em metanol (10 mL) foi hidrogenada na presença de Pd(OH)<sub>2</sub> até a cromatografia em camada fina mostrar a ausência do material de partida. O Pd(OH)<sub>2</sub> foi removido por filtração e lavado com metanol. O filtrado e lavagens combinados foram concentrados até à secura em vácuo para dar um sólido que foi dissolvido em metanol e tratado com HCl 1,0 N em éter dietílico. Após ~2 h a mistura reaccional foi evaporada até à secura em vácuo para dar **XXXXIIId** o cloridrato da amina desejada como um sólido branco (0,2 g).

## Passo 4

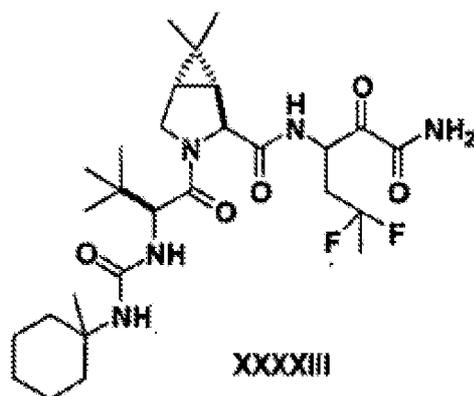
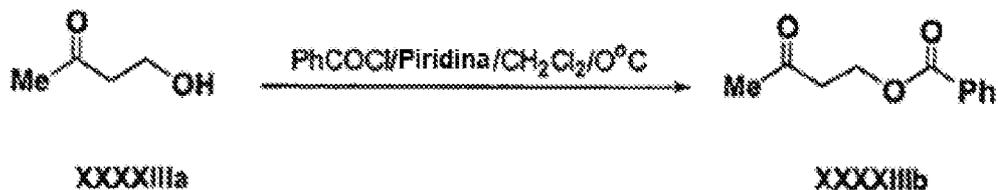


A uma solução com agitação e arrefecimento (banho de gelo) de **XXXXIId** o produto do passo C (0,1 g) em  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (6 mL) adicionou-se solução saturada de  $\text{NaHCO}_3$  (4 mL) seguida por fosgênio (0,64 mL). A mistura reaccional foi agitada a  $0^\circ\text{C}$  durante 30 min e à temperatura ambiente durante 1 h. A fase orgânica foi separada, seca sobre  $\text{MgSO}_4$  anidro e concentrada até à secura em vácuo para dar o isocianato desejado **XXXXIe** (0,0611 g).

## Passo 5

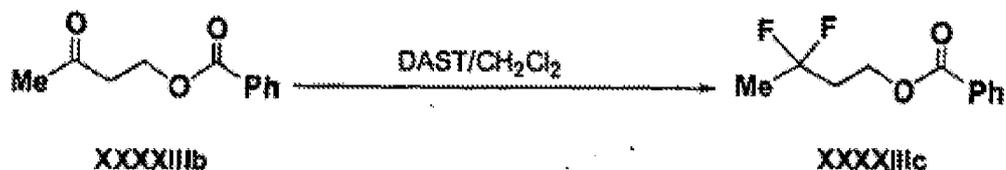


Fez-se reagir **XXXXIe**, o produto do passo 5, com **XXXXb** do exemplo preparativo XXXX do modo anteriormente descrito no Exemplo XXXIII para dar **XXXXII**. Espectro de massa (LCMS) 574 ( $\text{M}+\text{H}^+$ ).

**Exemplo XXXXIII Preparação do composto de fórmula XXXXIII****Passo 1**

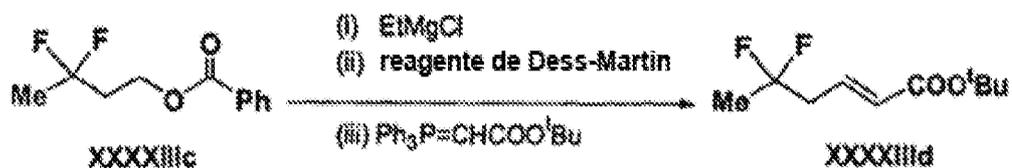
A uma solução arrefecida (banho de gelo) de 4-hidroxi-2-butanona (8,81 g) **XXXXIIIa** em CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (100 mL) adicionou-se com agitação cloreto de benzoílo (14,76 g) seguido por piridina (16,15 mL) e DMAP (0,01 g). A mistura reaccional foi agitada à temperatura ambiente de um dia para o outro e depois foi diluída com acetato de etilo (~200 mL). A solução foi lavada com CuSO<sub>4</sub> aquoso, NH<sub>4</sub>Cl aquoso e solução aquosa saturada de cloreto de sódio. A fase orgânica foi depois seca sobre MgSO<sub>4</sub> anidro e evaporada até à secura. O produto foi purificado por cromatografia em coluna em gel de sílica (5%-15% de acetato de etilo em n-hexano) para dar **XXXXIIIb** (16,3 g; 84,9%).

## Passo 2



A uma solução de **XXXXIIIb**, o produto do passo 1 (16,3 g) em  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (150 mL), adicionou-se DAST (26,1 mL) e a mistura reaccional foi agitada à temperatura ambiente durante ~72 horas. A mistura foi depois adicionada gota a gota a uma solução saturada fria de  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  (150 mL). A mistura foi diluída com acetato de etilo (~200 mL) e após agitação durante ~30 min a fase orgânica foi separada, lavada com solução aquosa saturada de cloreto de sódio e seca sobre  $\text{MgSO}_4$  anidro. A concentração em vácuo e purificação por cromatografia em gel de sílica (4% de acetato de etilo em n-hexano) deu **XXXXIIIc** (14,6 g; 80,4%).

## Passo 3

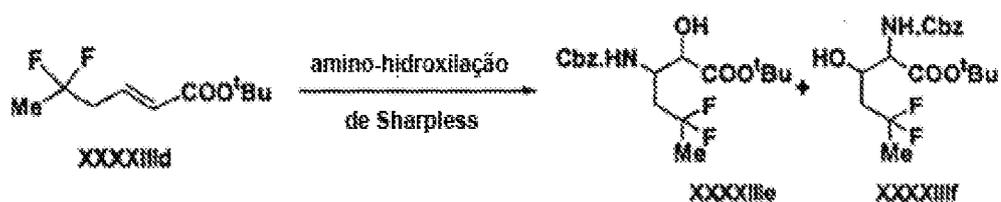


A uma solução de **XXXXIIIc**, o produto do passo 2 (4 g) em éter dietílico seco (150 mL) adicionou-se com arrefecimento (banho de gelo)  $\text{EtMgCl}$  (28 mL). A mistura

reaccional foi agitada no banho de arrefecimento durante ~6 horas após o que foi vertida em  $\text{NH}_4\text{Cl}$  aquoso saturado com arrefecimento com gelo. A camada orgânica foi separada, lavada com solução aquosa saturada de cloreto de sódio, seca sobre  $\text{MgSO}_4$  anidro e concentrada até à secura em vácuo. O resíduo foi dissolvido em  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (100 mL) e tratado com reagente de Dess-Martin (15,8 g). Após agitação à temperatura ambiente durante 1 h adicionou-se  $\text{Ph}_3\text{P}=\text{CHCOO}^t\text{Bu}$  (10,54 g). A agitação foi continuada durante ~20 horas. Adicionou-se acetato de etilo (~200 mL) seguido por uma mistura de  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$  saturado e  $\text{NaHCO}_3$  saturado (200 mL; 1/1) e foi agitada durante ~10 min. A camada orgânica foi separada e lavada sucessivamente com  $\text{NaHCO}_3$  saturado e solução aquosa saturada de cloreto de sódio. A fase orgânica lavada foi seca sobre  $\text{MgSO}_4$  anidro e evaporada até à secura em vácuo para dar o produto desejado em bruto.

A reacção acima referida foi repetida utilizando o produto do passo 2 (10,6 g). Os produtos finais em bruto das duas reacções foram combinados e submetidos a purificação por cromatografia em gel de sílica (10% de  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  em n-hexano) para dar **XXXXIIId** (7,93 g; 57%).

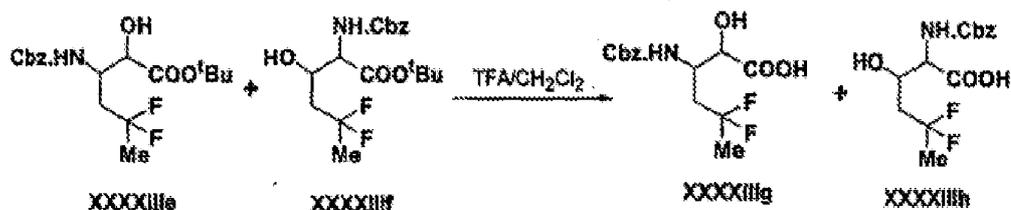
#### Passo 4



Dissolveu-se carbamato de benzilo (8,92 g) em álcool n-propílico (79 mL). À solução resultante adicionou-se com agitação uma solução preparada de fresco de NaOH (2,33 g) em água (145 mL), seguida por hipoclorito de terc-butilo (6,57 mL). À mistura resultante adicionou-se (DHQ)<sub>2</sub>PHAL (0,742 g) dissolvido em álcool n-propílico (66 mL) seguido por **XXXXIIId** (19,05 mmol). O catalisador de ósmio, K<sub>2</sub>OsO<sub>2</sub>(OH)<sub>2</sub> foi depois adicionado e a mistura reaccional foi agitada à temperatura ambiente durante 1 h.

A reacção acima referida foi repetida utilizando **XXXXIIId** (19,36 mmol). As duas reacções foram combinadas a que se seguiu a diluição com acetato de etilo (500 mL). A mistura foi agitada com água (100 mL), a fase orgânica foi separada e lavada com água, solução aquosa saturada de cloreto de sódio e finalmente seca sobre MgSO<sub>4</sub> anidro. A evaporação em vácuo deu o produto em bruto que foi cromatografado em gel de sílica (10%-20% de acetato de etilo em n-hexano) para dar o produto desejado puro (3 g) como uma mistura de **XXXXIIIe** e **XXXXIII f**

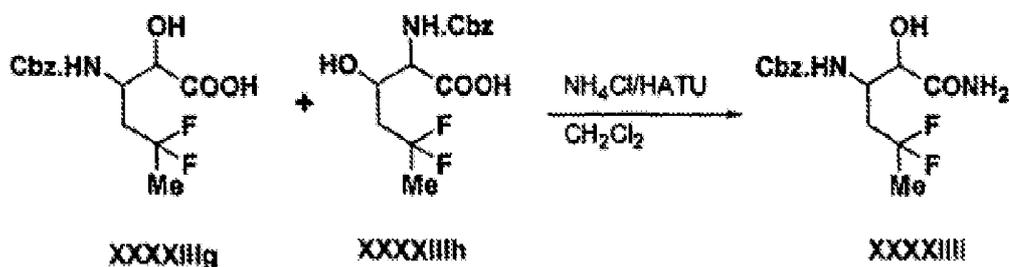
#### Passo 5



Uma solução com agitação de **XXXXIII f** e **XXXXIIIe** o

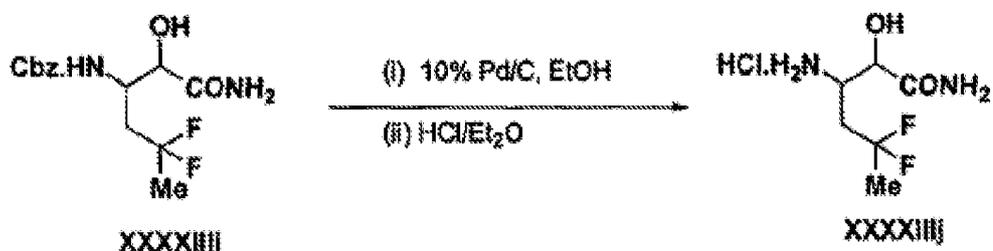
produto do passo 4 em  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (50 mL) foi tratada com ácido trifluoroacético (50 mL). Após 4 horas a mistura reaccional foi concentrada até à secura em vácuo. O resíduo foi dissolvido em  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  aquoso a 10% e a solução foi lavada com éter dietílico e a fase aquosa acidificada com  $\text{H}_2\text{SO}_4$  2 M até pH ~1,5. A extracção da solução ácida com acetato de etilo seguida por secagem sobre  $\text{MgSO}_4$  anidro e evaporação em vácuo deu o produto desejado como uma mistura de **XXXXIIIg** e **XXXXIIIh** (2,6 g).

#### Passo 6



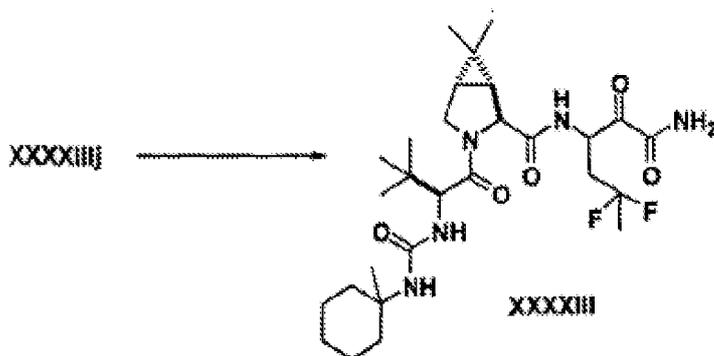
A uma solução do produto do passo 5 (1 g) em  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (50 mL) adicionou-se HATU (1,43 g),  $\text{NH}_4\text{Cl}$  (0,842 g) e DMSO (5,59 mL). A mistura reaccional foi agitada à temperatura ambiente durante ~20 horas, diluída com acetato de etilo e lavada com  $\text{NaHCO}_3$  saturado e solução aquosa saturada de cloreto de sódio. A fase orgânica foi depois seca sobre  $\text{MgSO}_4$  anidro e concentrada até à secura em vácuo para dar o produto em bruto. A cromatografia em gel de sílica (10% de n-hexano em acetato de etilo) deu numa das fracções o produto desejado **XXXXIIIi** puro (0,205 g).

## Passo 7

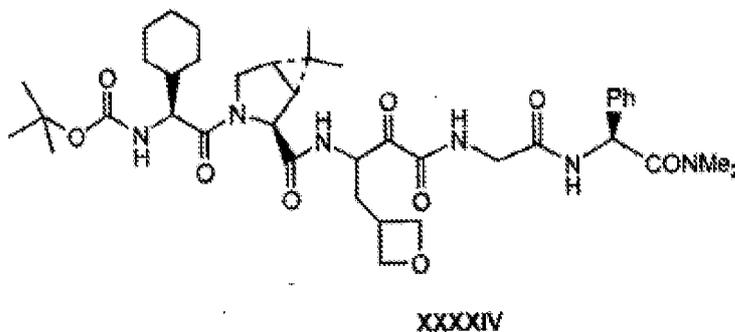
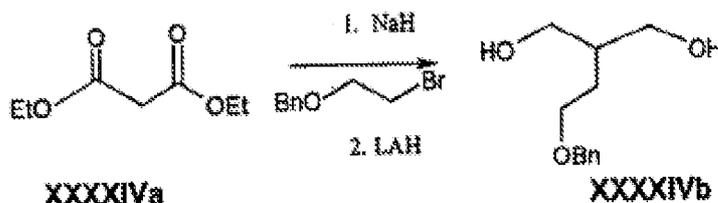


A uma solução de **XXXXIIIi** o produto do passo 6 (0,205 g) em etanol (15 mL) adicionou-se catalisador de Pd a 10% sobre C. A suspensão resultante foi hidrogenada até a cromatografia em camada fina indicar consumo completo do material de partida (~3 horas). O catalisador foi removido por filtração e lavado com etanol. O filtrado e lavagens combinados foram evaporados em vácuo até à secura para dar o produto desejado **XXXXIIIj** (0,164 g).

## Passo 8



**XXXXIIIj** foi convertido em **XXXXIII** seguindo o procedimento semelhante ao do exemplo XXVIII e XXXIII.

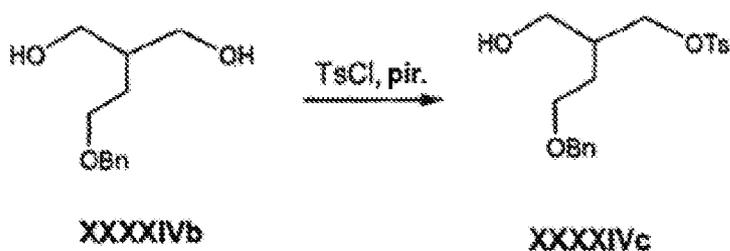
**Exemplo XXXXIV Preparação do composto de fórmula XXXXIV****Passo 1**

Adicionou-se malonato de etilo **XXXXIVa** (5,4 mL; 36 mmol) a uma suspensão de NaH (1,44 g de uma dispersão a 60% em óleo mineral; 0,9 eq.) em tetra-hidrofurano anidro (THF; 60 mL) a 0°C, em atmosfera de azoto e a mistura foi agitada à temperatura ambiente durante 30 min. Adicionou-se éter benzil 2-bromoetilico (8,5 mL; 40 mmol) antes de se aquecer a reacção a refluxo durante um período de 24 h. Após arrefecimento, a reacção foi partilhada entre EtOAc e HCl diluído (aproximadamente 1 M). A camada orgânica foi separada, seca (MgSO<sub>4</sub>) e concentrada para dar um resíduo.

O resíduo anteriormente referido foi dissolvido em THF anidro (100 mL) e adicionou-se uma solução de hidreto de alumínio e lítio (LAH; 66 mL de uma solução 1,0 M) sob atmosfera de azoto e a mistura resultante foi

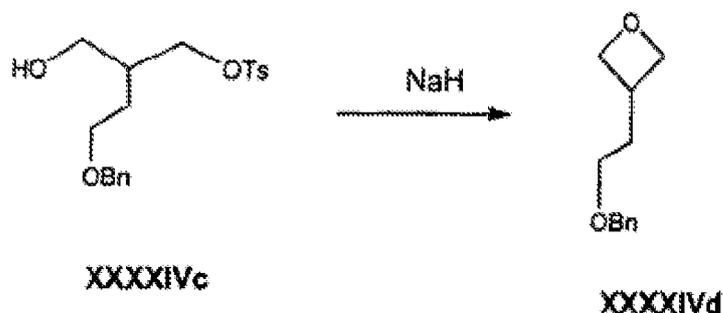
agitada à temperatura ambiente durante um período de 4 h e adicionou-se EtOAc seguido por HCl diluído. A camada orgânica foi separada, lavada com solução aquosa saturada de cloreto de sódio, seca ( $\text{MgSO}_4$ ) e concentrada. O produto de reacção em bruto foi purificado por cromatografia em coluna em gel de sílica utilizando EtOAc:hexano (70:30) como eluente para dar o diol **XXXXIVb** desejado (3,59 g) como um óleo incolor.

### Passo 2



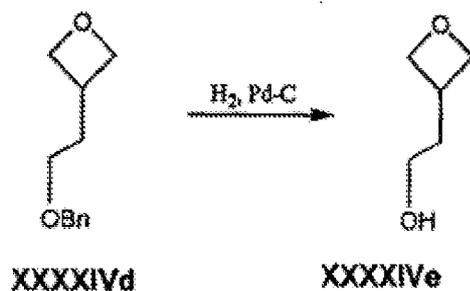
Adicionou-se cloreto de p-toluenossulfonilo (1,12 g; 5,9 mmol) ao diol **XXXXIVb** (1,00 g; 4,9 mmol) numa mistura de diclorometano (15 mL) e piridina (1,18 mL; 14,6 mmol) e a mistura resultante foi agitada à temperatura ambiente de um dia para o outro (aproximadamente 16 h). A mistura reaccional foi partilhada entre EtOAc e HCl aquoso diluído. A fase orgânica foi separada, lavada com bicarbonato de sódio aquoso saturado, seca ( $\text{MgSO}_4$ ) e concentrada a pressão reduzida. O resíduo foi purificado por cromatografia em coluna em gel de sílica utilizando EtOAc:hexano (30:70) como eluente para dar i) o ditosilato (0,291 g), seguido por ii) o mono-tosilato **XXXXIVc** desejado (1,02 g) e iii) diol recuperado (0,27 g).

## Passo 3

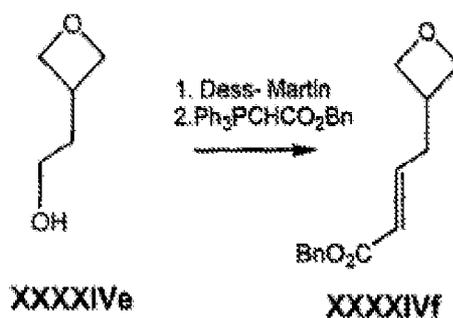


Adicionou-se o mono-tosilato **XXXXIVc** (1,0 g; 2,8 mmol) em dimetilformamida anidra (DMF; 3 mL) a uma suspensão de NaH (0,333 g de uma dispersão a 60% em óleo mineral; 8,3 mmol) em DMF (13 mL) e a mistura resultante foi agitada à temperatura ambiente durante um período de 3 h. A mistura reaccional foi partilhada entre EtOAc e água. A fase orgânica foi separada, lavada com solução aquosa saturada de cloreto de sódio, seca ( $\text{MgSO}_4$ ) e concentrada para dar um resíduo que foi purificado por cromatografia em coluna em gel de sílica utilizando EtOAc:hexano (1:5) como eluente para dar o oxetano **XXXXIVd** desejado (0.37g) como um óleo incolor.

## Passo 4

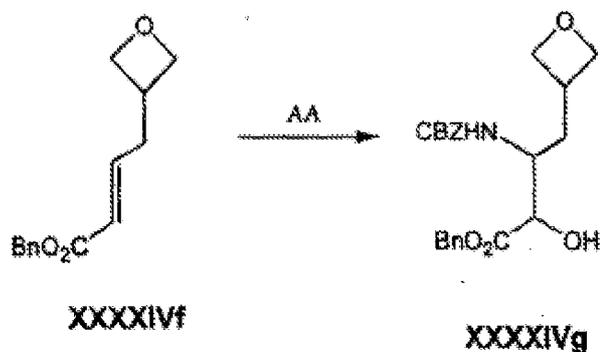


Uma suspensão de Pd a 10% sobre C (0,10 g) e o éter benzílico **XXXXIVd** (0,33 g) em metanol (10 mL) foi colocada em atmosfera de hidrogénio (balão) durante um período de 1 h. A mistura reaccional foi filtrada através de uma camada de celite e o sólido foi bem lavado com metanol. O filtrado combinado foi concentrado a pressão reduzida para dar o álcool **XXXXIVe** (0,17 g) como um óleo incolor utilizado em procedimentos subseqüentes sem purificação.

**Passo 5**

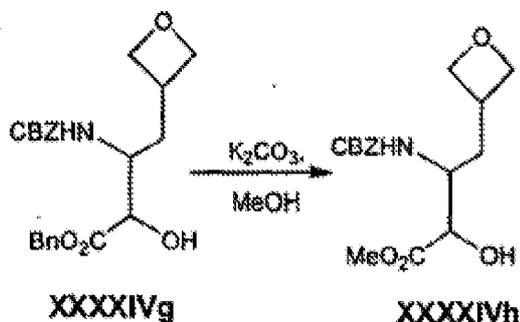
Adicionou-se periodinano de Dess-Martin (0,658 g; 0,16 mmol) a uma solução do álcool **XXXXIVe** (0,144g; 1,4 mmol) em diclorometano (5 mL) e agitou-se à temperatura ambiente durante um período de 1 h, antes da adição de fosforano (0,637 g; 0,16 mmol). A mistura reaccional resultante foi agitada durante um período de aproximadamente 16 h, depois foi partilhada entre EtOAc e água. A fase orgânica foi separada, seca (MgSO<sub>4</sub>) e concentrada a pressão reduzida. O resíduo foi purificado por cromatografia em coluna em gel de sílica utilizando EtOAc:hexano 1:5 para dar o éster **XXXXIVf** (0,131 g) como um óleo incolor.

## Passo 6



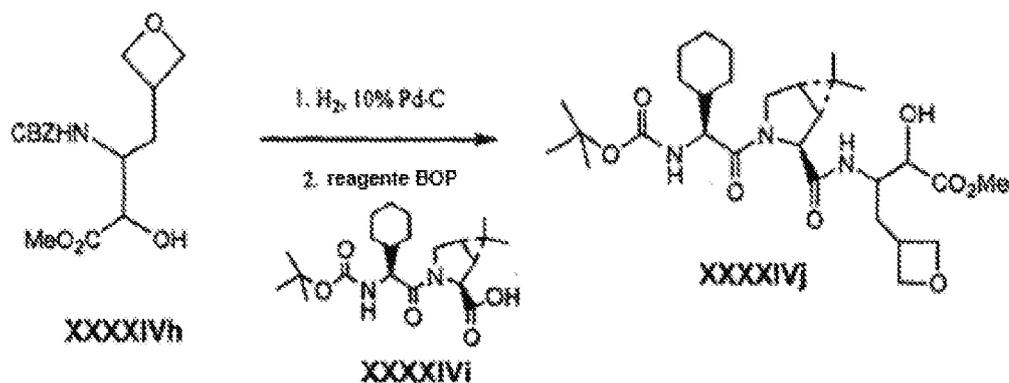
Dissolveu-se carbamato de benzilo (0,657 g; 4,3 mmol) em n-propanol (6 mL). Adicionou-se hidróxido de sódio aquoso (0,171 g; 4,3 mmol, em 11 mL de água) seguido por hipoclorito de terc-butilo (0,49 mL; aproximadamente 4,3 mmol) e uma solução de (DHQ)<sub>2</sub>PHAL (0,056g) em n-propanol (5 mL). A mistura resultante foi colocada num banho de água e agitada durante 5 min antes da adição da olefina **XXXXIVf** (0,326 g; 1,4 mmol) seguida por di-hidrato de osmato de potássio (0,021 g). A mistura reaccional resultante foi agitada durante 3 h, e adicionada a EtOAc. A camada aquosa foi separada e lavada com EtOAc. As fases orgânicas combinadas foram lavadas com solução aquosa saturada de cloreto de sódio, secas (MgSO<sub>4</sub>) e concentradas a pressão reduzida. O resíduo foi purificado por cromatografia em coluna em gel de sílica utilizando EtOAc:hexano (7:3) como eluente para dar o alfa-hidroxi éster **XXXXIVg** (0,367 g), contendo aproximadamente 20% do beta-hidroxi éster indesejado.

## Passo 7



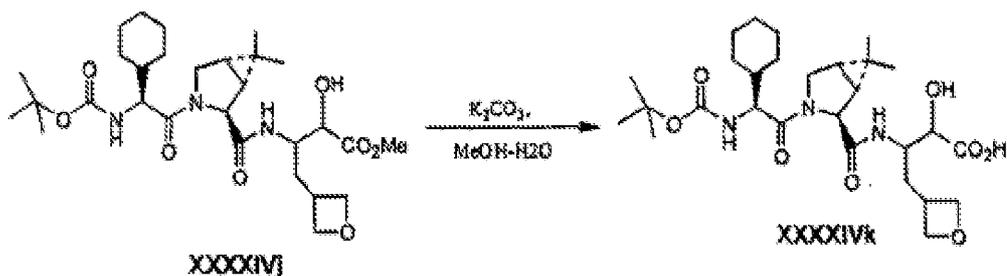
Adicionou-se carbonato de potássio (0,100 g) a uma solução de metanol (30 mL) de aproximadamente 2 g do éster benzílico **XXXXIVg** (contaminado com uma pequena quantidade de carbamato de benzilo). A mistura resultante foi agitada à temperatura ambiente durante 2 h, depois foi partilhada entre EtOAc e água. A fase orgânica foi separada, lavada com solução aquosa saturada de cloreto de sódio, seca e concentrada a pressão reduzida. O resíduo foi purificado por cromatografia em coluna em gel de sílica utilizando EtOAc:hexanos (7:3) para dar o éster **XXXXIVh** (1,02 g).

## Passo 8



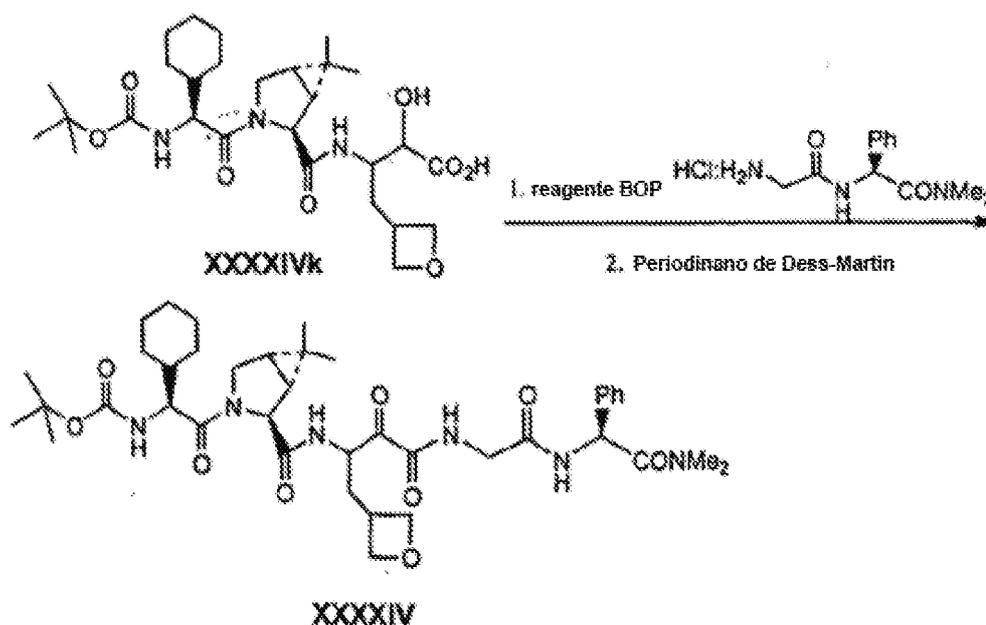
Uma suspensão de Pd a 10% sobre C (0,030 g) e o carbamato de benzilo **XXXXIVh** (0,090 g) em metanol (5 mL) foi colocada em atmosfera de hidrogénio (balão) durante um período de 1 h. A reacção foi filtrada através de uma camada de celite e o sólido foi bem lavado com metanol. O filtrado combinado foi concentrado a pressão reduzida para dar a amina intermediária (0,050g) que foi utilizada imediatamente. Adicionou-se reagente BOP (0,131 g; 0,31 mmol) seguida por trietilamina (0,130 mL; 0,93 mmol) a uma mistura da amina (0,050 g; 0,28 mmol) e o ácido carboxílico **XXXXIVi** (0,121 g; 0,31 mmol) em diclorometano (3 mL) e a mistura resultante foi agitada durante um período de 4 h e partilhada entre HCl aquoso diluído (aproximadamente 1 M) e EtOAc. A fase orgânica foi separada, lavada com bicarbonato de sódio aquoso saturado, seca ( $\text{MgSO}_4$ ) e concentrada a pressão reduzida. O resíduo foi purificado por cromatografia em coluna em gel de sílica utilizando EtOAc como eluente para dar o éster metílico **XXXXIVj** (0,107 g) como um sólido branco.

### Passo 9



Adicionou-se carbonato de potássio (0,054 g; 0,39 mmol) ao éster **XXXXIVj** (0,107 g; 0,19 mmol) numa mistura de metanol (3 mL) e água (1 mL) e a reacção resultante foi agitada durante um período de 16 h e partilhada entre EtOAc e água. A fase orgânica foi separada, lavada com solução aquosa saturada de cloreto de sódio, seca e concentrada para dar o ácido **XXXXIVk** (0,099 g).

### Passo 10

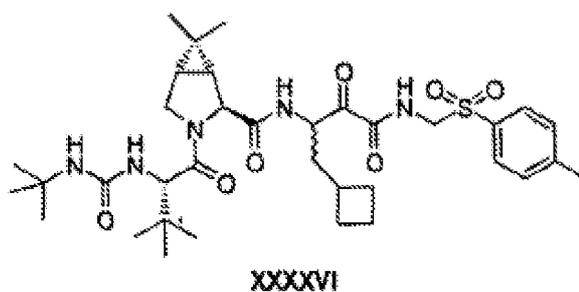


Adicionou-se trietilamina (0,035 mL; 0,25 mmol) a uma mistura do ácido carboxílico **XXXXIVk** (0,041 g; 0,08 mmol), o sal cloridrato (0,023 g; 0,08 mmol) e reagente BOP (0,037 g; 0,08 mmol) em diclorometano (3 mL) e a mistura resultante foi agitada à temperatura ambiente durante um período de 4 h. A reacção foi partilhada entre EtOAc e HCl aquoso diluído (1 M). A fase orgânica foi separada, lavada

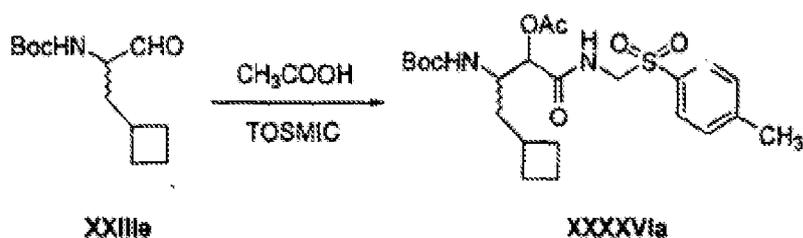
com bicarbonato de sódio aquoso saturado e água, seca e concentrada a pressão reduzida.

O resíduo do procedimento anterior foi dissolvido em diclorometano (3 mL) e adicionou-se periodinano de Dess-Martin (0,065 g; 0,15 mmol) e a mistura foi agitada à temperatura ambiente durante 2 h. A reacção foi partilhada entre sulfito de sódio aquoso a 5%, bicarbonato de sódio aquoso saturado, água, seca e concentrada a pressão reduzida. O resíduo foi purificado por cromatografia em coluna em gel de sílica utilizando  $\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{MeOH}$  20:1 como eluente para dar a alfa-ceto amida **XXXXIV** (0,021 g). FABMS:  $\text{MH}^+$ , 767,4.

**Exemplo XXXXVI Preparação do composto de fórmula XXXXVI**

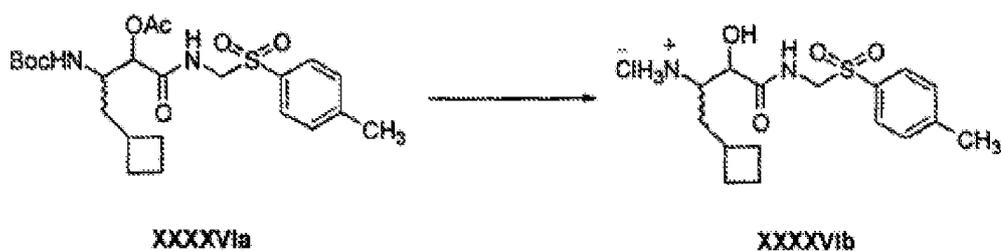


**Passo 1**



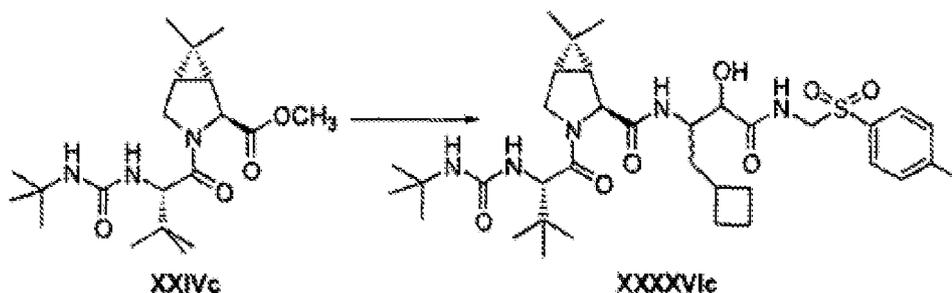
Uma solução de aldeído **XXIIIe** (0,626 g, 2,75 mmol), TOSMIC (1,63 g, 8,27 mmol) e CH<sub>3</sub>COOH (0,48 mL, 8,27 mmol) em CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> seco (15 mL) foi agitada à t.a. durante 36 h. A mistura reaccional foi concentrada em vácuo e purificada por cromatografia (SiO<sub>2</sub>, EtOAc/Hexano 2:3) para dar 0,90 g (68%) de **XXXXVla** como um sólido incolor  
MS (ES) *m/z*, intensidade relativa 965 [(2M+1)<sup>+</sup>, 30], 483 [(M+1)<sup>+</sup>, 53], 427 (60), 383 (100), 365 (71), 272 (64).

### Passo 2



Uma solução de **XXXXVla** (0,9 g, 1,86 mmol) em HCl (30 mL, 6 M em CH<sub>3</sub>OH, preparada por adição de cloreto de acetilo a CH<sub>3</sub>OH a 0°C) foi agitada à t.a. de um dia para o outro. A mistura reaccional foi concentrada em vácuo e utilizada tal e qual no passo seguinte. MS (ES) *m/z*, intensidade relativa 681 [(2M+1)<sup>+</sup>, 26], 341 [(M+1)<sup>+</sup>, 100], 180 (40)

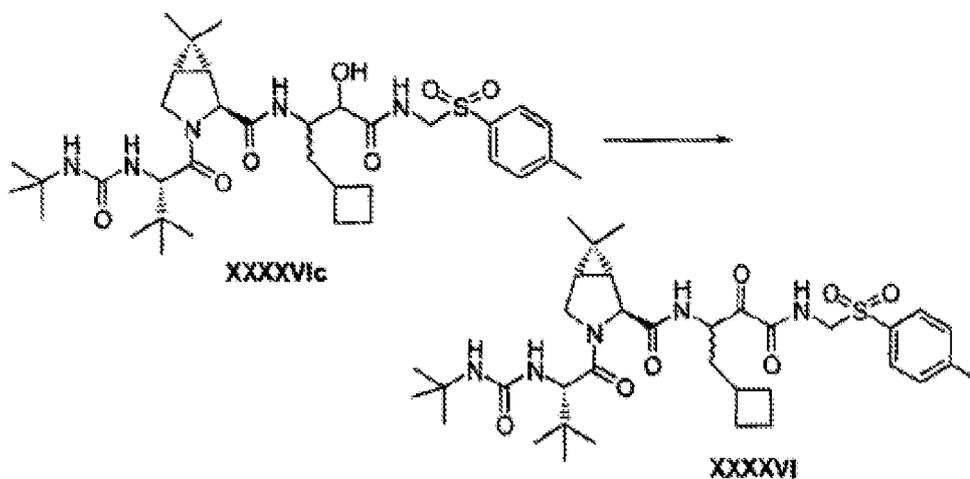
### Passo 3



A síntese de **XXXXVIc** foi realizada utilizando **XXIVc** (134 mg, 0,36 mmol) e amina **XXXXVIb** (120 mg, 0,32 mmol) seguindo o procedimento descrito para o exemplo XXIV do passo 3 para dar produto **XXXXVIc** que foi utilizado para oxidação adicional sem purificação.

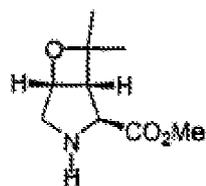
MS (ES)  $m/z$ , intensidade relativa 690 [(M+1)<sup>+</sup>, 100], 591 (27), 537 (18), 513 (27), 478 (63), 438 (18), 414 (60), 268 (27)

#### Passo 4



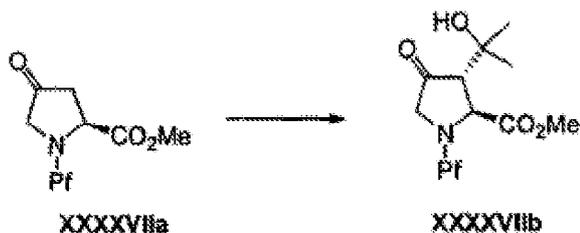
A síntese de **XXXXVI** foi realizada por oxidação utilizando álcool **XXXXVIc** (219 mg, 0,32 mmol), EDCI (609 mg, 3,2 mmol), e Cl<sub>2</sub>CHCOOH (131 μL, 1,59 mmol) seguindo o procedimento descrito no exemplo XXIV, passo 4 que foi purificado por cromatografia (SiO<sub>2</sub>, acetona/hexanos 3:7) para dar produto **XXXXVI** (117 mg, 53% ao longo de 2 passos) como um sólido incolor.

MS (ES)  $m/z$ , intensidade relativa 638 [(M+1)<sup>+</sup>, 32], 539 (81), 476 (100)

Síntese de IntermediáriosExemplo XXXXVII Preparação do intermediário de fórmula XXXXVII

XXXXVII

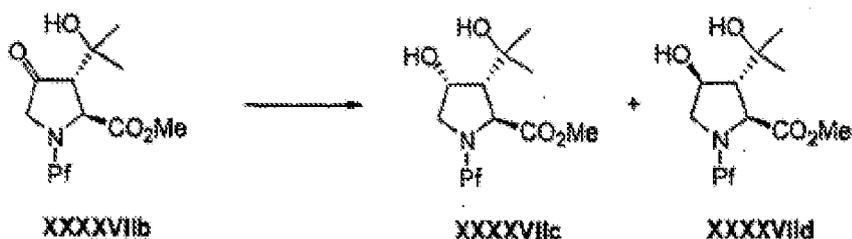
## Passo 1



À solução de cetona **XXXXVIIa** (4,93 g, 12,8 mmol) em THF anidro (100 mL) a  $-78^{\circ}\text{C}$  adicionou-se uma solução de hexametildisililazida de lítio (LiHMDS) (17,0 mL, 17,0 mmol). A solução resultante foi agitada a essa temperatura durante 1 h antes de se adicionar uma solução de acetona (1,51 mL, 20,5 mmol) e  $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$  (2,60 mL, 20,5 mmol) em THF (15 mL). Após agitação durante outras 4 h, adicionou-se  $\text{H}_3\text{PO}_4$  a 5% (20 mL) seguida por solução de cloreto de amônio saturado (200 mL) e éter dietílico (200 mL). As camadas foram separadas e camada aquosa foi extraída com éter dietílico (2 X 200 mL). A solução orgânica combinada foi seca ( $\text{MgSO}_4$ ), filtrada e concentrada em vácuo. O produto em bruto foi purificado por cromatografia "flash" com 20-50%

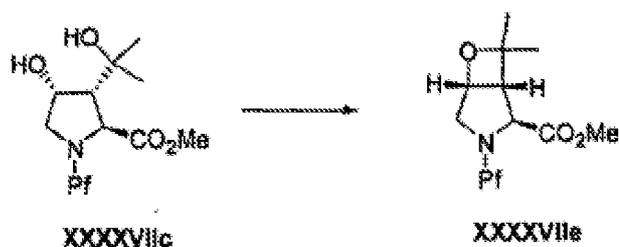
de EtOAc/hexano para dar 1,84 g de **XXXXVIIb** (33%) e 3,26 g de material de partida **XXXXVIIa**

### Passo 2



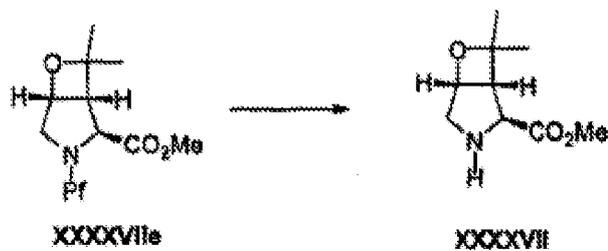
À solução da cetona **XXXXVIIb** (0,94 g, 2,13 mmol) em THF anidro (20 mL) a  $-78^{\circ}\text{C}$  adicionou-se uma solução de  $\text{LiAlH}_4$  em THF (2,6 mL, 2,6 mmol) e a mistura reaccional foi agitada durante 40 min antes de se adicionar solução de  $\text{KHSO}_4$  (1,0 M, 16 mL). A mistura foi deixada aquecer até à t.a. e adicionou-se EtOAc (100 mL) e água (50 mL). Depois de as camadas terem sido separadas a camada aquosa foi extraída com EtOAc (2 X 50 mL). A solução orgânica combinada foi seca ( $\text{MgSO}_4$ ), filtrada e concentrada em vácuo. O produto em bruto foi purificado por cromatografia "flash" com 30-100% de EtOAc/hexano para dar 0,49 g de **XXXXVIIc** (52%) e 0,18 g (19%) de **XXXXVIIId**.

### Passo 3



Uma solução de **XXXXVIc** (103 mg, 0,232 mmol), trifenilfosfina (120 mg, 0,456 mmol) e azodicarboxilato de dietilo (0,055 mL, 0,349 mmol) em CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> anidro (5 mL) foi agitada à t.a. durante 18 h. Após concentração em vácuo, a mistura foi purificada por cromatografia em coluna "flash" utilizando 10-30% de EtOAc/hexano para dar 24 mg (24%) de **XXXXVIe**.

#### Passo 4

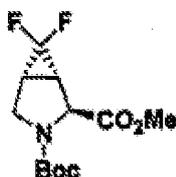


Uma solução de **XXXXVIe** em EtOH foi hidrogenada à t.a. com catalisador de Pd a 10% sobre C a **XXXXVH**.

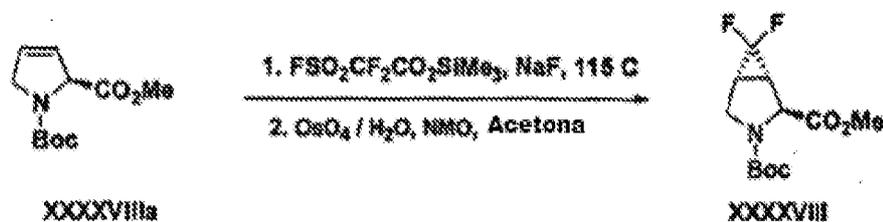
Vários inibidores utilizando os intermediários **XXXXVII** foram sintetizados seguindo os procedimentos descritos nos exemplos preparativos XXIII, XXIV, XXVIII, XXIX e XXXX.

#### Exemplo XXXXVIII Preparação do intermediário de fórmula

#### XXXXVII



## Passo 1



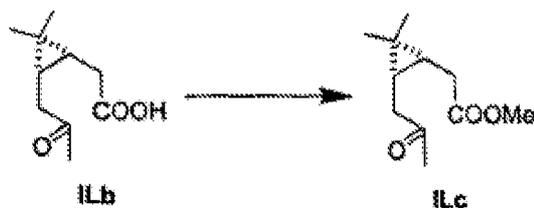
A 5 g (22 mmol) de éster metílico de N-Boc-desidroprolina **XXXXVIIIa** adicionou-se 25 mg de NaF e 2 g de tolueno. A 110C, adicionou-se através de uma seringa-bomba 1,6 equiv (35 mmol, 8,75 g) de difluoroacetato de TMS-fluorossulfonilo (TFDA) em 1 h. Após 2 h, a reacção é arrefecida até à T.A. À mistura adiciona-se NMO (6,8 g, 50 mmol), acetona (50 mL), H<sub>2</sub>O (25 mL) e OsO<sub>4</sub> (0.015 M em H<sub>2</sub>O, 1% molar, 0,44 mmol, 28 mL). A reacção é agitada de um dia para o outro à T.A. e depois diluída com EtOAc e lavada com H<sub>2</sub>O e solução aquosa saturada de cloreto de sódio. A camada orgânica foi seca sobre MgSO<sub>4</sub>, filtrada e concentrada até à secura. A purificação por cromatografia em coluna "flash" (10% de EtOAc, hexano, sílica) deu produto **XXXXVIII** (0,76 g).

Diversos inibidores foram sintetizados utilizando o intermediário **XXXXVIII** seguindo os procedimentos descritos nos exemplos preparativos XXIII, XXIV, XXVIII, XXIX e XXXX.



EtOAc-hexano (2:1), e o extracto foi combinado com a porção etérea do filtrado. Os extractos orgânicos combinados foram lavados com 300 mL de NaCl aquoso a 20%, depois extraídos com uma solução de 36 g de NaOH em 2,2 L água. O extracto aquoso arrefecido foi acidificado com 100 mL de HCl 12 N e extraído com Et<sub>2</sub>O (3 x 300 mL). O extracto foi lavado com solução aquosa saturada de cloreto de sódio, seco sobre MgSO<sub>4</sub> anidro, e evaporado em vácuo para dar o composto em epígrafe **ILb** 98 g (88%) como uma goma. <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ 2,39 (m, 2), 2,28 (m, 2), 2,19 (s, 3), 1,1,12 (s, 3), 0,90 (m, 2), 0,,63 (s, 3), 293.

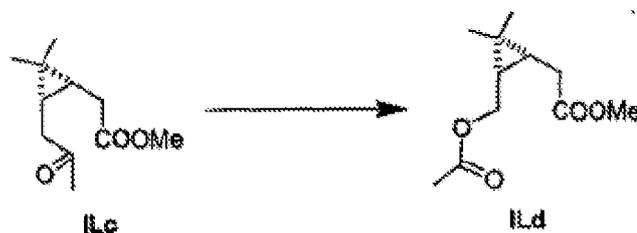
**Passo 2.** (1R,3S)-2,2-DIMETIL-3-(2OXOPROPIL)CICLOPROPANO-ACETATO DE METILO



Uma solução de 96 g de **ILb**, o produto do passo anterior, e 0,55 L de DMF foi tratada com 98 g de Cs<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>. A mistura foi agitada durante 10 minutos, adicionou-se 41,5 mL de MeI e a mistura foi agitada a 40°C durante 1 h. A mistura foi arrefecida e filtrada num funil de Buchner. O filtrado foi desactivado com 2,5 L de NaCl aquoso a 10%, a camada orgânica foi separada e a solução aquosa foi extraída com Et<sub>2</sub>O-hexano (1:1; 2 x 1 L). A camada orgânica e extractos combinados foram lavados com água, secos sobre

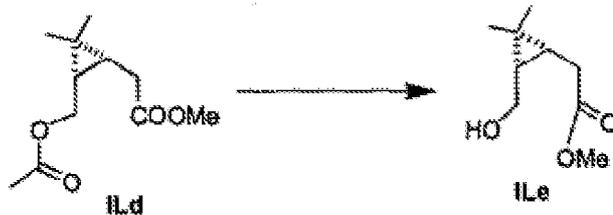
MgSO<sub>4</sub> anidro, filtrados e evaporados em vácuo para dar o composto em epígrafe **ILc** como 91 g (86%) de um óleo espesso. <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ 3,67 (s, 3), 2,3 (m, 4), 2,17 (s, 3), 1,12 (s, 3), 0,97 (m, 2), 0,91 (s, 3).

**Passo 3.** (1R,3S)-3-(ACETOXIMETIL)-2,2-DIMETILCICLOPROPANO-ACETATO DE METILO.



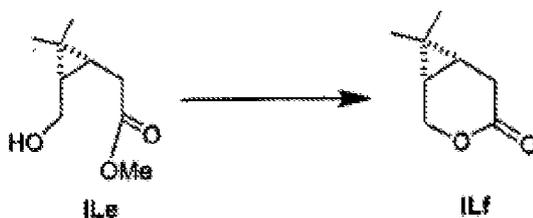
Uma solução de **ILc** 91 g do produto do passo anterior e 0,7 L de 1,1,2-tricloroetano foi tratada com 165 g de ácido m-cloroperbenzóico a 70%. A mistura foi agitada à temperatura ambiente durante 1 h, depois aquecida com um banho de óleo para manter uma temperatura de reacção de 65-70°C durante 1 h e depois aquecida a 75°C durante mais 1 h. A mistura foi arrefecida, filtrada num funil de Buchner e o bolo de filtração foi lavado com tricloroetano fresco. O filtrado e lavagens combinados foram concentrados em vácuo até 0,5 L, e o resíduo foi diluído com 2,5 L de hexano-Et<sub>2</sub>O (3:1). A solução orgânica foi lavada repetidamente com uma solução de K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> aquoso a 3,5%-solução aquosa saturada de cloreto de sódio (3:1; 8 x 0,9 L), depois com solução aquosa saturada de cloreto de sódio, depois seca sobre MgSO<sub>4</sub> anidro, filtrada e evaporada em vácuo para dar o composto em epígrafe **ILd** como 98 g (100%) de óleo espesso. <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ 4,1-3,9 (m, 2), 3,63 (s, 3), 2,34 (d, 2), 2,04 (s, 3), 1,12 (s, 3), 1,04 (m, 2), 1,00 (s, 3).

**Passo 4.** (1R,3S)-3-(HIDROXIMETIL)-2,2-DIMETILCICLOPROPANO-ACETATO DE METILO



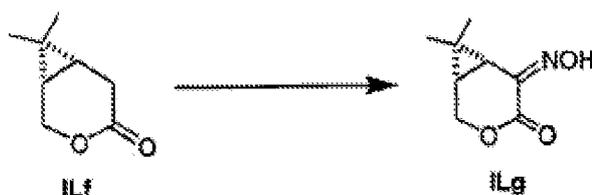
Uma solução de 93 g de **ILd** do produto do passo anterior e 1 L metanol foi tratada com 19 g de  $K_2CO_3$  e a mistura foi agitada a  $30^\circ C$  durante 1 h. A mistura foi concentrada em vácuo para remover 0,6 L de metanol, o resíduo foi desactivado com  $KH_2PO_4$  aquoso a 10% frio e a mistura foi extraída com EtOAc. O extracto foi lavado com solução aquosa saturada de cloreto de sódio, seco sobre  $MgSO_4$  anidro, filtrado e evaporado em vácuo para dar 70 g (89%) do composto em epígrafe **ILe** como uma goma.  $^1H$  NMR ( $CDCl_3$ )  $\delta$  3,30 (q, 1), 3,73 (s, 3), 3,52 (m, 1), 2,68 (d de d, 1), 2,23 (d de d, 1), 1,09 (s, 3), 1,1-0,9 (m, 2), 0,98 (s, 3).

**Passo 5.** (1S,6R)-7,7-DIMETIL-3-OXABICICLO[4.1.0]HEPTAN-4-ONA.



Uma solução de **ILe** 70 g do produto do passo anterior e 1,1 L de xilenos foi tratada com 30,8 g de DBU. A solução foi aquecida a refluxo suave durante 18 h à medida que o metanol era removido do destilado. A solução foi arrefecida, lavada com HCl 1 N frio, depois com solução aquosa saturada de cloreto de sódio, seca sobre MgSO<sub>4</sub> anidro, filtrada e evaporada em vácuo. O resíduo foi cromatografado em 600 g de gel de sílica utilizando um gradiente de CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> até EtOAc-CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> 1:10 para se obter o composto em epígrafe **ILf** como 54 g (94%) de um óleo. <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ 4,71 (d de d, 1), 4,04 (d de d, 1), 2,75 (d de d, 1), 2,16 (d de d, 1), 1,16 (s, 3), 1,25 (m, 1), 1,12 (s, 3).

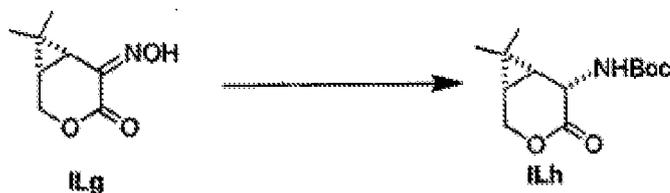
**Passo 6.** (1S,6R,5E)-7,7-DIMETIL-3-OXABICICLO[4.1.0]HEPTANO-4,5-DIONA, 5-OXIMA.



Uma solução de 42 g do produto do passo anterior **ILf** e 300 mL de tolueno anidro foi tratada com 102 mL de nitrito de terc-butilo a 90%. A mistura com agitação foi alternadamente aquecida e arrefecida consoante necessário à medida que se adicionou 45 g de terc-butóxido de potássio em 6 porções ao longo de 20 minutos a 30-35°C. Em seguida adicionou-se 180 mL de metanol anidro, a temperatura subiu para 40°C e a agitação continuou a 40°C durante 2,5 h. A

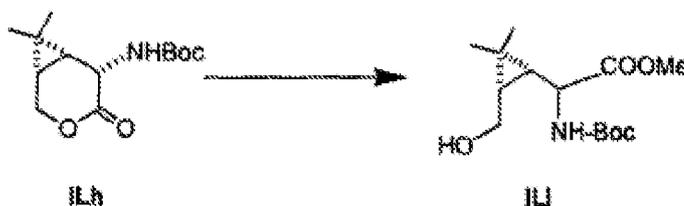
mistura foi arrefecida, desactivada com uma solução arrefecida de 1,1 L de aquoso a 10% e 20 mL de HCl 12 N, depois foi extraída com EtOAc-tolueno (3:1). Os extractos foram lavados com NaHCO<sub>3</sub> aquoso a 5%, depois com solução aquosa saturada de cloreto de sódio, secos sobre MgSO<sub>4</sub> anidro, filtrados e evaporados em vácuo. O resíduo (25 g) foi cromatografado em 150 g de gel de sílica utilizando um gradiente de CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> até EtOAc-CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> 35:65 para se obter 15 g (29%) do composto em epígrafe **ILg** como um óleo. <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ 4,82 (d de d, 1), 4,55 (d de d, 1), 2,40 (d, 1), 1,49 (m, 1), 1,27 (s, 3), 1,18 (s, 3).

**Passo 7.**



Uma solução de 18 g do produto do passo anterior **ILg** e 400 mL de EtOAc foi tratada com 32 g de dicarbonato de di-terc-butilo (Boc<sub>2</sub>O), e 2,0 g de Pd a 10% sobre carvão. A mistura foi hidrogenada a 2,5 atm durante 18 h, filtrada, e o filtrado evaporado para dar 36 g do composto em epígrafe misturado com Boc<sub>2</sub>O, que foi utilizado directamente no passo seguinte. Uma porção foi cromatografada para se obter **ILh** como composto em epígrafe puro: <sup>1</sup>H NMR (DMSO-d<sub>6</sub>) δ 7,28 (d, NH), 4,76-4,64 (m, 2), 4,44 (d, 1), 1,40 (s, 9), 1,24 (m, 1), 1,11 (m, 2), 1,07 (s, 3), 0,99 (s, 3).

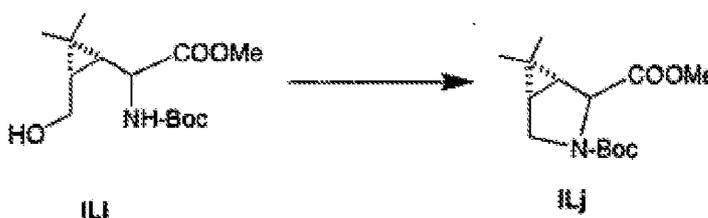
**Passo 8.** (1R,3S)-ALFA(S)-[[ (1,1-DIMETILETOXI) CARBONIL]-AMINO]-3-(HIDROXIMETIL)-2,2-DIMETILCICLOPROPANOACETATO DE METILO



Uma solução de 35 g de **ILh** a mistura de produtos do passo anterior e 350 mL de metanol anidro foi tratada com 12 g de  $K_2CO_3$  anidro finamente pulverizado. A mistura foi agitada vigorosamente durante 2 h, concentrada em vácuo com um banho a  $25^\circ C$ , e depois desactivada com 0,6 L de  $KH_2PO_4$  aquoso a 10%. A solução foi extraída com EtOAc-hexano (95:5; 2 x 200 mL), os extractos foram lavados com solução aquosa saturada de cloreto de sódio, secos sobre  $MgSO_4$  anidro, filtrados, e o filtrado foi evaporado em vácuo para dar **ILi** 22 g (70%) do composto em epígrafe como uma goma de mistura dos dois epímeros numa proporção  $\alpha$ -S/ $\alpha$ -R de 8:2, que não teve de ser separada para os presentes fins. Uma porção foi cromatografada com  $Et_2O$ -hexano (60:40) para se obter o epímero  $\alpha$ -S puro do composto em epígrafe:  $^1H$  NMR ( $CDCl_3$ )  $\delta$  5,2 (br s, 1), 4,05 (br s, 1), 3,81 (m, 1), 3,76 (s, 3), 3,65 (m, 1), 1,43 (s, 9), 1,14 (s, 3), 1,06 (s, 3), 1,05 (m, 1), 0,86 (m, 1). Rotação óptica:  $[\alpha]_D^{25}$   $62,9^\circ$  (c=1, MeOH). Análise elementar: teórica C 58,52, H 8,77, N 4,87; determinada C 58,48, H 8,75, N 5,10.

A eluição subsequente deu o epímero  $\alpha$ -R do composto em epígrafe:  $^1\text{H NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  4,95 (br d, 1), 4,03 (m, 1), 3,82 (m, 1), 3,78 (s, 3), 3,71 (m, 1), 1,44 (s, 9), 1,13 (m, 1), 1,10 (s, 3), 1,08 (s, 3), 0,86 (m, 1). Rotação óptica:  $[\alpha]_{\text{D}}^{25}$   $32,8^\circ$  ( $c=1$ , MeOH). Análise elementar: teórica C 58,52, H 8,77, N 4,87; determinada C 58,46, H 8,69, N 4,74.

**Passo 9.** ÉSTER 3-(1,1-DIMETILETIL) 2-METÍLICO DO ÁCIDO (1R,5S)-6,6-DIMETIL-,3-AZABICICLO[3.1.0]HEXANO-2(S),3-DICARBOXÍLICO



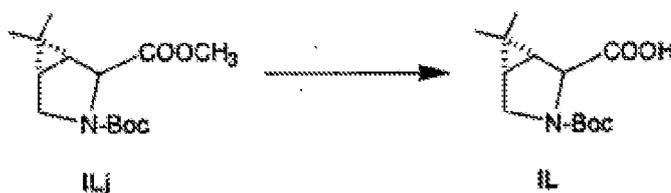
Uma solução de 21,6 g de trifenilfosfina e 250 mL THF anidro foi arrefecida a  $-10^\circ\text{C}$  e tratada gota a gota com 16,2 g de azodicarboxilato de diisopropilo à medida que a temperatura da reacção subiu para  $+5^\circ\text{C}$ . Após 5 minutos de agitação adicional, a mistura foi tratada com uma solução de 19,7 g de **1Li** a mistura de produtos do passo anterior em 35 mL THF. Após mais 10 minutos de agitação, a mistura foi aquecida a refluxo durante 3 h, arrefecida, e evaporada em vácuo. O resíduo foi transferido para uma ampola de separação com um total de 450 mL de metanol-água (1:1), e a mistura bifásica foi extraída com hexano (7 x 225 mL). Os extractos combinados foram lavados com 20 mL de metanol-água (1:1), depois com solução aquosa saturada de cloreto de sódio, secos sobre  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  anidro, filtrados e o filtrado

evaporado em vácuo. O resíduo foi retomado em 400 mL de hexano, filtrado por sucção através de uma camada de 30 g de gel de sílica, e a camada de sílica foi eluída com mais 210 mL de EtOAc-hexano (1:9). Os filtrados combinados foram evaporados em vácuo para dar 12,8 g (69%) do composto em epígrafe **ILj** como uma goma da mistura dos 2 epímeros, contaminada com uma pequena quantidade de hidrazinodicarboxilato de diisopropilo, mas adequada para as reacções subsequentes.

O epímero *S* puro do passo anterior foi tratado do mesmo modo para dar o epímero *S* puro do composto em epígrafe:  $^1\text{H NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  4,21 e 4,09 (s+s, 1), 3,75 (s, 3), 3,65 (m, 1), 3,41 (m, 1), 1,44 e 1,39 (s+s, 9), 1,38 (m, 2), 1,03 (s, 3), 0,98 e 0,97 (s+s, 3). Análise elementar: teórica C 62,43, H 8,61, N 5,20; determinada C 61,82, H 8,67, N 5,15.

O epímero *R* puro do passo anterior foi tratado do mesmo modo para dar o epímero *R* puro do composto em epígrafe:  $^1\text{H NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  4,49 e 4,30 (d+d, 1), 3,62 (s, 3), 3,59 (m, 1), 3,42 (m, 1), 1,65 (m, 1), 1,45 e 1,39 (s+s, 9), 1,36 (m, 1), 1,10 (s, 3), 0,99 (s, 3).

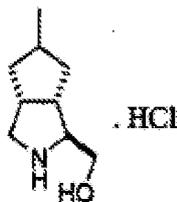
#### Passo 10.



Uma solução de 14,5 g da mistura de produtos **ILj** do passo anterior e 270 mL de 1,4-dioxano foi tratada com 135 mL de LiOH aquoso 1 M, e a mistura foi aquecida a 80°C durante 4 h. A mistura foi arrefecida, concentrada em vácuo até metade do volume, diluída com 200 mL água, e extraída com hexano. A camada aquosa foi refrigerada e tratada com uma solução de 9 mL de HCl 12 N em 50 mL de KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> aquoso a 10%, e depois extraída com EtOAc. O extracto foi lavado com solução aquosa saturada de cloreto de sódio, seco sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anidro, filtrado e o filtrado evaporado em vácuo para dar o composto em epígrafe **IL** como 10,8 g (78%) de uma goma, >90% quimicamente e diastereomericamente puro por PMR, e adequado para a síntese subsequente: <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ 4,20 e 4,11 (s+s, 1), 3,62 (m, 1), 3,44 (m, 1), 1,68 e 1,45 (d+desconhecido, 1), 1,46 e 1,40 (s+s, 9), 1,45 (m por baixo de 1,46, 1), 1,07 (s+s, JJ= 2 Hz, 3), 0,99 e 0,95 (s+s, 3).

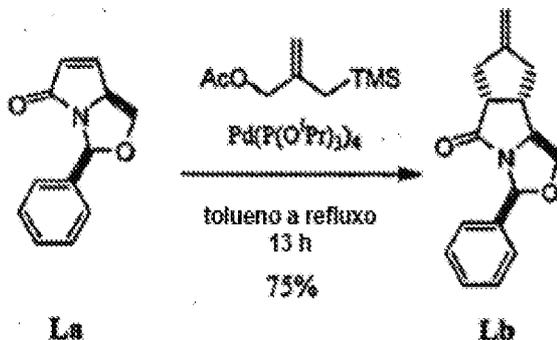
Vários inibidores foram sintetizados utilizando os intermediários **IL** seguindo os procedimentos descritos nos exemplos preparativos XXIII, XXIV, XXVIII, XXIX e XXXX.

#### Exemplo L Preparação do intermediário de fórmula L



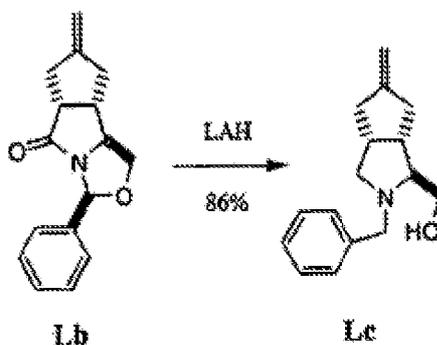
L.

## Passo 1



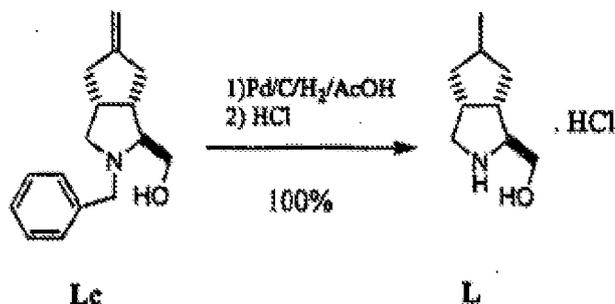
A uma mistura de **La** (10,0 g, 50,0 mmole), acetato de 2-[(trimetilsilil)metil]-2-propanen-1-ilo (22,0 g, 118 mmole) e fosfito de triisopropilo (18,6 g, 89,2 mmole) em tolueno (50 mL) adicionou-se acetato de paládio(II) (2,5 g, 11 mmole) com agitação à temperatura ambiente sob atmosfera de Ar. Foi aquecida a 120°C (banho de óleo) durante treze horas. O arrefecimento até à temperatura ambiente seguido por cromatografia "flash" (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>:hexano = 4:1) deu 9,55 gramas de **Lb** (75%).  $[\alpha]^{25} = +132^\circ$  (CHCl<sub>3</sub>). HRMS (FAB) Calculada para C<sub>16</sub>H<sub>18</sub>NO<sub>2</sub> (MH<sup>+</sup>): 256,1338; determinada: 256,1340.

## Passo 2



A uma solução de **Lb** (2 g, 7,8 mmol) em THF anidro (50 mL) adicionou-se LAH (1,13g, 28,9 mmol) em pequenas porções a 0°C. A mistura foi depois aquecida a refluxo durante seis horas antes de ser arrefecida a 0°C. À reacção foram cuidadosamente adicionados 2 mL de H<sub>2</sub>O, 2 mL de NaOH a 15% e 6 mL de H<sub>2</sub>O. O sólido foi removido por filtração e o filtrado concentrado foi cromatografado (2% de MeOH em CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>) para dar 1,33 gramas de **Lc** (70%). HRMS (FAB) Calculada para C<sub>16</sub>H<sub>22</sub>NO (MH<sup>+</sup>): 244,1701; determinada: 244,1697.

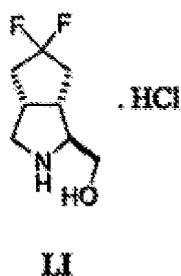
### Passo 3



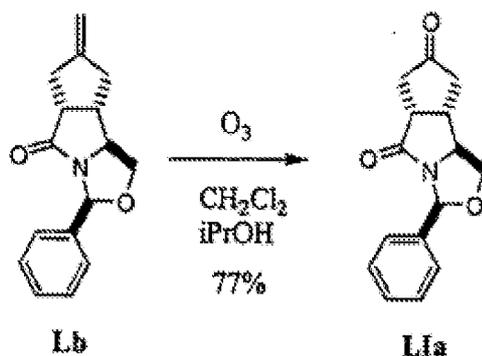
Uma mistura de composto **Lc** (1,33 g, 5,46 mmol) e Pd a 10% sobre carvão (1,3 gramas) em ácido acético (20 mL) foi hidrogenada sob 60 psi durante três dias. O catalisador foi separado por filtração e o filtrado foi concentrado em vácuo. O resíduo foi dissolvido em 20 mL de HCl 4 N em dioxano e a solução foi evaporada até à secura. Obteve-se 1,04 gramas (100%) do composto **L** como uma mistura 1:1 de dois epímeros. HRMS (FAB) Calculada para C<sub>9</sub>H<sub>18</sub>NO (MH<sup>+</sup>): 156,1388; determinada: 156,1390.

Vários inibidores foram sintetizados utilizando os intermediários **L** seguindo os procedimentos descritos nos exemplos preparativos XXIII, XXIV, XXVIII, XXIX e XXXX.

**Exemplo LI Preparação do intermediário de fórmula LI**

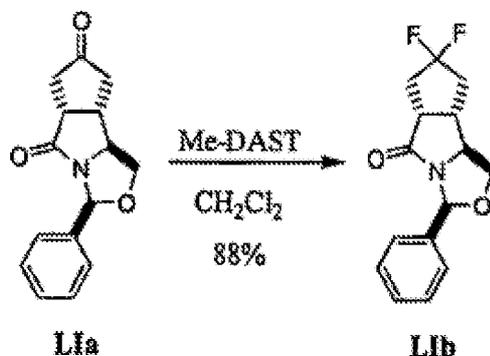


**Passo 1**



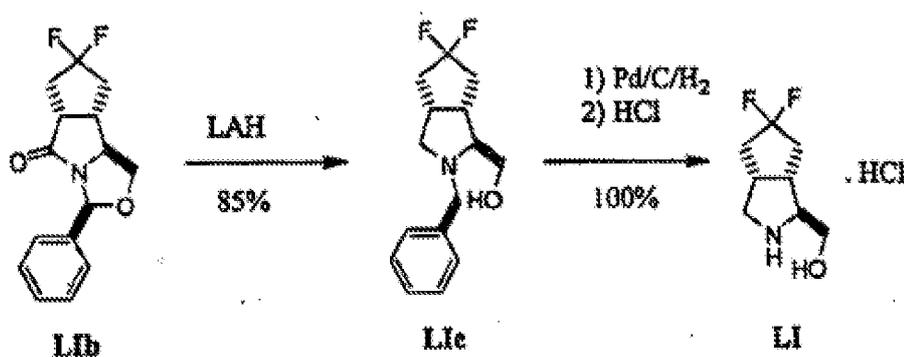
O composto **Lb** (2,6 g, 10,2 mmol) numa mistura de  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (30 mL) e  $i\text{PrOH}$  (10 mL) foi ozonizado a  $-78^\circ\text{C}$  até persistir uma cor azulada (ca. de 40 minutos). Adicionou-se sulfureto de dimetilo (10 mL) e a solução foi agitada à temperatura ambiente de um dia para o outro. O solvente foi removido em vácuo e o resíduo foi partilhado entre água e EtOAc. A fase orgânica foi lavada com solução aquosa saturada de cloreto de sódio, seca sobre  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  e concentrada. A cromatografia "flash" (2% de MeOH em  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ) deu 2,32 gramas de **LIa** (77%). MS ( $\text{MH}^+$ , FAB) = 257.

## Passo 2



A uma solução de **L1a** (0,86 g, 3,35 mmol) em  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  seco (30 mL) adicionou-se trifluoreto de dimetilamino-enxofre (metil DAST, 2,23 g, 16,8 mmol) à temperatura ambiente. A solução foi agitada à temperatura ambiente durante dois dias. Foi cuidadosamente adicionada a uma mistura de gelo e  $\text{NaHCO}_3$  saturado e extraída com EtOAc. A solução de EtOAc foi lavada com solução aquosa saturada de cloreto de sódio, seca sobre  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  e concentrada. O resíduo foi cromatografado (0,8 % de MeOH em  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ) para dar **L1b** (0,82 g, 88%). HRMS (FAB) Calculada para  $\text{C}_{15}\text{H}_{16}\text{NO}_2\text{F}_2$  ( $\text{MH}^+$ ): 280,1149; determinada: 280,1152.

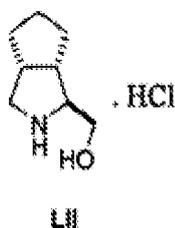
## Passo 3



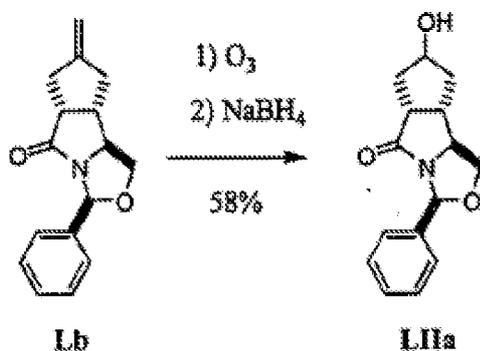
Seguindo os mesmos procedimentos que os descritos para a preparação de **L** a partir de **Lb** até **L** 0,44 gramas de **L**Ib**** deram 0,31 gramas de **L**I**** (92% em dois passos). HRMS (FAB) Calculada para  $C_8H_{14}NOF_2$  (MH<sup>+</sup>): 178,1043; determinada: 178,1042.

Vários inibidores foram sintetizados utilizando os intermediários **L**I**** seguindo os procedimentos descritos para os exemplos preparativos XXIII, XXIV, XXVIII, XXIX e XXXX.

#### Exemplo LII Preparação do intermediário de fórmula LII



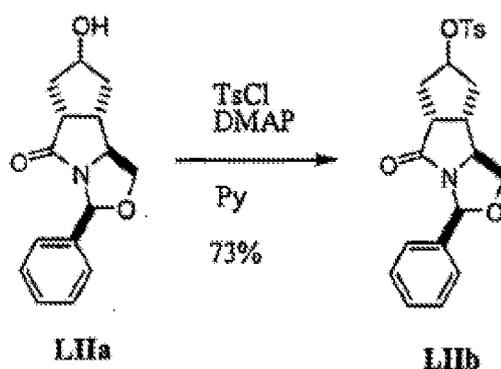
#### Passo 1



O composto **Lb** (3,74 g, 14,7 mmol) em CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (30 mL) foi ozonizado a -78°C até persistir uma cor azulada (ca. 60 minutos). Foi purgado com N<sub>2</sub> durante 5 min, e

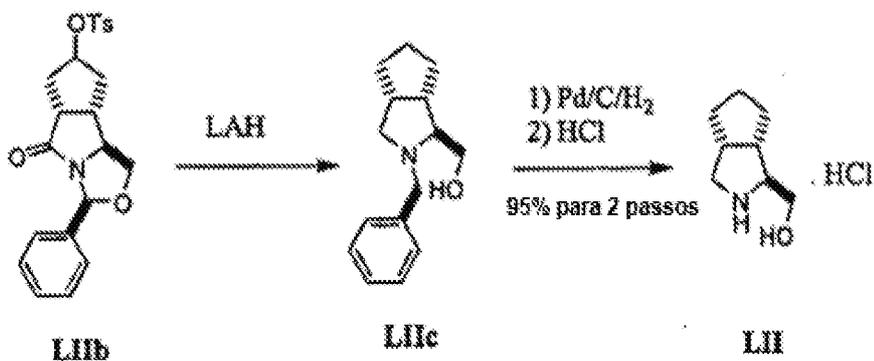
adicionou-se a uma solução fria de  $\text{NaBH}_4$  (4,44g, 117 mmol) em 50 mL de  $\text{EtOH}/\text{H}_2\text{O}$  (1:1). Foi agitado durante 12 horas à TA e depois extraído duas vezes com  $\text{EtOAc}$ . A camada orgânica combinada foi lavada com solução aquosa saturada de cloreto de sódio, seca sobre  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  e concentrada. O resíduo foi cromatografado (2% de  $\text{MeOH}$  em  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ) para dar **LIIa** (2,19 g, 58%). HRMS (FAB) Calculada para  $\text{C}_{15}\text{H}_{18}\text{NO}_3$  (MH<sup>+</sup>): 260,1287; determinada: 260,1283.

### Passo 2



A uma solução de **LIIa** (2,18 g, 8,40 mmol) em piridina seca (50 mL) adicionou-se cloreto de toluenossulfonilo (3,2 g, 16,8 mmol) e N,N-dimetilaminopiridina (1,03 g, 8,40 mmol). Agitou-se à TA durante 3 dias e concentrou-se em vácuo. O resíduo foi partilhado entre ácido cítrico a 3% e  $\text{EtOAc}$ . A camada orgânica foi lavada de novo com ácido cítrico a 3%, seguido por solução aquosa saturada de cloreto de sódio. Após remoção do solvente o resíduo foi cromatografado para dar **LIIb** (2,54 g, 73%). HRMS (FAB) Calculada para  $\text{C}_{22}\text{H}_{24}\text{SNO}_5$  (MH<sup>+</sup>): 414,1375; determinada: 414,1378.

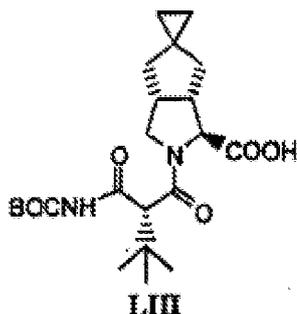
## Passo 3



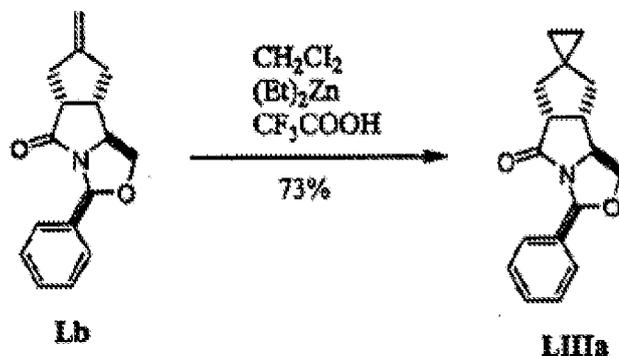
Seguindo os mesmos procedimentos que os descritos para a preparação de **L** a partir de **Lb** até **L**, 2,53 gramas de **LIIb** deram 1,03 gramas de **LII** (95% em dois passos). HRMS (FAB) Calculada para  $\text{C}_8\text{H}_{16}\text{NO}$  (MH<sup>+</sup>): 142,1232; determinada: 142,1233.

Vários inibidores foram sintetizados utilizando os intermediários **LII** seguindo os procedimentos descritos para os exemplos preparativos XXIII, XXIV, XXVIII, XXIX e XXXX.

**Exemplo LIII Preparação do intermediário de fórmula LIII**

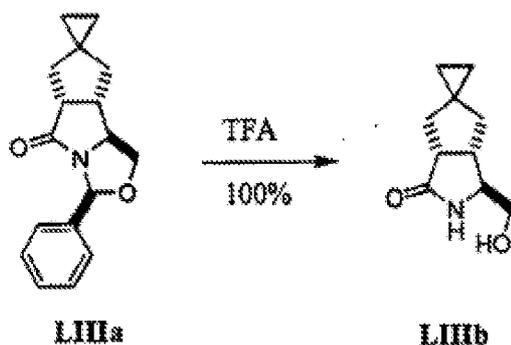


## Passo 1



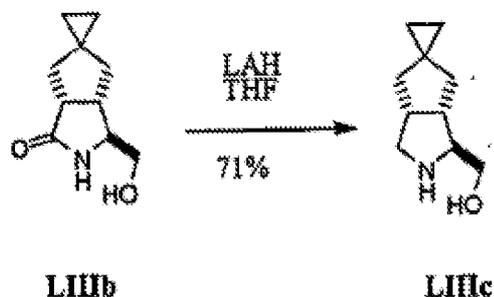
A 7,84 mmol de dietil zinco (1 N em hexano) em  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  seco (30 mL) adicionou-se ácido trifluoroacético (0,893 g, 7,84 mmol) gota a gota a  $0^\circ\text{C}$ . Após agitação durante mais 20 min adicionou-se diiodometano (2,10 g, 7,84 mmol), seguido por **Lb** (1 g, 3,92 mmol) em 5 mL de  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  ao longo de 20 min. O banho de gelo foi retirado e a mistura foi agitada à TA durante 14 horas. A reacção foi desactivada por  $\text{NH}_4\text{Cl}$  saturado e extraída com EtOAc. A solução de EtOAc foi lavada com  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  saturado, seguida por solução aquosa saturada de cloreto de sódio e concentrada em vácuo. O resíduo foi cromatografado para dar **LIIIa** (4,61 g, 73%). HRMS (FAB) Calculada para  $\text{C}_{17}\text{H}_{20}\text{NO}_2$  (MH<sup>+</sup>): 270,1494; determinada: 270,1497.

## Passo 2



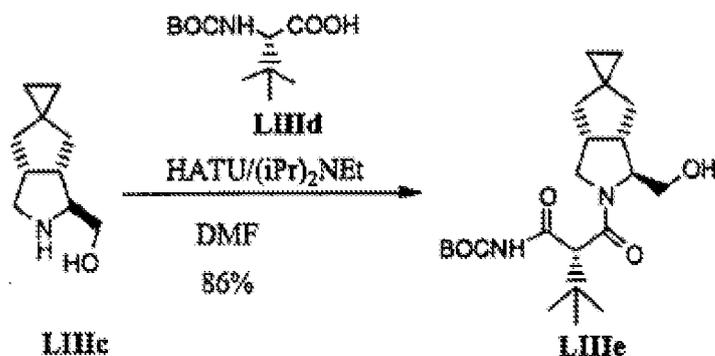
Adicionou-se ácido trifluoroacético (TFA, 10 mL) a uma solução de **LIIIIa** (4,6 g, 17,1 mmol) em THF (20 mL) e H<sub>2</sub>O (20 mL) à TA. Após agitação de um dia para o outro os solventes foram removidos em vácuo. O resíduo foi partilhado entre NaHCO<sub>3</sub> saturado e EtOAc. A fase aquosa foi reextraída com EtOAc cinco vezes. A fase orgânica combinada foi seca sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> e concentrada. O resíduo foi cromatografado para dar **LIIIIb** (3,1 g, 100%). HRMS (FAB) Calculada para C<sub>10</sub>H<sub>16</sub>NO<sub>2</sub> (MH<sup>+</sup>): 182,1181; determinada: 180,1182.

### Passo 3



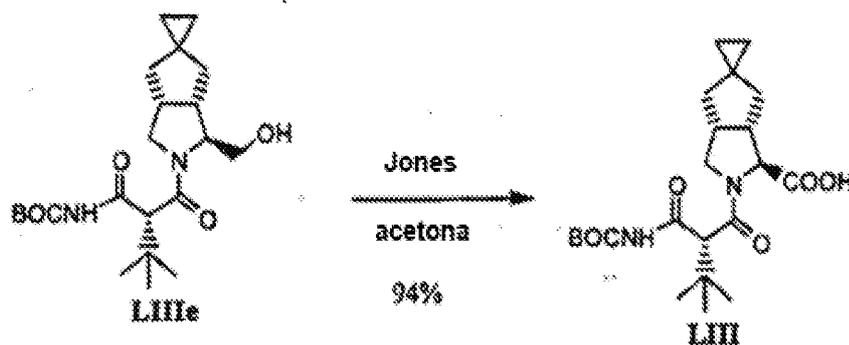
Adicionou-se LAH (1,76 g, 46,3 mmol) a **LIIIIb** em THF seco (50 mL) em pequenas porções a 0°C. A mistura foi depois aquecida a refluxo durante seis horas antes de ser arrefecida a 0°C. À reacção adicionou-se cuidadosamente 2 mL de H<sub>2</sub>O, 2 mL de NaOH a 15% e 6 mL de H<sub>2</sub>O. O sólido foi removido por filtração e o filtrado concentrado foi cromatografado (30% de MeOH em CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> com 1% de NH<sub>4</sub>OH) para dar 0,39 gramas de **LIIIIc** (71 %). HRMS (FAB) Calculada para C<sub>10</sub>H<sub>18</sub>NO (MH<sup>+</sup>): 168,1388; determinada: 168,1389.

## Passo 4



A uma mistura de **LIIIc** (0,5 g, 2,99 mmol), **LIIIId** (0,69 g, 2,99 mmol) e HATU (1,14 g, 3 mmol) em DMF seca (20 mL) adicionou-se N,N-diisopropiletilamina (1 mL, 5,89 mmol) a 0°C. Agitou-se à TA durante 3 horas. A mistura reaccional foi partilhada entre H<sub>2</sub>O e EtOAc. A camada orgânica foi sucessivamente lavada com ácido cítrico a 3%, NaHSO<sub>4</sub> saturado e solução aquosa saturada de cloreto de sódio, seca sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> e concentrada. O produto **LIIIe** (0,978g, 86%) assim obtido estava suficientemente puro para o passo seguinte. HRMS (FAB) Calculada para C<sub>21</sub>H<sub>37</sub>N<sub>2</sub>O<sub>4</sub> (MH<sup>+</sup>): 381,2910; determinada: 381,2749.

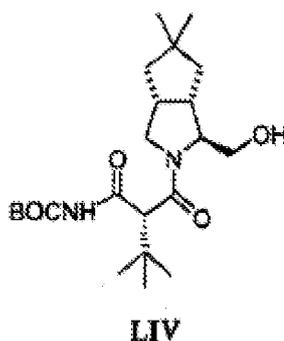
## Passo 5



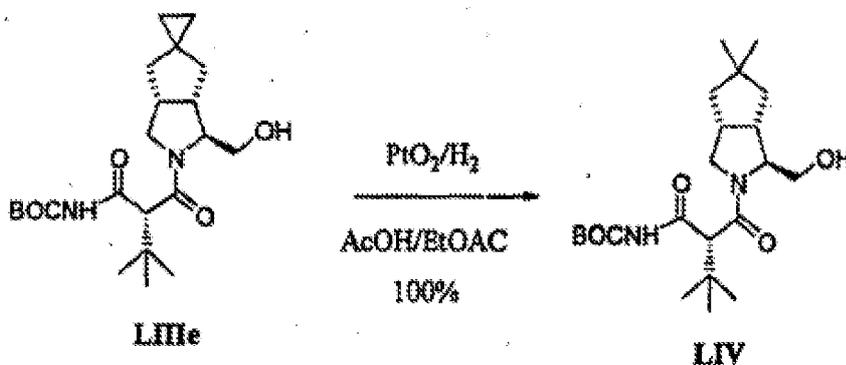
A uma solução de LIIIe (0,49 g, 1,29 mmol) em acetona (20 mL) adicionou-se reagente de Jones (2 mL de solução 2,5 M, 5 mmol) a 0°C. Agitou-se a 0°C durante 20 min, depois à TA durante 30 horas. A esta mistura foram sucessivamente adicionados EtOAc (50 mL), Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anidro (3 g), celite (2 g) e <sup>i</sup>PrOH (1 mL). Agitou-se vigorosamente durante 20 min. O sólido foi separado por filtração. O filtrado foi lavado com ácido cítrico a 3%, seco sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> e concentrado em vácuo. O resíduo foi cromatografado (3% de MeOH em CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, 0,5% de ácido acético) para dar **LIII** (0,48 g, 94%). HRMS (FAB) Calculada para C<sub>21</sub>H<sub>35</sub>N<sub>2</sub>O<sub>5</sub> (MH<sup>+</sup>): 395,2546; determinada: 395,2543.

Vários inibidores foram sintetizados utilizando os intermediários **LIII** seguindo os procedimentos descritos para os exemplos preparativos XXIII, XXIV, XXVIII, XXIX e XXXX.

**Exemplo LIV Preparação do intermediário de fórmula LIV**

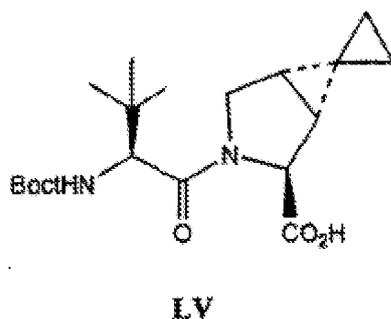


## Passo 1

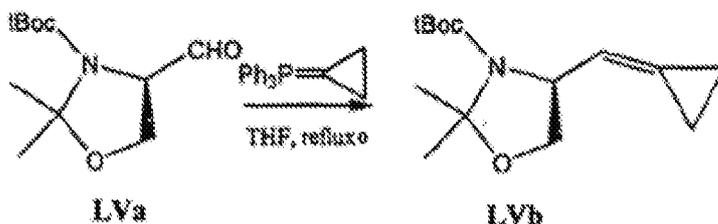


O composto **LIIIe** (0,41 g, 1,08 mmol) numa mistura de solventes de AcOH (10 mL) e EtOAc (20 mL) contendo  $\text{PtO}_2$  (1 g) foi hidrogenado sob 1 atm de  $\text{H}_2$  durante 3 horas. O catalisador foi removido por filtração e o filtrado foi concentrado em vácuo para dar **LIV** (0,41 g, 100%). HRMS (FAB) Calculada para  $\text{C}_{21}\text{H}_{39}\text{N}_2\text{O}_5$  (MH<sup>+</sup>): 383,2910; determinada: 383,2906.

Vários inibidores foram sintetizados utilizando os intermediários **LIV** seguindo os procedimentos descritos para os exemplos preparativos XXIII, XXIV, XXVIII, XXIX e XXXX.

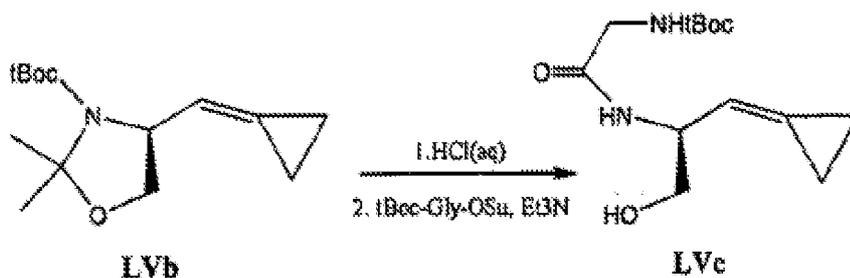
**Exemplo LV Preparação do intermediário de fórmula LV**

## Passo 1



Adicionou-se bis(trimetilsilil)amida de potássio (158 mL de uma solução 0,5 M em tolueno; 79 mmol) a uma suspensão com agitação de brometo de ciclopropiltrifenilfosfônio (33,12 g; 86,4 mmol) em tetra-hidrofurano anidro (130 mL) e a mistura cor de laranja resultante foi agitada sob atmosfera de azoto à temperatura ambiente durante um período de 1 h, antes da adição do aldeído **LVa** (9,68g; 42,2 mmol) em THF (8 mL). A reacção foi depois aquecida a refluxo em atmosfera de azoto durante um período de 2 h. Após arrefecimento, adicionou-se metanol, éter dietílico e sal de Rochelle. A fase orgânica foi separada, lavada com solução aquosa saturada de cloreto de sódio, seca e concentrada a pressão reduzida. O produto reaccional em bruto foi purificado por cromatografia em coluna em gel de sílica utilizando EtOAc-hexano (1:99) até EtOAc-hexano (5:95) para dar o alceno **LVb** (8,47g) como um óleo amarelo.

## Passo 2



Uma solução de HCl 1 M em MeOH/MeOAc foi preparada por adição de 14,2 mL de cloreto de acetilo gota a gota a metanol frio e diluindo a solução resultante até 200 mL à temperatura ambiente.

O carbamato **Lvb** (9,49 g; 37,5 mmol) foi dissolvido em metanol (12 mL) e adicionado a HCl 1 M em MeOH/MeOAc (150 mL) enquanto se arrefecia num banho de gelo. A mistura resultante foi mantida a esta temperatura durante 1 h, depois o banho de gelo foi retirado e a agitação continuou de um dia para o outro à temperatura ambiente. Os voláteis foram removidos a pressão reduzida para dar um óleo amarelo que foi utilizado no passo seguinte sem purificação.

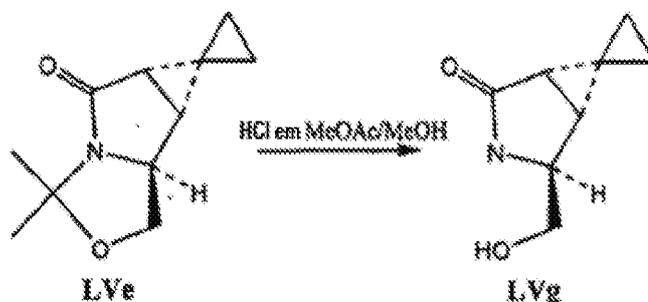
O óleo amarelo é dissolvido numa mistura de THF (30 mL) e MeOH (20 mL) e tratado com trietilamina (15 mL; 108 mmol) até a solução estar a pH=9-10. Após colocação num banho de gelo, a mistura foi tratada com N-Boc-Gly-OSu (11,22g; 41 mmol). O banho de gelo foi retirado e a reacção agitada à temperatura ambiente durante 1 h. Os voláteis foram removidos a pressão reduzida e o resíduo foi purificado por cromatografia em coluna em gel de sílica utilizando metanol (1-3%) em diclorometano dando a amina **Lvc** desejada (9,09 g).



resultante foi mantida abaixo de 0°C até a TLC ter indicado que não permanecia material de partida (aproximadamente 2,25 h). Adicionou-se pirrolidina (20 mL; 240 mmol) e o banho de arrefecimento foi retirado e agitação foi continuada à temperatura ambiente durante 1 h e depois os voláteis foram removidos a pressão reduzida. O resíduo foi rapidamente passado através de uma camada de gel de sílica para dar um óleo amarelo.

O óleo amarelo foi dissolvido em benzeno anidro (220 mL) e adicionou-se acetato de paládio (0,317g; 1,41 mmol) antes de se aquecer a mistura resultante a refluxo, sob atmosfera de azoto durante um período de 1,5 h. Após arrefecimento, os voláteis foram removidos a pressão reduzida e o resíduo escuro foi purificado por cromatografia em coluna em gel de sílica utilizando EtOAc-hexano (1:4) para dar i) a trans-pirrolidinona **LVe** (1,94 g) seguida pela ii) cis-pirrolidinona **LVf** (1,97 g).

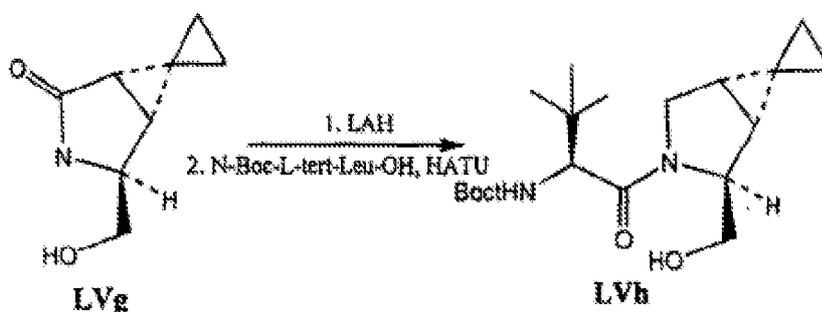
#### Passo 5



Adicionou-se HCl 1 M preparado de fresco em MeOAc/MeOH (10 mL; tal como descrito acima) ao N,O-acetal

**LVe** e agitou-se à temperatura ambiente durante 1 h. O solvente foi removido a pressão reduzida e o resíduo foi purificado por cromatografia em coluna em gel de sílica utilizando 0-4% de MeOH em diclorometano como eluente para dar o álcool **LVg** desejado (1,42 g) como um óleo amarelo.

### Passo 6

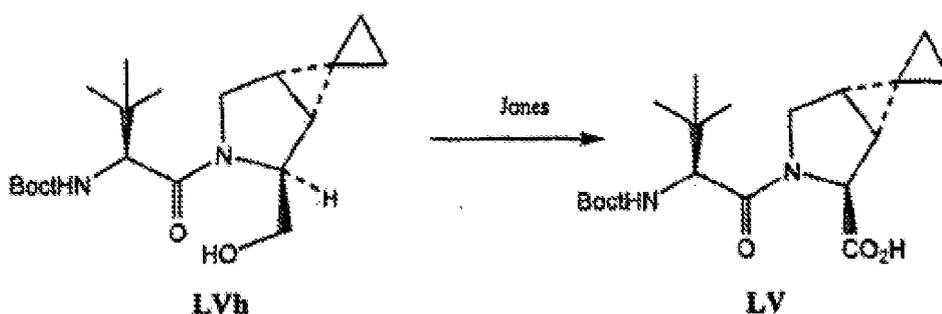


A uma solução da lactama **LVg** (1,29 g; 8,44 mmol) em tetra-hidrofurano anidro (55 mL) adicionou-se hidreto de alumínio e lítio (2,40 g; 63,2 mmol) e a mistura resultante foi aquecida a refluxo durante 8 h. Após arrefecimento, adicionou-se água, seguida por NaOH aquoso a 15% e a mistura resultante foi filtrada através de celite e o sólido foi bem lavado com THF e MeOH. O solvente foi removido a pressão reduzida e o resíduo redissolvido em diclorometano, seco e concentrado a pressão reduzida para dar a pirrolidina, utilizada sem purificação.

Adicionou-se base de Hunig (4,5 mL; 25,8 mmol) a uma mistura de N-Boc-L-tert-Leu-OH (1,76 g; 7,6 mmol), pirrolidina em bruto e HATU (2,89g; 7,6 mmol) em diclorometano anidro (50 mL) a  $-60^{\circ}\text{C}$ , em atmosfera de azoto. A

reação resultante foi deixada chegar à temperatura ambiente lentamente, de um dia para o outro. Adicionou-se EtOAc e a solução amarela foi lavada com HCl aquoso diluído, bicarbonato de sódio aquoso saturado, água e solução aquosa saturada de cloreto de sódio. A camada orgânica foi seca e concentrada a pressão reduzida. O resíduo foi purificado por cromatografia em coluna em gel de sílica utilizando EtOAc:hexanos (1:3) para dar a amida **LVh** desejada (2,00 g).

#### Passo 7



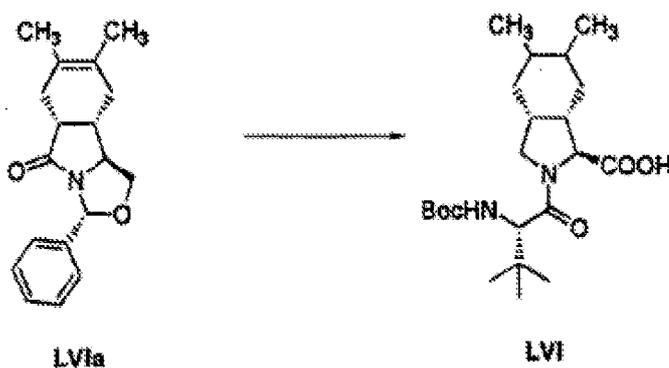
O álcool **LVh** (2,00 g; 5,67 mmol) foi dissolvido em acetona (116 mL) e arrefecido num banho de gelo durante 10 min. Esta solução foi depois adicionada a reagente de Jones arrefecido (14,2 mL; aproximadamente 2 mmol/mL) e a mistura resultante foi agitada a 5°C durante 0,5 h e o banho de arrefecimento foi retirado. A reação foi agitada durante mais 2 h à temperatura ambiente antes da adição a sulfato de sódio (28,54 g), celite (15 g) em EtOAc (100 mL). Adicionou-se isopropanol (15 mL) após 1 min e depois agitou-se durante mais 10 min e filtrou-se. O filtrado foi concentrado a pressão reduzida, para dar um óleo castanho

que foi dissolvido em EtOAc. Esta solução foi lavada com água, ácido cítrico aquoso a 3%, solução aquosa saturada de cloreto de sódio, seca e concentrada para dar o ácido carboxílico **LV** desejado (1,64 g) como um sólido branco.

**NOTA:** Alternativamente o ácido XXIVc, o ácido XXVIg, XXVIIc, podiam ser sintetizados seguindo o procedimento mencionada acima com bons rendimentos.

Vários inibidores foram sintetizados utilizando os intermediários **LV** seguindo os procedimentos descritos para os exemplos preparativos XXIII, XXIV, XXVIH, XXIX, e XXXX.

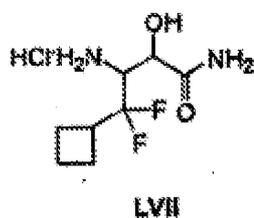
**Exemplo LVI Preparação do intermediário de fórmula LVI**



A síntese de **LVia** foi realizada seguindo o procedimento descrito em Bailey, J. H.; Cherry, D. T.; Crapnell, K. M.; Moloney, M. G.; Shim, S. B.; Bamford, M. J.; Lamont, R. B. *Tetrahedron* (1997), 53, 11731. Este foi convertido em **LVI** de modo semelhante ao procedimento para **LIII** (Passo 2 ao Passo 5).

Vários inibidores foram sintetizados utilizando os intermediários **LVI** seguindo os procedimentos descritos para os exemplos preparativos XXIII, XXIV, XXVIH, XXIX, e XXXX.

**Exemplo LVII Preparação do intermediário de fórmula LVII**



**Passo 1**



A uma solução com agitação de TFA (22,6 mL, 305 mmol), água (120 mL) e [bis(trifluoroacetoxi)iodo]benzeno (131 g, 305 mmol) em acetonitrilo (600 mL) adicionou-se ciclobutil metil cetona **LVIa** (15,0 g, 153 mmol). A solução resultante foi aquecida a refluxo e agitada durante 4 h. O acetonitrilo foi removido em vácuo. Adicionou-se água (120 mL) e a mistura foi extraída com éter dietílico (2 x 500 mL). A solução orgânica combinada foi seca (MgSO<sub>4</sub>), filtrada e concentrada em vácuo. O produto em bruto foi purificado por cromatografia "flash" com 30% de Et<sub>2</sub>O/hexano para dar 8,82 g de **LVIb** (51%).

## Passo 2



À solução de **LVIib** (1,4 g, 12,3 mmol), anidrido acético (1,3 mL, 13,5 mmol) e trietilamina (3,4 mL, 24,5 mmol) em  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (50 mL) adicionou-se DMAP (0,67 g, 5,5 mmol). A mistura reaccional foi agitada à t.a. durante 4 h antes de se adicionar  $\text{H}_3\text{PO}_4$  a 5% (50 mL). Em seguida as camadas foram separadas, a camada aquosa foi extraída com  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (2 X 50 mL). A solução orgânica combinada foi seca ( $\text{MgSO}_4$ ), filtrada e concentrada em vácuo para dar 2,0 g de produto **LVIic** em bruto.

## Passo 3



Uma mistura de **LVIic** (1,9 g, 12,2 mmol) e DAST (fluoreto de dietil amino enxofre, 3,0 mL, 22,3 mmol) foi aquecida a  $50^\circ\text{C}$  e agitada durante 2 h. A mistura foi depois lentamente vertida em água gelada (50 mL), e extraída com éter dietílico (3 x 50 mL). A solução orgânica combinada foi seca ( $\text{MgSO}_4$ ), filtrada e concentrada em vácuo. O produto em bruto foi purificado por cromatografia "flash" com 10-40% de  $\text{Et}_2\text{O}$ /hexano para dar 0,62 g de **LVIId** (29%) e 0,68 g de material de partida **LVIic**.

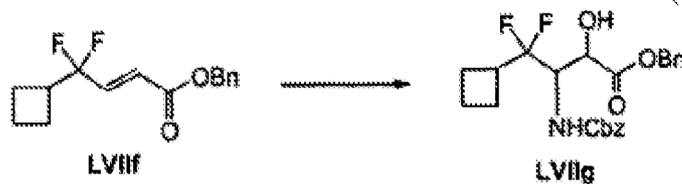
**Passo 4**

Uma mistura de **LVIId** (3,10 g, 17,4 mmol) e hidróxido de lítio (0,84 g, 34,8 mmol) em água (10 mL) foi agitada vigorosamente à t.a. durante 6 h antes de ser diluída com água (50 mL) e extraída com éter dietílico (3 x 60 mL). A solução orgânica combinada foi seca ( $\text{MgSO}_4$ ), filtrada e cuidadosamente concentrada em vácuo para dar **LVIIf** 2,68 g de produto em bruto.

**Passo 5**

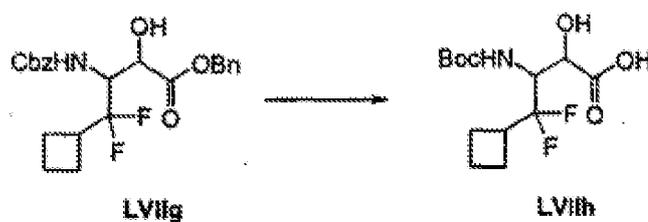
Uma solução de composto **LVIIf** e reagente de Dess-Martin em  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  foi agitada à t.a. durante 1 h antes de se adicionar  $\text{Ph}_3\text{P}=\text{CHCO}_2\text{Bn}$  e a agitação foi continuada durante mais 20 h. Adicionou-se éter dietílico seguido por soluções saturadas de  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$  e de  $\text{NaHCO}_3$ . Após agitação durante 15 min, as camadas foram separadas. A solução orgânica foi lavada com  $\text{NaHCO}_3$  saturado e solução aquosa saturada de cloreto de sódio, seca ( $\text{MgSO}_4$ ), filtrada e concentrada em vácuo. O produto em bruto foi purificado por cromatografia "flash" para dar o produto **LVIIIf** desejado.

## Passo 6



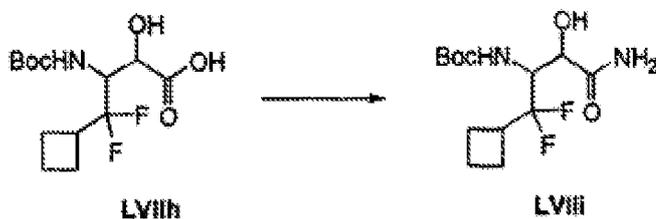
O composto **LVIIg** foi preparado tal como descrito acima (Passo 4, Exemplo XXXXIII) com quantidades.

## Passo 7



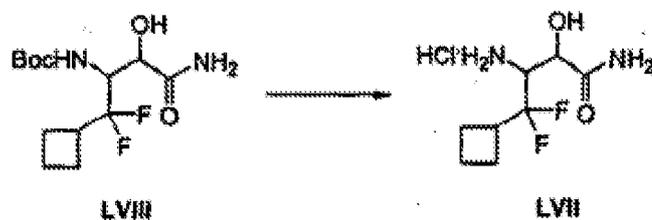
A hidrogenação catalítica de **LVIIf** sobre Pd a 10% sobre carvão em MeOH seguida por tratamento com  $\text{Boc}_2\text{O}$  em  $\text{NaHCO}_3/\text{THF}/\text{água}$  vai dar **LVIIf**.

## Passo 8



A conversão de **LVIIf** em composto **LVIIf** vai seguir procedimento descritos anteriormente (Passo 5, Exemplo XXVIII).

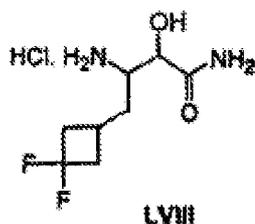
## Passo 9



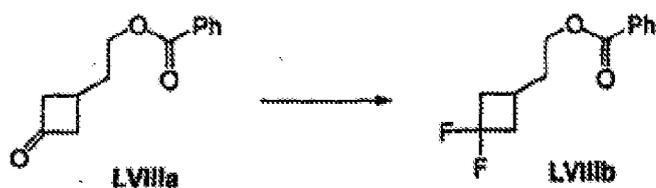
A conversão de **LVIII** em composto **LVII** segue procedimentos descritos anteriormente (Passo 9, Exemplo XXIII).

Vários inibidores foram sintetizados utilizando os intermediários **LVII** seguindo os procedimentos descritos para os exemplos preparativos XXIII, XXIV, XXVIH, XXIX, e XXXX.

**Exemplo LVIII Preparação do intermediário de fórmula LVIII**



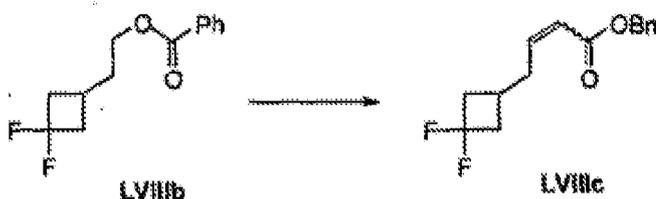
## Passo 1



A uma solução de composto **LVIIIa** [para a

preparação de **LVIIIa** ver J. Ramnauth e E. Lee-Ruff, *Can. J. Chem.*, 2001, 79, 114-120] (3 g) em diclorometano (75 mL) adicionou-se DAST (trifluoreto de dietil amino enxofre, 9,1 mL) lentamente e a reacção foi agitada à temperatura ambiente de um dia para o outro. A mistura foi lentamente vertida em gelo/solução saturada de bicarbonato de sódio (100/200 mL) com agitação. Adicionou-se 200 mL de diclorometano e a camada orgânica foi separada e lavada com solução saturada de bicarbonato de sódio fria, solução aquosa saturada de cloreto de sódio, seca ( $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ) e concentrada. A purificação por cromatografia em coluna (5/95 de EtOAc/hexanos) deu 2,59 g de **LVIIIb**.

### Passo 2

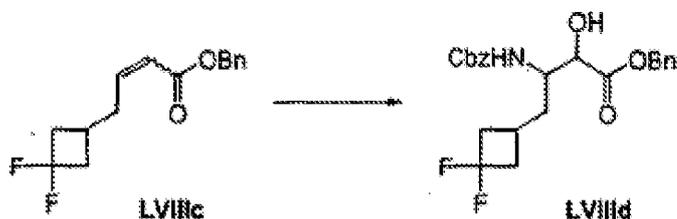


O composto **LVIIIb** (3,42 g) foi dissolvido em THF/MeOH (1/1, 50 mL). A este adicionou-se uma solução de carbonato de potássio (1,97 g) em água (25 mL). A mistura reaccional foi agitada à temperatura ambiente durante 4 horas e depois armazenada no congelador ( $10^\circ\text{C}$ ) de um dia para o outro. A mistura reaccional foi aquecida até à temperatura ambiente ao longo de 3 horas quando a TLC indicou consumo completo de **LVIIIb**. Adicionou-se solução aquosa saturada de cloreto de sódio (100 mL) à mistura reaccional e extraiu-se com éter etílico (3 x 100 mL). As

camadas de éter foram combinadas, secas ( $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ) e concentradas para dar um resíduo (2,77 g) que foi adicionalmente processado sem purificação.

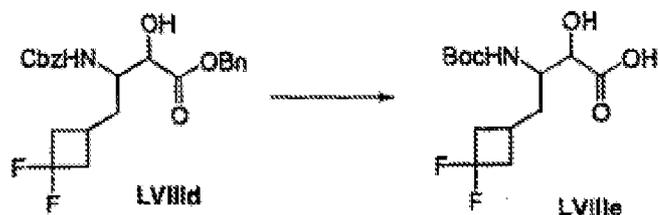
O resíduo assim obtido foi dissolvido em  $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{DMSO}$  (6/1, 140 mL). A esta solução adicionou-se (trifenilfosforanilideno)acetato de benzilo (11,7 g) e depois periodinano de Dess-Martin (12,09 g, em três porções iguais) cuidadosamente. A mistura reaccional foi agitada à temperatura ambiente durante 4 horas e desactivada com solução de bicarbonato de sódio fria (200 mL) e diluída com  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (100 mL). A camada de  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  foi separada e lavada com solução de  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$  a 10% (125 mL), solução de  $\text{NaHCO}_3$  (125 mL), água (125 mL), seca ( $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ) e concentrada. O resíduo foi purificado por cromatografia em coluna utilizando  $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{hexanos}$  50/50 para dar o composto pretendido, **LVIIIc** (2,25 g).

### Passo 3



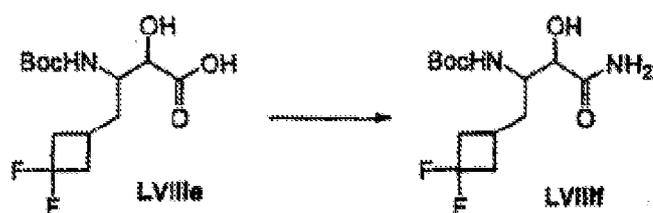
O composto **LVIIId** foi preparado tal como descrito acima (Passo 4, Exemplo XXXVIII) com quantidades apropriadas de reagentes.

## Passo 4



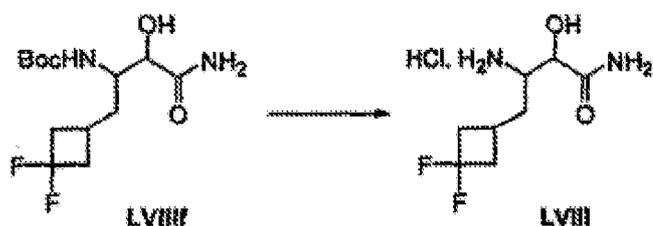
A hidrogenação catalítica de **LVIIIId** sobre Pd a 10% sobre C em MeOH seguida por tratamento com  $\text{Boc}_2\text{O}$  em  $\text{NaHCO}_3/\text{THF}/\text{água}$  vai dar **LVIIIe**.

## Passo 5



A conversão de **LVIIIe** no composto **LVIIIIf** vai seguir procedimentos descritos anteriormente (Passo 5, Exemplo XXVIII).

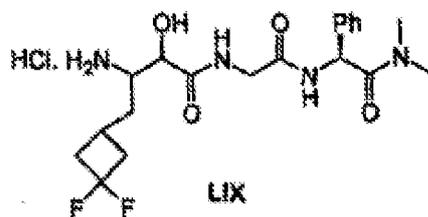
## Passo 6



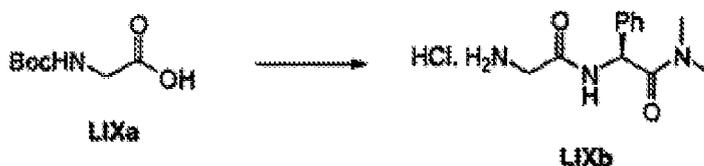
A conversão de **LVIIIIf** no composto **LVIII** vai seguir procedimentos descritos anteriormente (Passo 9, Exemplo XXIII).

Vários inibidores foram sintetizados utilizando os intermediários **LVIII** seguindo os procedimentos descritos para os exemplos preparativos XXIII, XXIV, XXVIH, XXIX, e XXXX.

**Exemplo LIX Preparação do intermediário de fórmula LIX**

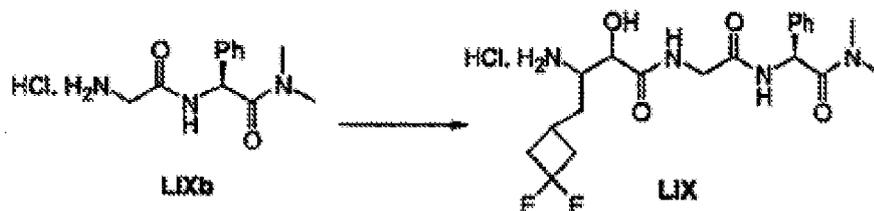


**Passo 1**



Fez-se reagir glicina N-Boc protegida **LIXa** disponível comercialmente com a amina **XV** do Exemplo XV do modo anteriormente descrito no Exemplo XXI, Passo 4. O intermediário resultante foi depois tratado com HCl do modo anteriormente descrito no Exemplo XXIII, Passo 9 para dar produto **LIXb**.

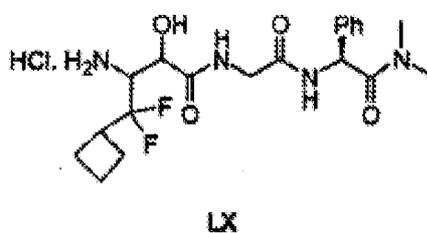
**Passo 2**



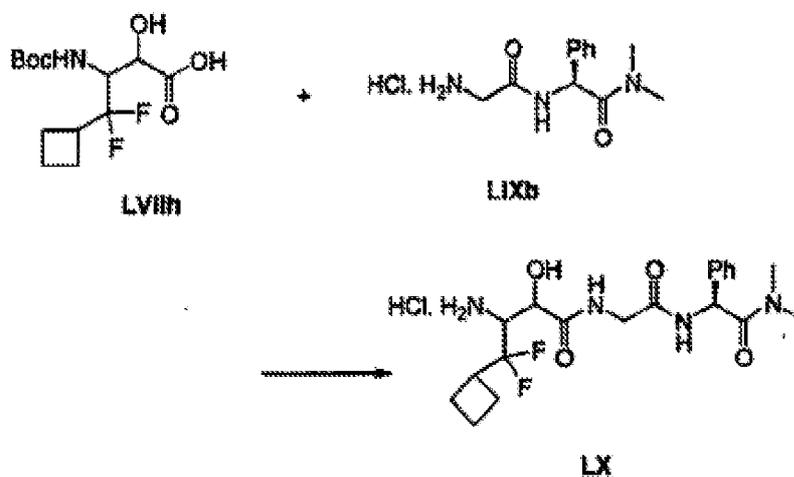
Pode fazer-se reagir o ácido **LVIIIe** (de cima) com **LIXb** do modo anteriormente descrito no Exemplo XXI, Passo 4. O intermediário resultante pode ser depois tratado com HCl do modo anteriormente descrito no Exemplo XXIII, Passo 9 para dar o produto **LIX**.

Vários inibidores foram sintetizados utilizando os intermediários **LIX** seguindo os procedimentos descritos para os exemplos preparativos XXIII, XXIV, XXVIII, XXIX, e XXXX.

Exemplo LX Preparação do intermediário de fórmula LX



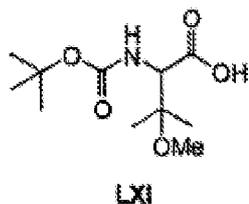
**Passo 1**



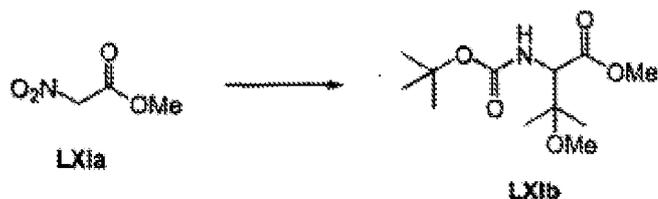
Fez-se reagir o ácido **LVIIf** (de cima) com **LIXb** do modo anteriormente descrito no Exemplo XXI, Passo 4. O intermediário resultante foi depois tratado com HCl do modo anteriormente descrito no Exemplo XXIII, Passo 9 para dar o produto **LX**.

Vários inibidores foram sintetizados utilizando os intermediários **LIX** seguindo os procedimentos descritos para os exemplos preparativos XXIX e XXXX.

**Exemplo LXI Preparação do intermediário de fórmula LXI**



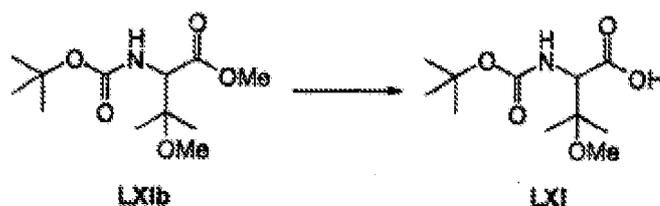
**Passo 1**



A uma solução de nitroacetato de metilo **LXIa** (3 g) em benzeno (15 mL) adicionou-se dimetoxi propano (6,2 mL) e anidrido acético (4,87 mL). A mistura foi aquecida a refluxo de um dia para o outro. A mistura reaccional foi concentrada. Foi resubmetida às condições indicadas acima. O resíduo após concentração foi retomado em EtOAc (100 mL) e lavado com solução saturada de bicarbonato de sódio fria (3 x 75 mL), solução aquosa saturada de cloreto de sódio (100 mL), seco (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) e concentrado. O resíduo de cima

foi retomado em MeOH (150 mL). Adicionou-se  $\text{Boc}_2\text{O}$  (6 g) e Pd a 10% sobre C (150 mg) e a mistura foi hidrogenada utilizando um balão cheio com hidrogênio gasoso. Após 24 horas, adicionou-se mais algum Pd a 10% sobre C e repetiu-se o procedimento. A mistura reaccional foi depois filtrada através de celite, concentrada, e purificada por cromatografia em coluna utilizando 5/95 a 10/90 de EtOAc/hexanos para dar 2,2 g de **LXIb**.

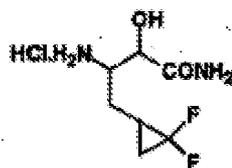
### Passo 2



O composto **LXIb** foi preparado a partir de **LXI** com rendimento quantitativo utilizando procedimentos descritos acima para a conversão de **XXVIg** em **XXVIh** (ver Exemplo XXVI).

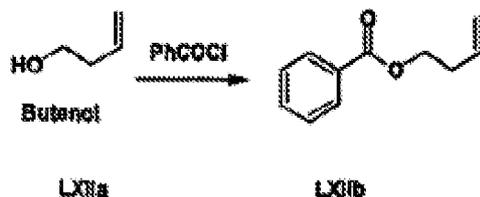
Vários inibidores foram sintetizados utilizando os intermediários **LVIII** seguindo os procedimentos descritos para os exemplos preparativos XXIII, XXIV, XXVIII, XXIX, e XXXX.

### Exemplo LXII Preparação do intermediário de fórmula LXII



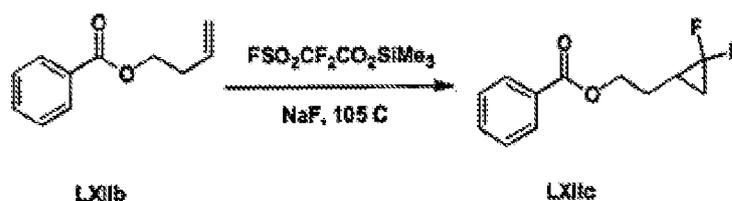
**LXII**

## Passo 1



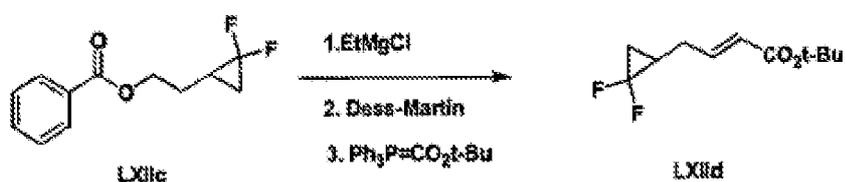
Fez-se reagir butenol **LXIIa** do modo anteriormente descrito no exemplo preparativo XXXXIII passo 1 para dar o produto **LXIIb**

## Passo 2:



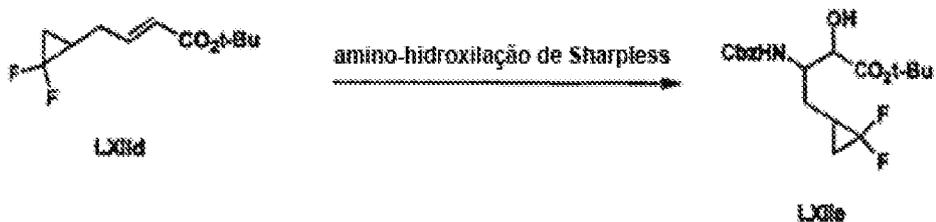
A 5,3 g (30 mmol) de **LXIIb**, produto do passo 1, adicionou-se 25 mg de NaF. A 110°C, adicionou-se através de uma bomba com seringa 1,6 equiv (48 mmol, 12 g) de difluoroacetato de TMSfluorossilfonilo (TFDA) em 2 h. Após 2 h, a reacção é arrefecida até à TA. A purificação por cromatografia em coluna "flash" (3% de EtOAc, hexano, sílica) deu **LXIIc**, o produto do passo 2 (4,93 g).

## Passo 3:



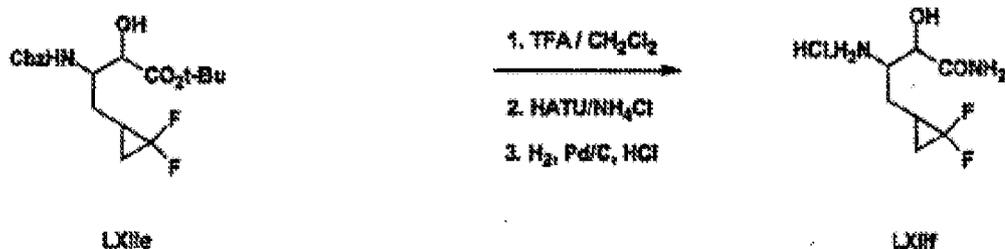
O produto do passo 2, **LXIId** (1 g) foi tratado do modo anteriormente descrito no passo 3 do exemplo preparativo XXXXIII para dar **LXIId**, o produto do passo 3 (0,89 g)

**Passo 4:**



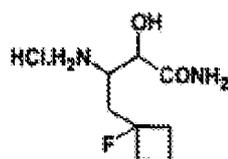
O produto do passo 3, **LXIId** (3,2 g) foi tratado do modo anteriormente descrito no passo 4 do exemplo preparativo XXXXIII para dar o produto **LXIle** (1,4g).

**Passo 5:**

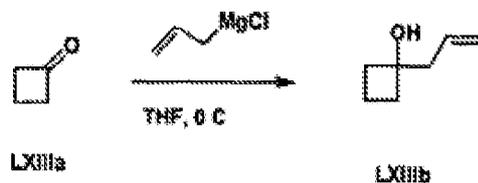


O produto do passo 4, **LXIle** (0,54 g) foi tratada do modo anteriormente descrito em no passo 5 e depois no passo 6 e finalmente no passo 7 do exemplo preparativo XXXXIII para dar o produto **LXIf** (0,24 g).

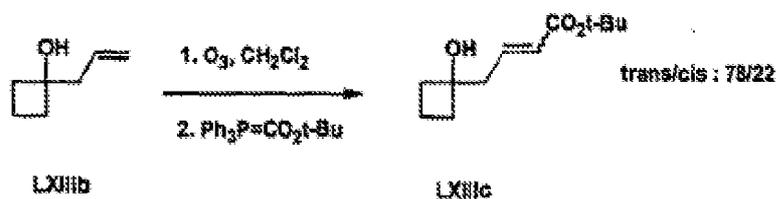
Vários inibidores foram sintetizados utilizando os intermediários **LXII** seguindo os procedimentos descritos para os exemplos preparativos XXIII, XXIV, XXVIII, XXIX, e XXXX.

**Exemplo LXIII Preparação do intermediário de fórmula LXIII**

LXIII

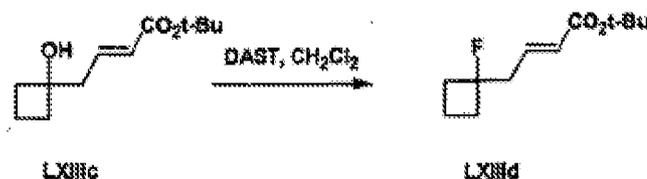
**Passo 1:**

A uma solução a  $-78^{\circ}\text{C}$  de ciclobutanona (15 g, 214 mmol) em THF (100 mL) adiciona-se gota a gota cloreto de alilmagnésio (2,0 M em THF, 1,1 equiv, 118 mL). Após 1 hora, a reacção é parada pela adição de gelo e HCl 1,0 N (100 mL). A mistura foi diluída com acetato de etilo (~200 mL) e a fase orgânica foi separada, lavada com solução aquosa saturada de cloreto de sódio e seca sobre  $\text{MgSO}_4$  anidro. A concentração em vácuo e purificação por cromatografia em gel de sílica (10% de acetato de etilo em n-hexano) deu o produto **LXIIIb** (21 g).

**Passo 2:**

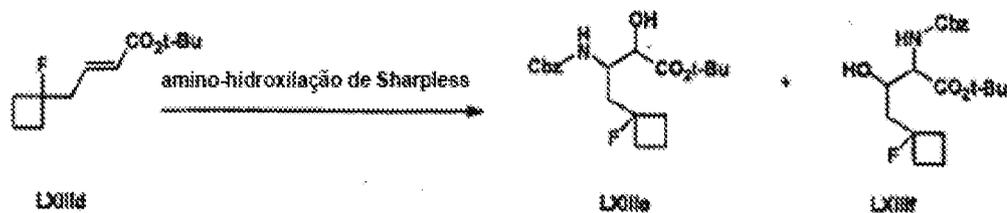
A uma solução a  $-78^{\circ}\text{C}$  do produto do passo 1 , **LXIIIb** (11,2 g) em  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (200 mL) borbulha-se ozono até se observar uma cor azul persistente (após 1 hora). O ozono foi parado e a mistura reaccional foi purgada com  $\text{N}_2$  durante 10 minutos. Adicionou-se  $\text{Me}_2\text{S}$  (10 equiv., 7,3 mL) e a reacção foi gradualmente aquecida até à temperatura ambiente de um dia para o outro. Após 18 horas, adicionou-se  $\text{Ph}_3\text{P}=\text{CHCOO}^t\text{Bu}$  (40 g). Continuou-se a agitação durante ~24 horas. A evaporação em vácuo deu o produto em bruto que foi cromatografado em gel de sílica (10% de acetato de etilo em n-hexano) para dar produto **LXIIIc** como uma mistura de isómeros (6,65 g de isómero trans) e (1,9 g de cis olefina).

**Passo 3:**



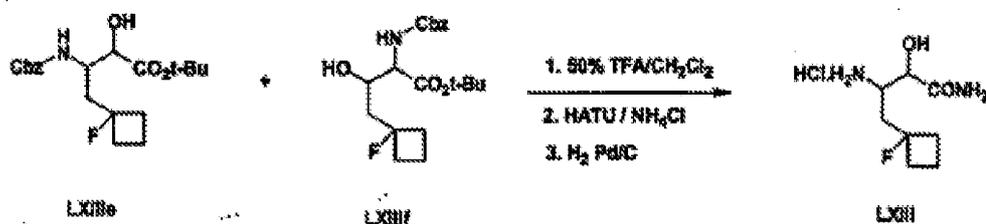
A uma solução a  $0^{\circ}\text{C}$  de produto do passo 2, **LXIIIc** (0,21 g) em  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (3 mL) adiciona-se DAST (1,1 equiv., 0,135 mL). Após 15 minutos, a reacção foi parada pela adição de uma solução saturada de  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  fria (150 mL). A mistura foi diluída com acetato de etilo (~10 mL) e após agitação durante ~30 min a fase orgânica foi separada, lavada com solução aquosa saturada de cloreto de sódio e seca sobre  $\text{MgSO}_4$  anidro. A concentração em vácuo e a purificação por cromatografia em gel de sílica (5% a 10% de  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  em n-hexano) deu **LXIIIId** (0,1 g; 47%).

## Passo 4:



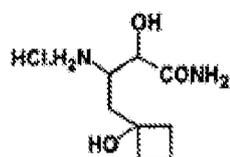
O produto do passo 3, **LXIIIId** (3,5 g) foi tratado do modo anteriormente descrito no passo 4 do exemplo preparativo XXXXIII para dar os produtos **LXIIIe** e **LXIIIc** como uma mistura (3,25 g).

## Passo 5:



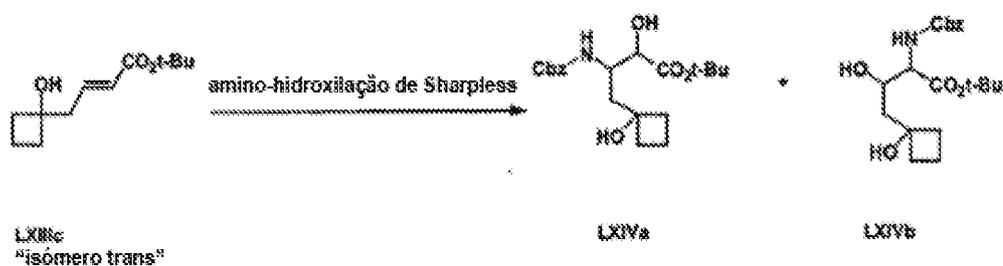
Os produtos do passo 4 (**LXIIIe** + **LXIIIc**) (2,3 g) foram tratados do modo anteriormente descrito no passo 5 e depois passo 6 e finalmente passo 7 do exemplo preparativo XXXXIII para dar o produto **LXIII** (0,47 g).

Vários inibidores foram sintetizados utilizando o intermediário **LXII** seguindo os procedimentos descritos para os exemplos preparativos XXIII, XXIV, XXVIII, XXIX, e XXXX.

Exemplo LXIV Preparação do intermediário de fórmula LXIV

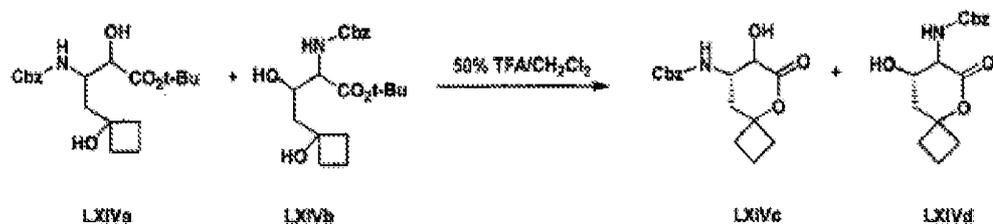
LXIV

## Passo 1:



O produto **LXIIIc** (1,36 g) foi tratado do modo anteriormente descrito no passo 4 do exemplo preparativo XXXXIII para dar os produtos **LXIVa** e **LXIVb** como uma mistura (1,3c g).

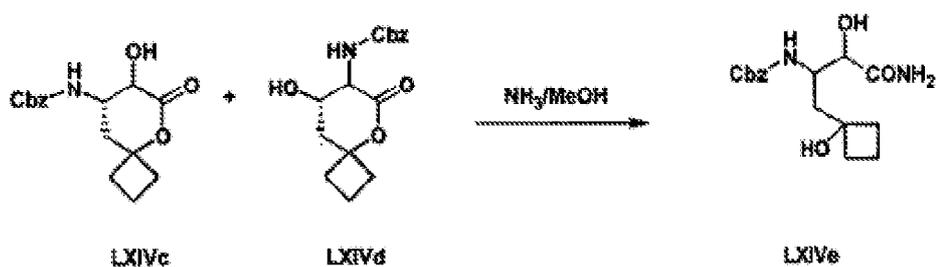
## Passo 2:



Uma solução com agitação dos produtos do passo 1 (**LXIVa** + **LXIVb**) (1,2 g) em  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (40 mL) foi tratada com ácido trifluoroacético (40 mL). Após 45 minutos a mistura

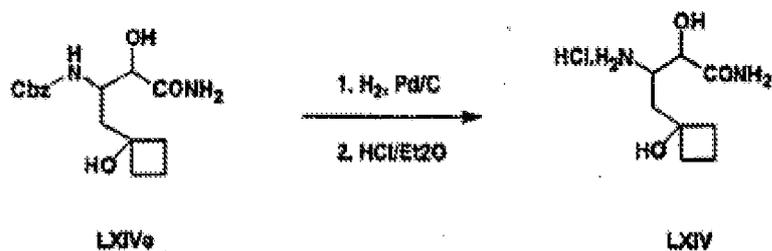
reaccional foi concentrada até à secura em vácuo. O resíduo foi cromatografado em gel de sílica (2% de MeOH em CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>) para dar os produtos **LXIVc** e **LXIVd** como uma mistura (0,97 g).

**Passo 3:**



Aos produtos do passo 2 (**LXIVc** + **LXIVd**) (0,4 g) adicionou-se 30 mL de NH<sub>3</sub> (2,0 M em MeOH). Após 4 horas, a mistura reaccional foi concentrada até à secura em vácuo. O resíduo foi submetido a cromatografia preparativa em gel de sílica (100% de CH<sub>3</sub>CN) para dar o produto desejado **LXIVe** (0,3 g).

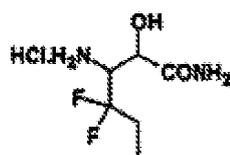
**Passo 4:**



O produto do passo 3 **LXIVe** (0,054 g) foi tratado do modo anteriormente descrito no passo 7 do exemplo preparativo XXXXIII para dar o produto **LXIV** (0,032g)

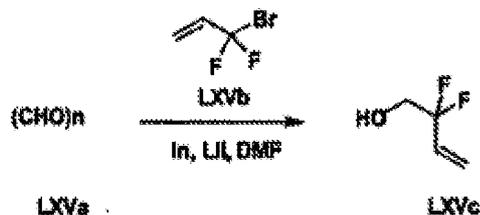
Vários inibidores foram sintetizados utilizando o intermediário **LXII** seguindo os procedimentos descritos para os exemplos preparativos XXIII, XXIV, XXVIII, XXIX, e XXXX.

**Exemplo LXV Preparação do intermediário de fórmula LXV**



LXV

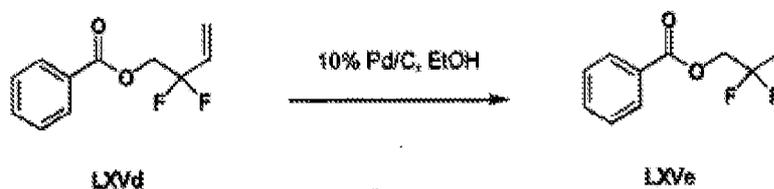
**Passo 1:**



A uma solução à temperatura ambiente de paraformaldeído **LXVa** (12 g, 400 mmol) e 1-bromo-1,1-difluorop-2-eno **LXVb** (6,3 g, 40 mmol) em DMF (100 mL) adicionou-se in(0) (6,5 g, 57 mmol) e LiI (0,4 g, 3 mmol). A suspensão resultante foi agitada à TA durante 48 h. Após 48 h, a reacção foi filtrada através de uma camada de celite. O filtrado foi diluído com EtOAc (250 mL) e lavado com H<sub>2</sub>O (3 vezes) e depois com solução aquosa saturada de cloreto de sódio. A fase orgânica foi separada e finalmente seca sobre MgSO<sub>4</sub> anidro. A evaporação em vácuo deu o produto **LXVc**, que foi utilizado tal e qual directamente no passo seguinte.

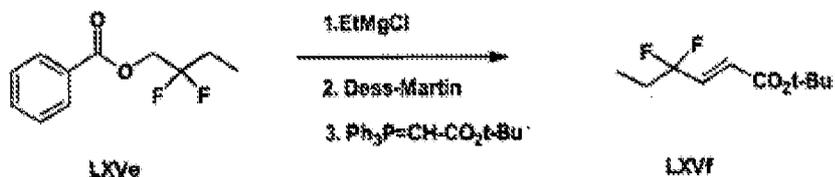
**Passo 2:**

Fez-se reagir o produto do passo 1, **LXVc** (4 g, 37 mmol) do modo anteriormente descrito no exemplo preparativo XXXXVIII passo 1 para dar após purificação por cromatografia em gel de sílica (10% a 50% de CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> em n-hexano) o produto **LXVd** (4,3 g).

**Passo 3:**

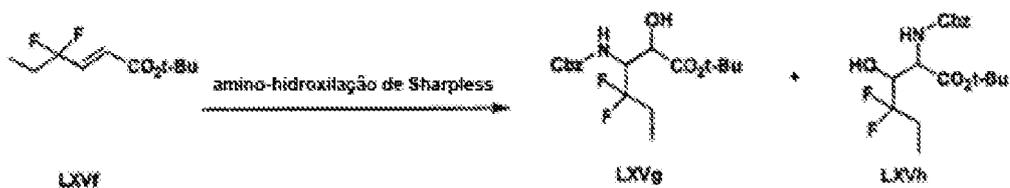
A uma solução do produto do passo 2, **LXVd** (3,8 g) em etanol (30 mL) adicionou-se catalisador de Pd a 10% sobre C (0,76 g). A suspensão resultante foi hidrogenada até uma experiência por NMR indicar o consumo completo do material de partida (~4 horas). O catalisador foi removido por filtração através de uma camada de celite e lavado com etanol. O filtrado e lavagens combinados foram evaporados em vácuo até à secura para dar o produto desejado, **LXVe** (3,8 g).

## Passo 4:



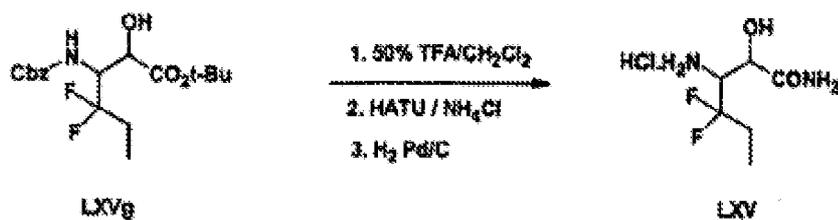
O produto do passo 3, **LXVe** (3,4 g) foi tratado do modo anteriormente descrito no passo 3 do exemplo XXXXVIII para dar o produto **LXVf** (2,5 g).

## Passo 5:



O produto do passo 4, **LXVf** (2 g) foi tratado do modo anteriormente descrito no passo 4 do exemplo preparativo XXXXVIII para dar após purificação por cromatografia em gel de sílica (30% de EtOAc em n-hexano) **LXVg** (0,27 g) e **LXVh** (0,26 g).

## Passo 6:



O produto do passo 5 **LXVg** (0,17 g) foi tratado do modo anteriormente descrito no passo 5 e depois passo 6 e finalmente passo 7 do exemplo preparativo XXXXIII para dar o produto **LXV** (0,025 g).

Vários inibidores foram sintetizados utilizando o intermediário **LXV** seguindo os procedimentos descritos para os exemplos preparativos XXIII, XXIV, XXVIII, XXIX, e XXXX.

**Separação de diastereómeros:** Os diastereómeros resultantes do centro  $\alpha$  da cetoamida foram separados utilizando ou cromatografia ( $\text{SiO}_2$ ) ou HPLC (coluna de diol YMC) com hexano/ $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ /isopropanol/ $\text{CH}_3\text{CN}$  = 86/7,5/6,5/1 como o solvente, como é conhecido pelos especialistas na matéria.

#### Doseamento da actividade inibidora de proteases de HCV:

Ensaio espectrofotométrico: O ensaio espectrofotométrico para serina protease de HCV foi realizado com os compostos da invenção seguindo o procedimento descrito por R. Zhang et al., *Analytical Biochemistry*, 270 (1999) 268-275, cuja descrição é aqui dada como incorporada por citação. O ensaio baseado na proteólise de substratos ésteres cromogénicos é adequado para a monitorização contínua da actividade de proteases NS 3 de HCV. Os substratos foram derivados do lado P da sequência da junção NS5A-NS5B (Ac-DTEDVVX(Nva), em que X = A ou P) cujos grupos carboxilo C-terminais foram esterificados com um de quatro

álcoois cromofóricos diferentes (3- ou 4-nitrofenol, 7-hidroxi-4-metil-cumarina ou 4-fenilazofenol). Adiante estão apresentadas a síntese, caracterização e aplicação destes novos substratos ésteres espectrofotométricos para rastreio de alta produtividade e avaliação cinética pormenorizada de inibidores de protease NS3 de HCV.

Materiais e métodos:

Materiais: Os reagentes químicos para tampões relacionados com o ensaio foram obtidos de Sigma Chemical Company (St. Louis, Missouri). Os reagentes para a síntese de péptidos foram de Aldrich Chemicals, Novabiochem (San Diego, California), Applied Biosystems (Foster City, Califórnia) e Perseptive Biosystems (Framingham, Massachusetts). Os péptidos foram sintetizados manualmente ou num sintetizador automatizado ABI modelo 431A (de Applied Biosystems). O espectrómetro de UV/VIS modelo LAMBDA 12 foi de Perkin Elmer (Norwalk, Connecticut) e as placas de UV com 96 poços foram obtidas da Corning (Corning, New York). O bloco de pré-aquecimento era de USA Scientific (Ocala, Florida) e o agitador de vortex para placas com 96 poços era de Labline Instruments (Melrose Park, Illinois). Obteve-se um leitor de placas de microtitulação Spectramax Plus com monocromador de Molecular Devices (Sunnyvale, Califórnia).

Preparação enzimática: Protease NS3/NS4A de HCV heterodimérica recombinante (estirpe 1a) foi preparada por

utilização dos procedimentos publicados anteriormente (D. L. Sali *et al.*, *Biochemistry*, 37 (1998) 3392-3401). As concentrações de proteína foram determinadas pelo método do corante da Biorad utilizando padrões de protease de HCV recombinante previamente quantificados por análise de aminoácidos. Antes do início do ensaio, o tampão de armazenagem da enzima (fosfato de sódio 50 mM pH 8,0, NaCl 300 mM, glicerol a 10%, lauril maltosido a 0,05% e DTT 10 mM) foi trocado pelo tampão de ensaio (MOPS 26 mM pH 6,5, NaCl 300 mM, glicerol a 10%, lauril maltosido a 0,05%, EDTA 5 µM e DTT 5 µM) utilizando uma coluna pré-empacotada Bio-Spin P-6 da Biorad.

Síntese e purificação dos substratos: A síntese dos substratos foi feita como descrito por R. Zhang *et al.*, (*ibid.*) e foi iniciada por ancoragem de Fmoc-Nva-OH a resina de cloreto de 2-clorotritilo utilizando um protocolo corrente (K. Barlos *et al.*, *Int. J. Pept. Protein Res.*, 37 (1991), 613-620). Os péptidos foram subsequentemente montados, utilizando química de Fmoc, ou manualmente ou num sintetizador de péptidos automático ABI modelo 431. Os fragmentos de péptido N-acetilados e completamente protegidos foram clivados da resina por ácido acético a 10% (HOAc) e trifluoroetanol (TFE) a 10% em diclorometano (DCM) durante 30 min, ou por ácido trifluoroacético (TFA) a 2% em DCM durante 10 min. O filtrado e lavagem com DCM combinados foram evaporados azeotropicamente (ou extraídos repetidamente com solução aquosa de Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>) para remover o ácido utilizado na clivagem. A fase de DCM foi seca sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> e evaporada.

Os substratos ésteres foram montados utilizando procedimentos de condensação ácido-álcool correntes (K. Holmber *et al.*, *Acta Chem. Scand.*, B33 (1979) 410-412). Os fragmentos de péptidos foram dissolvidos em piridina anidra (30-60 mg/mL) à qual foram adicionados 10 equivalentes molares de cromóforo e uma quantidade catalítica (0,1 eq.) de ácido para-toluenossulfónico (pTSA). Adicionou-se diciclo-hexilcarbodiimida (DCC, 3 eq.) para iniciar as reacções de condensação. A formação de produto foi monitorizada por HPLC e verificou-se estar completa após 12-72 horas de reacção à temperatura ambiente. O solvente piridina foi evaporado em vácuo e adicionalmente removido por evaporação azeotrópica com tolueno. O éster peptídico foi desprotegido com TFA a 95% em DCM durante duas horas e extraído três vezes com éter etílico anidro para remover o excesso de cromóforo. O substrato desprotegido foi purificado por HPLC de fase inversa numa coluna C3 ou C8 com um gradiente de 30% a 60% de acetonitrilo (utilizando seis volumes da coluna). O rendimento global após purificação por HPLC foi aproximadamente 20-30%. A massa molecular foi confirmada por espectroscopia de massa com ionização por electropulverização. Os substratos foram armazenados na forma de pó seco com exsicação.

Espectros de substratos e produtos: Os espectros de substratos e dos correspondentes produtos cromóforos foram obtidos no tampão de ensaio pH 6,5. Os coeficientes de extinção foram determinados no comprimento de onda

óptimo fora dos picos em cuvetes de 1 cm (340 nm para 3-Np e HMC, 370 nm para PAP e 400 nm para 4-Np) utilizando diluições múltiplas. O comprimento de onda óptimo fora dos picos foi definido como o comprimento de onda que deu a diferença fraccional máxima de absorvência entre substrato e produto ( $\text{OD do produto} - \text{OD do substrato} / \text{OD do substrato}$ ).

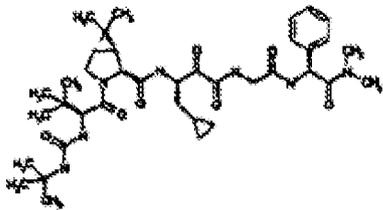
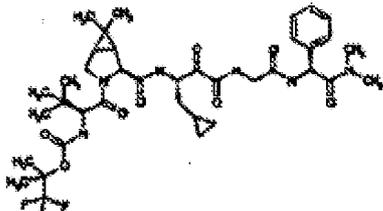
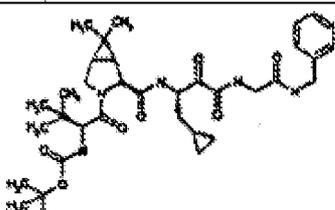
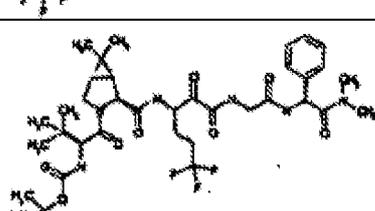
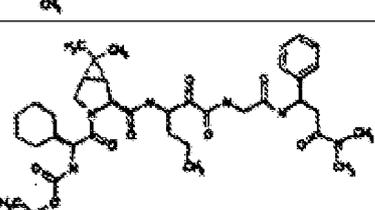
Ensaio de proteases: os ensaios de proteases de HCV foram realizados a 30°C utilizando uma mistura reaccional de 200 µL numa placa de microtitulação com 96 poços. As condições do tampão de ensaio (MOPS 25 mM pH 6,5, NaCl 300 mM, glicerol a 10%, lauril maltosido a 0,05%, EDTA 5 µM e DTT 5 µM) foram optimizadas para o heterodímero NS3/NS4A (D. L. Sali *et al.*, *ibid.*). Tipicamente, 150 µL de misturas de tampão, substrato e inibidor foram colocadas em poços (concentração final de DMSO <4% v/v) e deixadas pré-incubar a 30°C durante aproximadamente 3 minutos. Cinquenta µL de protease pré-aquecida (12 nM, 30°C) em tampão de ensaio foram depois utilizados para iniciar a reacção (volume final de 200 µL). As placas foram monitorizadas ao longo da duração do ensaio (60 minutos) quando a alteração da absorvência ao comprimento de onda apropriado (340 nm para 3-Np e HMC, 370 nm para PAP, e 400 nm para 4-Np) utilizando um leitor de placas de microtitulação Spectromax Plus equipado com um monocrómetro (podem ser obtidos resultados aceitáveis com leitores de placas que utilizam filtros de corte). A clivagem proteolítica da ligação éster entre o Nva e o cromóforo foi

monitorizada ao comprimento de onda apropriado contra um branco sem enzima como um controlo da hidrólise não enzimática. A avaliação dos parâmetros da cinética do substrato foi realizada numa gama de concentrações do substrato de trinta vezes (-6-200  $\mu\text{M}$ ). As velocidades iniciais foram determinadas utilizando regressão linear e foram obtidas constantes cinéticas por adaptação dos dados à equação de Michaelis-Menten utilizando análise de regressão não linear (Mac Curve Fit 1.1, K. Raner). As actividades específicas ( $k_{\text{cat}}$ ) foram calculadas considerando que a enzima estava completamente activa.

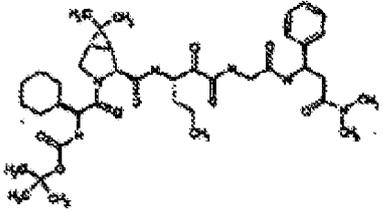
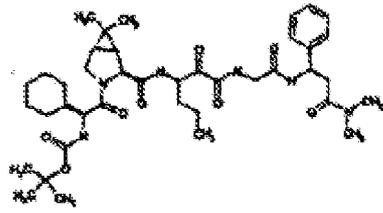
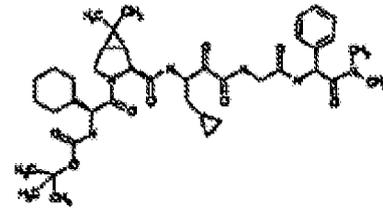
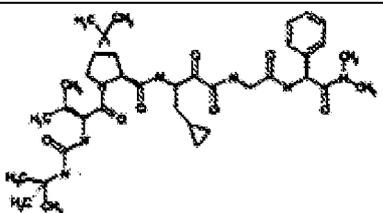
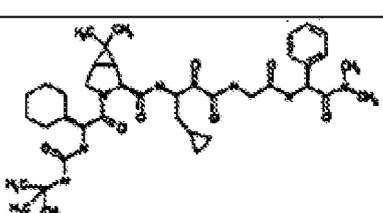
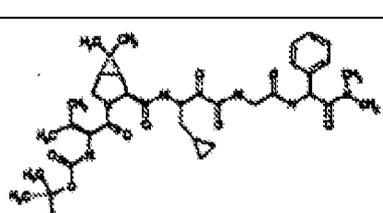
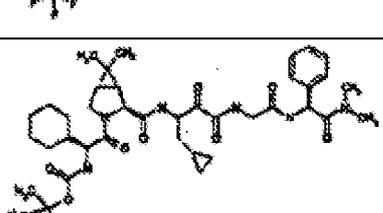
Avaliação de inibidores e inactivadores: As constantes de inibição ( $K_i^*$ ) dos inibidores competitivos Ac-D-(D-Gla)-L-I-(Cha)-C-OH(27), Ac-DTEDVVA(Nva)-OH e Ac-DTEDVVP(NVa)-OH foram determinadas experimentalmente a concentrações fixas de enzima e substrato por traçado do gráfico de  $v_0/v_i$  em função da concentração de inibidor ( $[I]_0$ ) de acordo com a equação de Michaelis-Menten rearranjada para cinética de inibição competitiva:  $v_0/v_i = 1 + [I]_0/(K_i^*(1+[S]_0/K_m))$ , em que  $v_0$  é a velocidade inicial não inibida,  $v_i$  é a velocidade inicial na presença de inibidor para qualquer dada concentração de inibidor ( $[I]_0$ ) e  $[S]_0$  é a concentração de substrato utilizada. Os dados resultantes foram adaptados utilizando regressão linear e o declive resultante,  $1/(K_i^*(1+[S]_0/K_m))$ , foi utilizado para calcular o valor de  $K_i^*$ .

Os valores de  $K_i^*$  obtidos para os vários

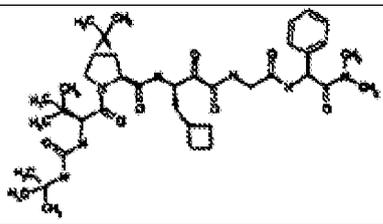
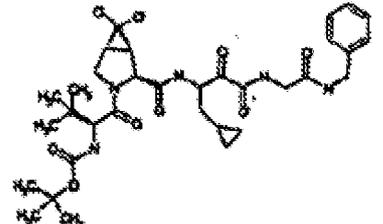
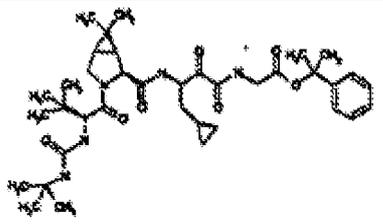
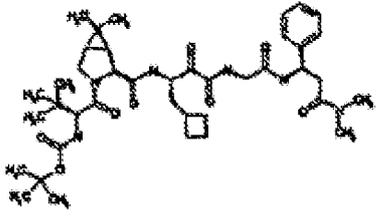
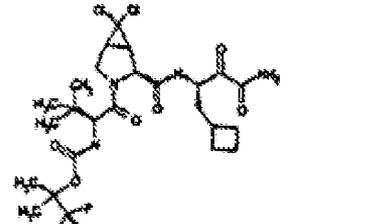
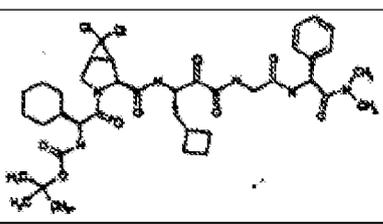
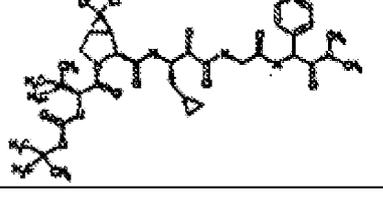
compostos da presente invenção estão apresentados na Tabela 1 em que os compostos foram dispostos por ordem de gamas de valores de  $K_i^*$ . A partir dos resultados destes ensaios, seria evidente para o técnico experiente que os compostos da invenção têm excelente utilização como inibidores de serina protease NS3.

<b>TABELA 1</b>		
<b>ESTRUTURA</b>	<b>PM</b>	<b><math>K_i^*</math> (nM)</b>
	723,92	A
	778,88	A
	707,80	A
	766,87	A
	752,96	A

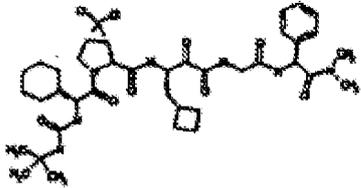
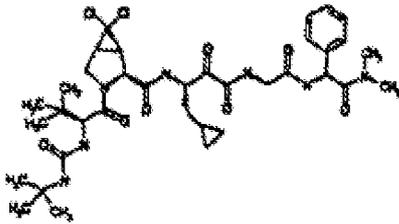
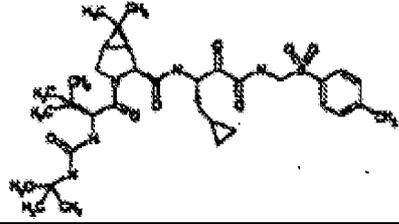
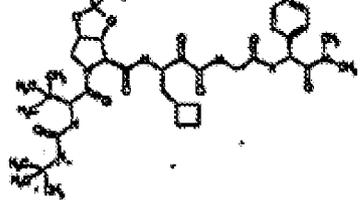
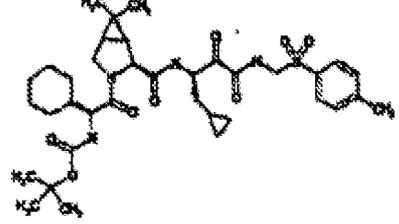
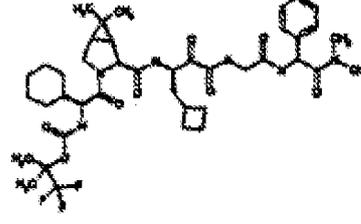
(continuação)

<b>TABELA 1</b>		
ESTRUTURA	PM	Ki* (nM)
	752,96	A
	752,96	A
	750,94	A
	709,89	A
	749,96	A
	764,85	A
	804,92	A

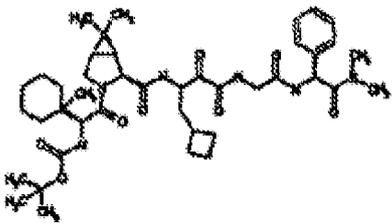
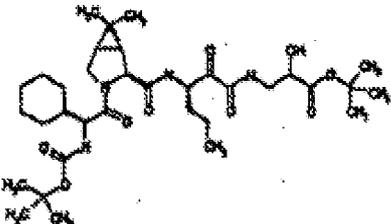
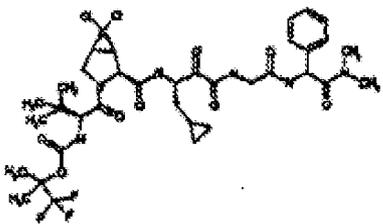
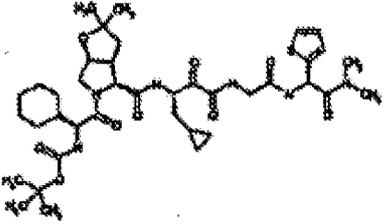
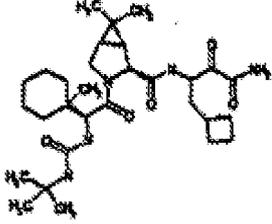
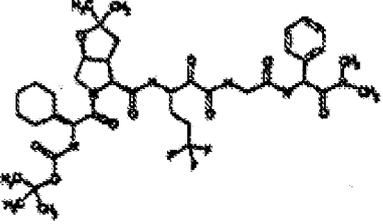
(continuação)

<b>TABELA 1</b>		
ESTRUTURA	PM	Ki* (nM)
	737,95	A
	694,66	A
	681,88	A
	752,96	A
	615,48	A
	805,81	A
	765,74	A

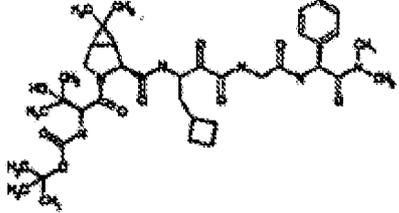
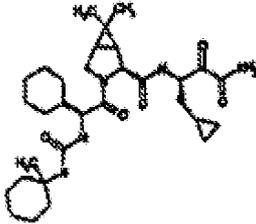
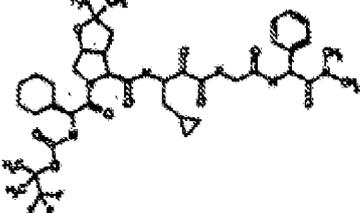
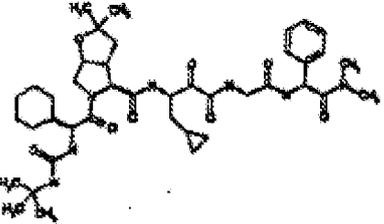
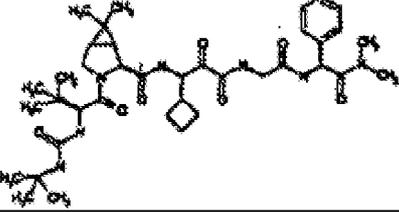
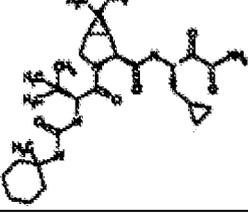
(continuação)

<b>TABELA 1</b>		
ESTRUTURA	PM	Ki* (nM)
	804,82	A
	764,76	A
	673,88	A
	769,95	A
	700,90	A
	818,94	A

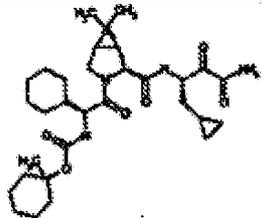
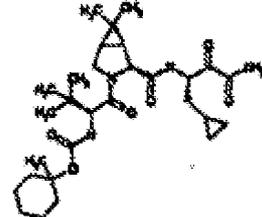
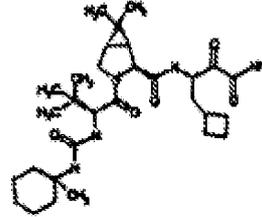
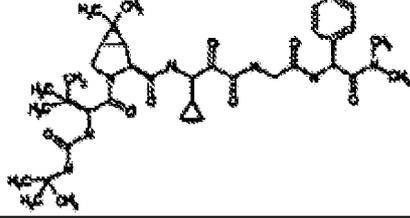
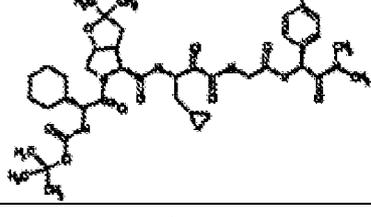
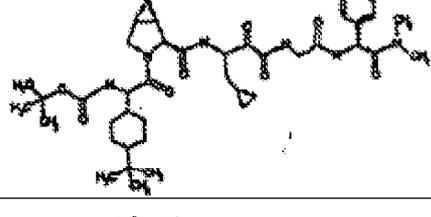
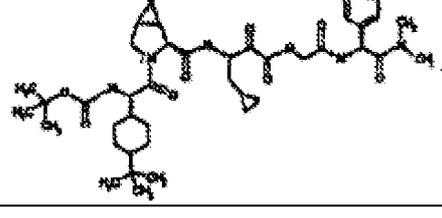
(continuação)

<b>TABELA 1</b>		
ESTRUTURA	PM	Ki* (nM)
	779,00	A
	664,85	A
	819,71	A
	787,00	A
	559,76	A
	822,93	A

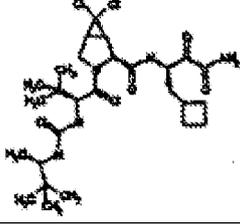
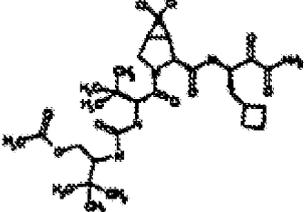
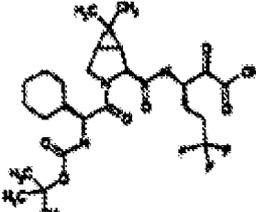
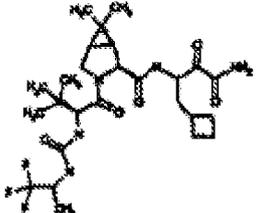
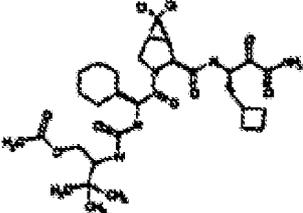
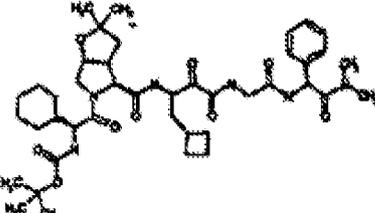
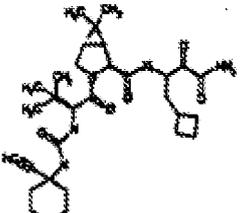
(continuação)

<b>TABELA 1</b>		
ESTRUTURA	PM	Ki* (nM)
	740,91	A
	571,77	A
	834,94	A
	779,99	A
	723,92	A
	545,73	A

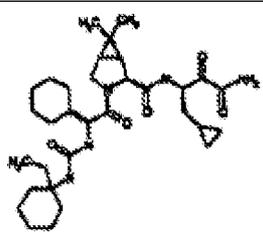
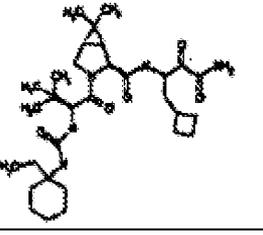
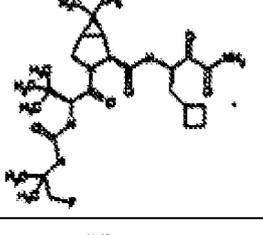
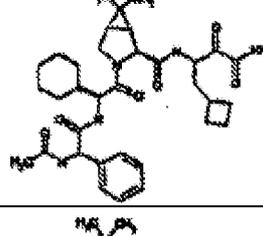
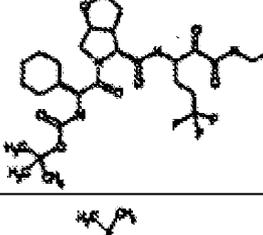
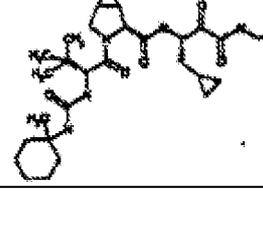
(continuação)

<b>TABELA 1</b>		
ESTRUTURA	PM	Ki* (nM)
	572,75	A
	546,71	A
	559,76	A
	709,89	A
	859,87	A
	807,05	A
	807,05	A

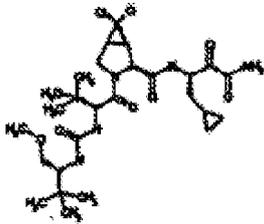
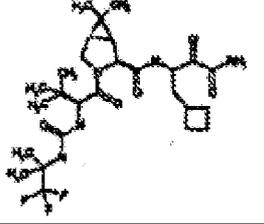
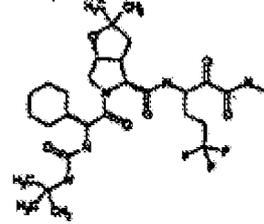
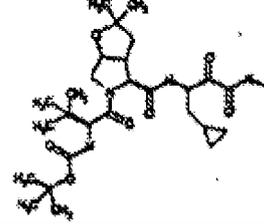
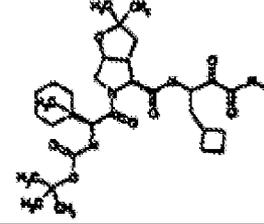
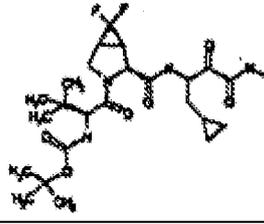
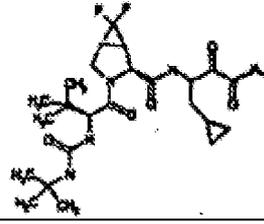
(continuação)

<b>TABELA 1</b>		
ESTRUTURA	PM	Ki* (nM)
	588,58	A
	648,82	A
	575,63	A
	559,63	A
	872,66	A
	796,00	A
	569,75	A

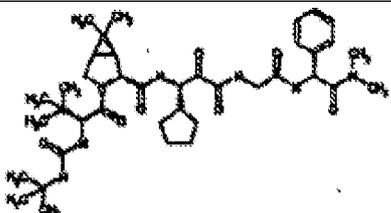
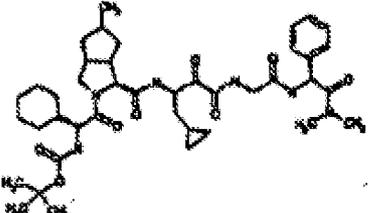
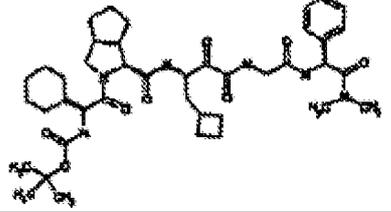
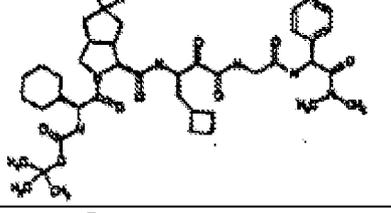
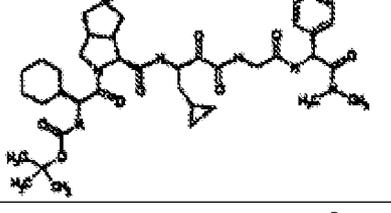
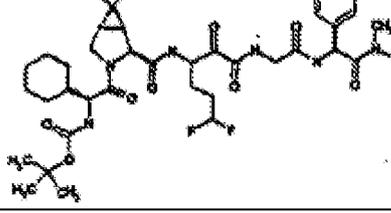
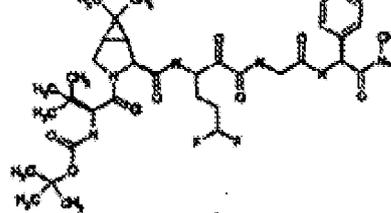
(continuação)

<b>TABELA 1</b>		
ESTRUTURA	PM	Ki* (nM)
	585,79	A
	573,78	A
	537,68	A
	621,78	A
	822,93	A
	692,91	A

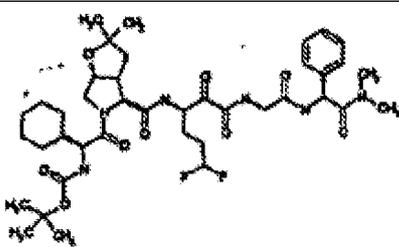
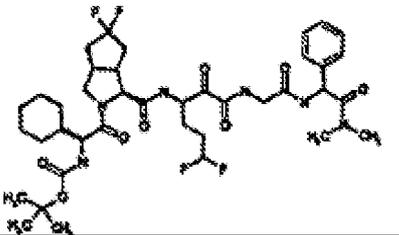
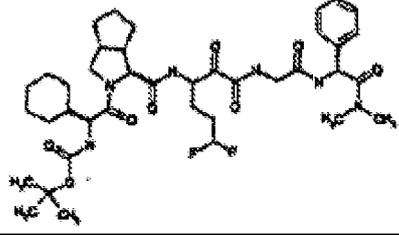
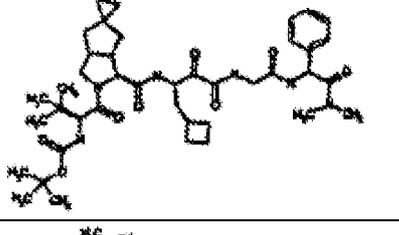
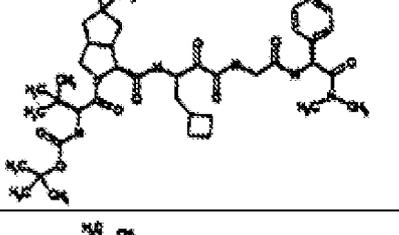
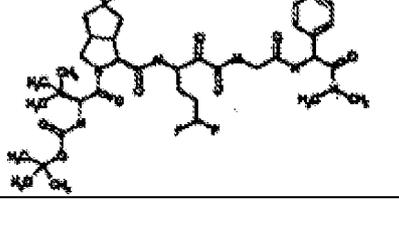
(continuação)

<b>TABELA 1</b>		
ESTRUTURA	PM	Ki* (nM)
	604,58	A
	573,66	A
	821,95	A
	760,98	A
	809,02	A
	732,83	A
	731,85	A

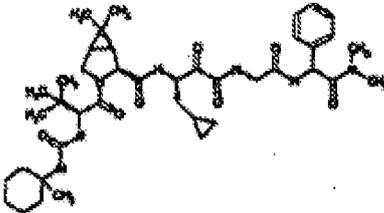
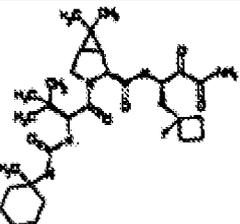
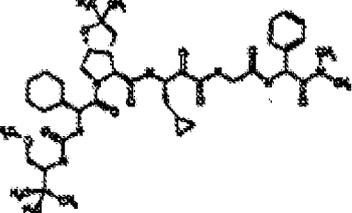
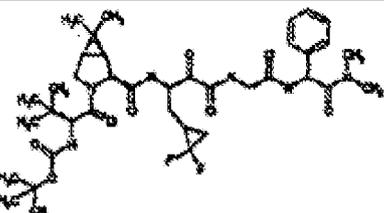
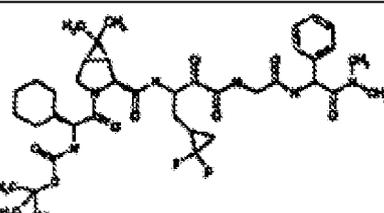
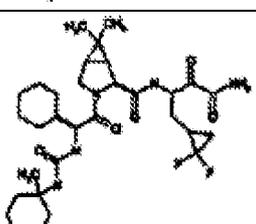
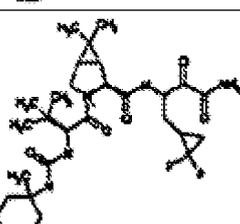
(continuação)

<b>TABELA 1</b>		
ESTRUTURA	PM	Ki* (nM)
	737,85	A
	764,97	A
	764,97	A
	800,95	A
	786,92	A
	774,91	A
	748,88	A

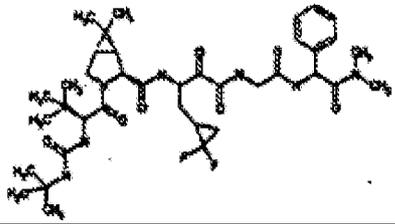
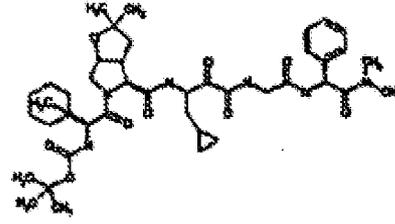
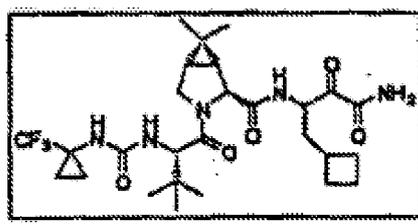
(continuação)

<b>TABELA 1</b>		
ESTRUTURA	PM	Ki* (nM)
	804,94	A
	810,89	A
	774,91	A
	764,97	A
	766,99	A
	776,93	A

(continuação)

<b>TABELA 1</b>		
ESTRUTURA	PM	Ki* (nM)
	763,99	A A
	577,75	A
	838,07	A
	760,89	A
	786,92	A
	607,75	A
	581,71	A

(continuação)

<b>TABELA 1</b>		
ESTRUTURA	PM	Ki* (nM)
	759,90	A
	795,00	A
	571,83	A

Gama de Ki\* no ensaio contínuo de HCV:

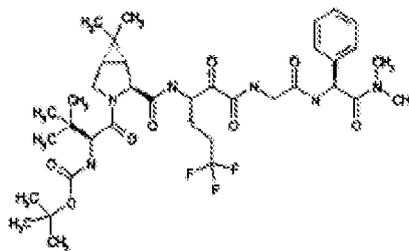
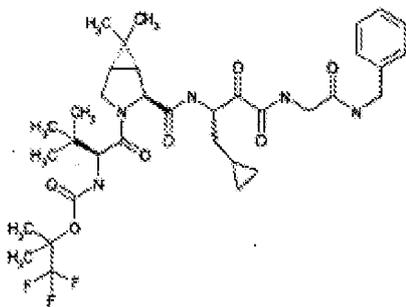
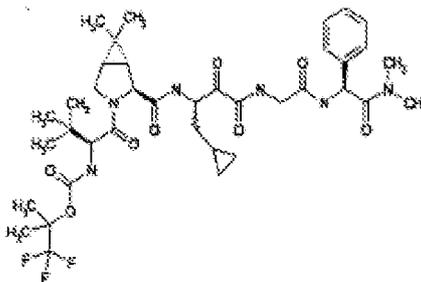
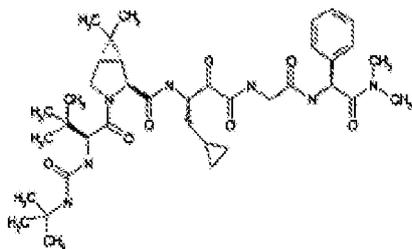
Categoria A = 1-100 nM; Categoria B = 101-1000 nM;

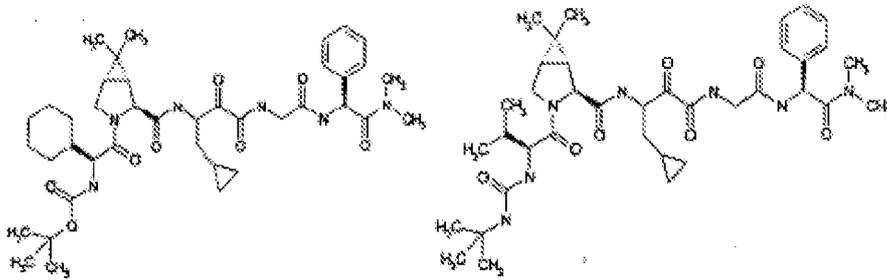
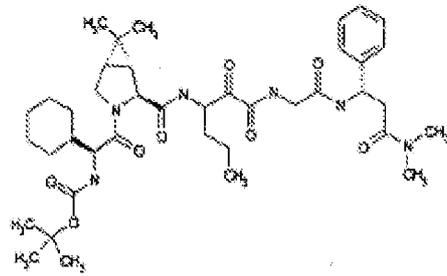
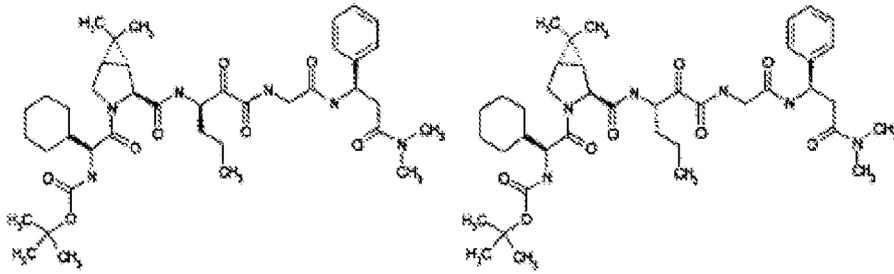
Categoria C &gt; 1000 nM.

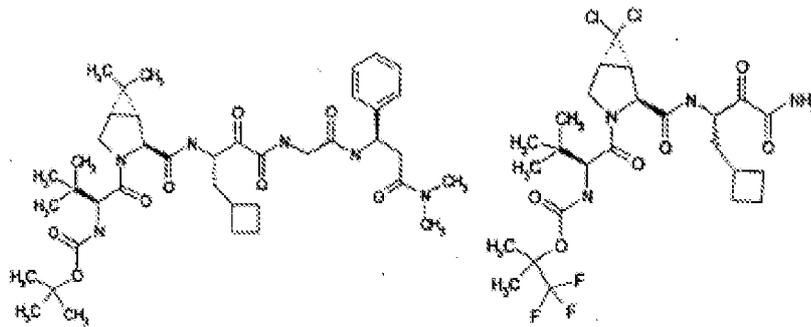
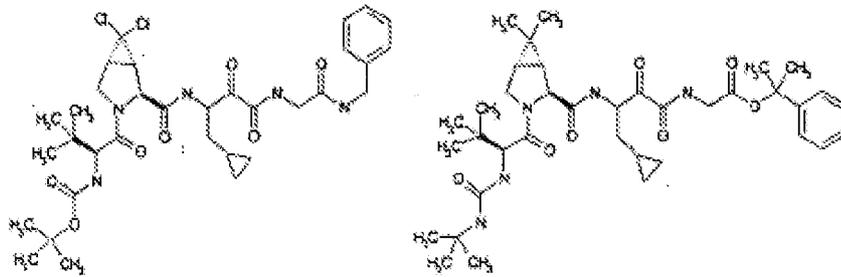
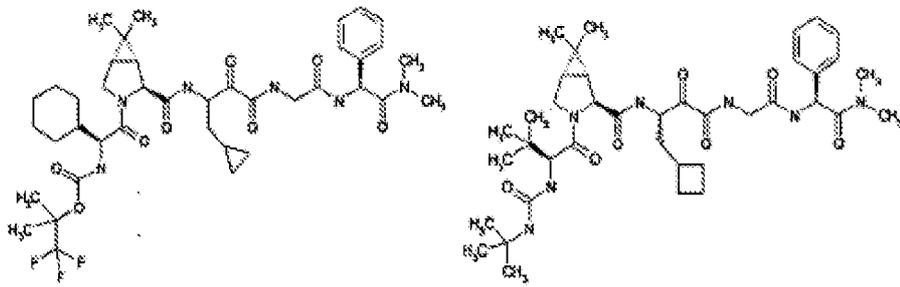
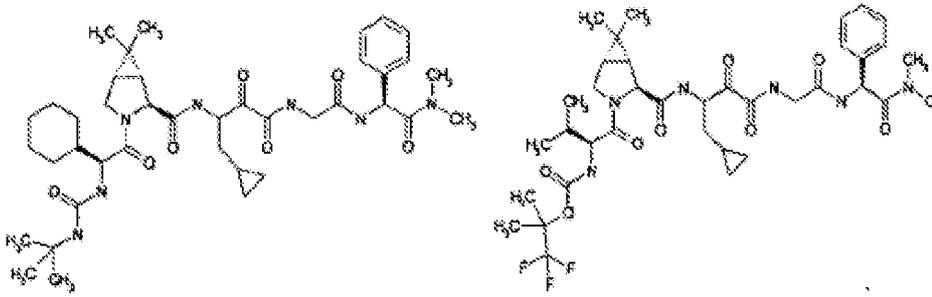
Lisboa, 12 de Agosto de 2010

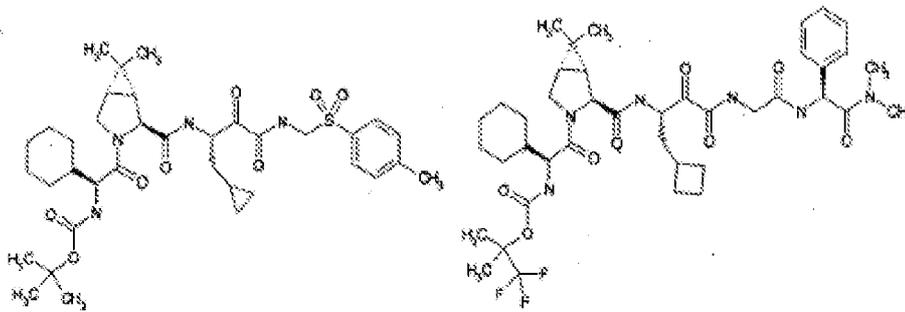
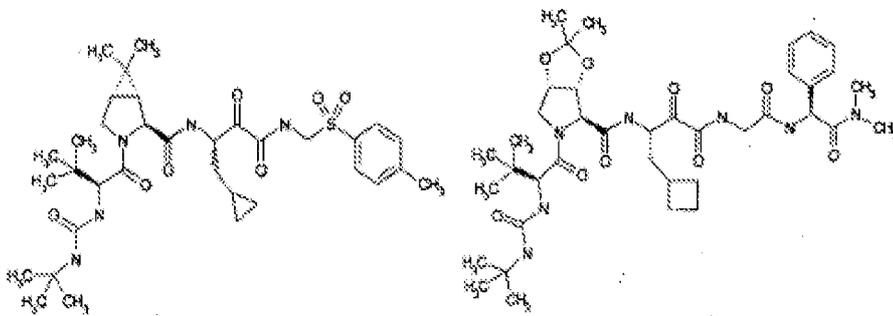
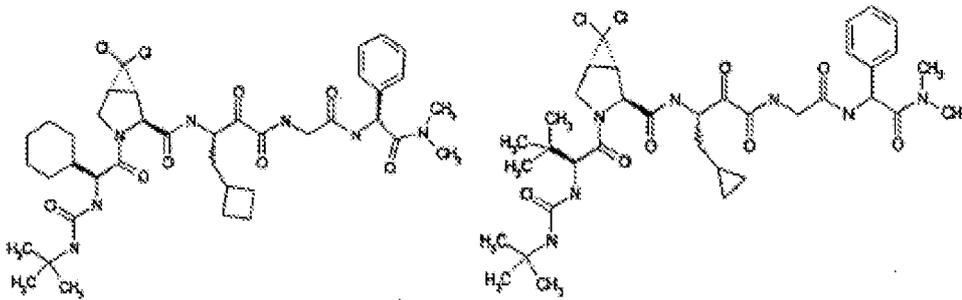
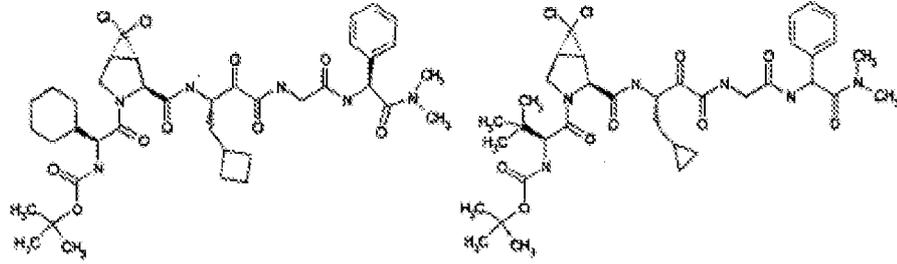
**REIVINDICAÇÕES**

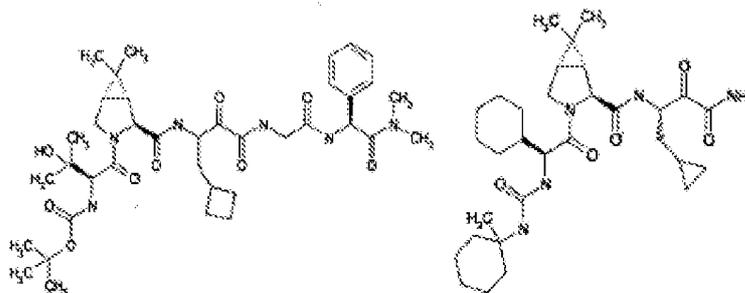
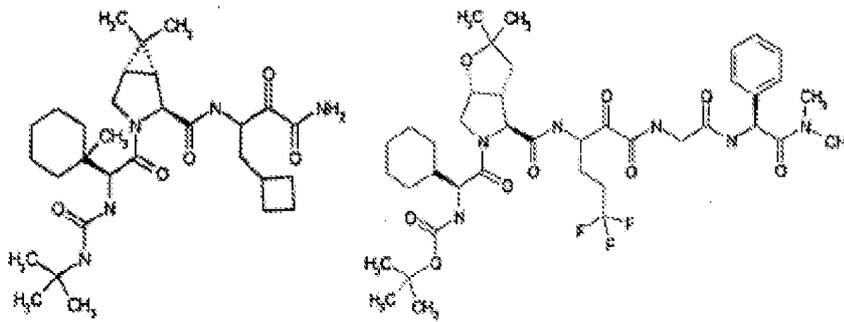
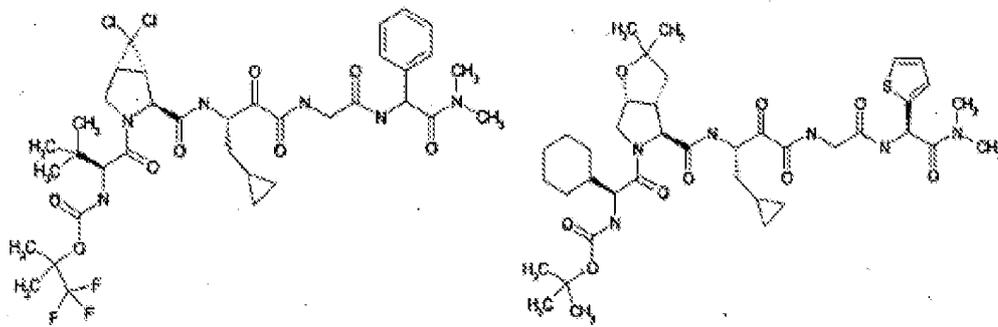
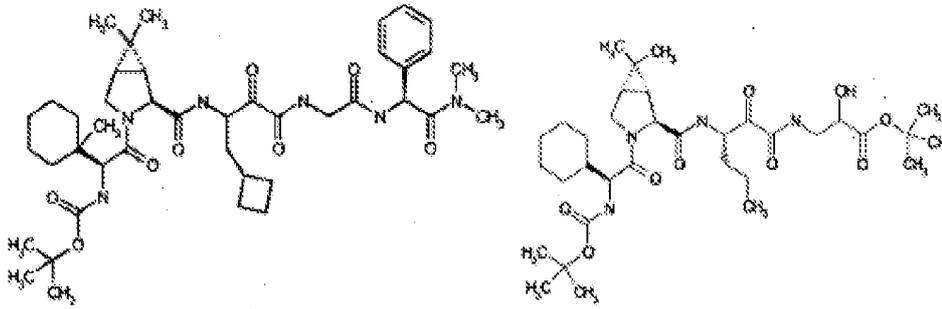
1. Composto que apresenta actividade inibidora de proteases de HCV, ou os enantiómeros, estereoisómeros, rotâmeros, tautómeros ou racematos do referido composto, ou os sais ou solvatos farmacêuticamente aceitáveis do referido composto, sendo o referido composto seleccionado dos compostos com as estruturas listadas a seguir:

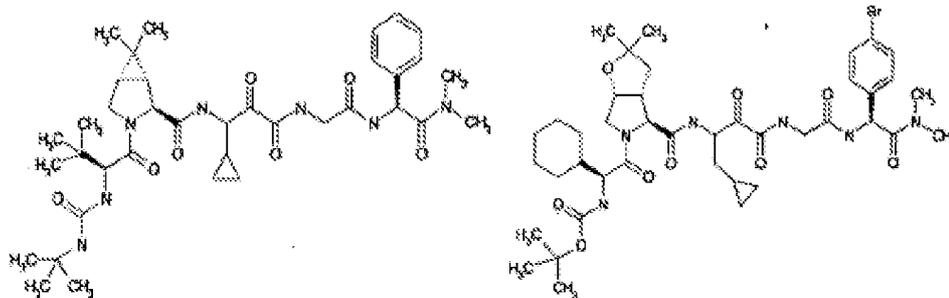
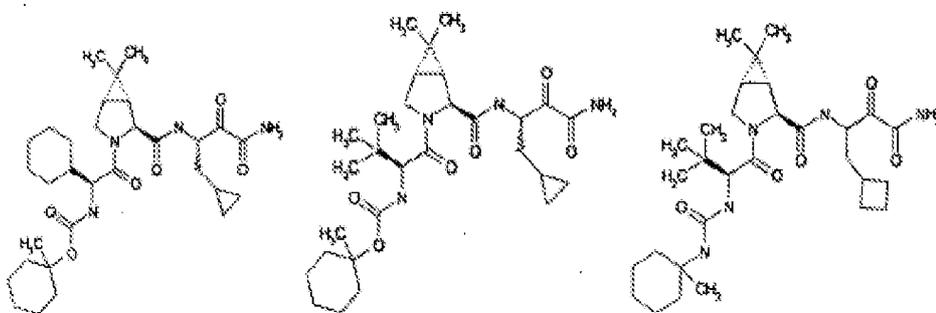
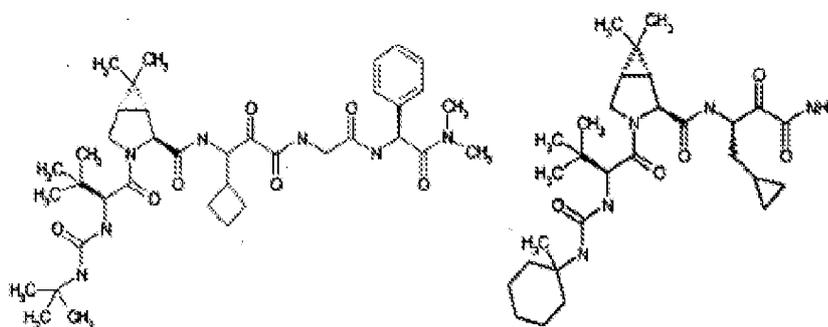
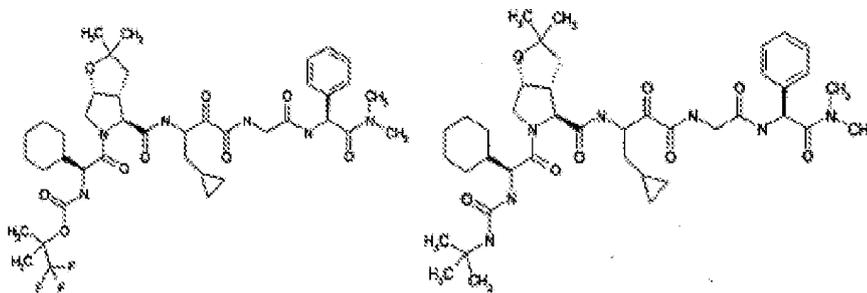


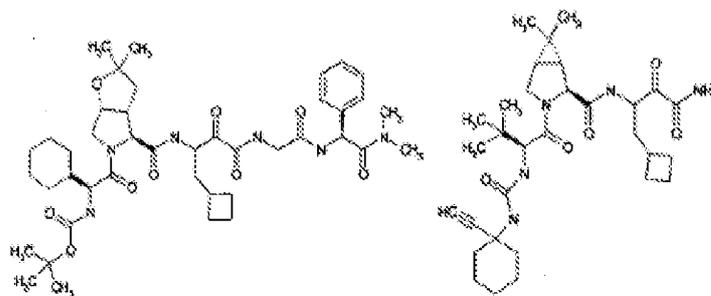
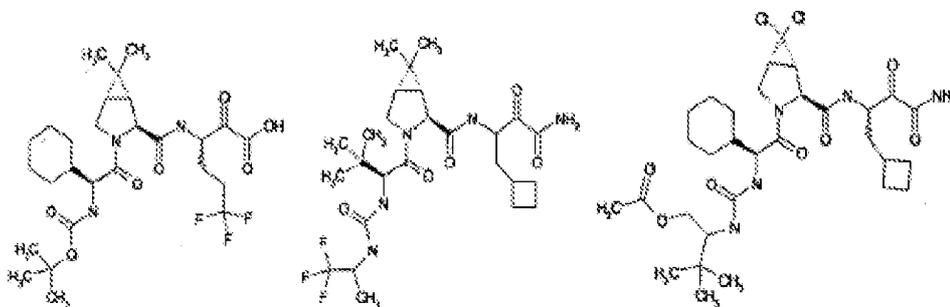
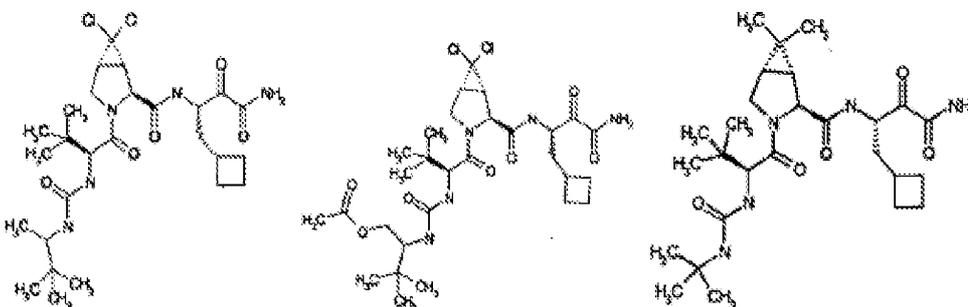
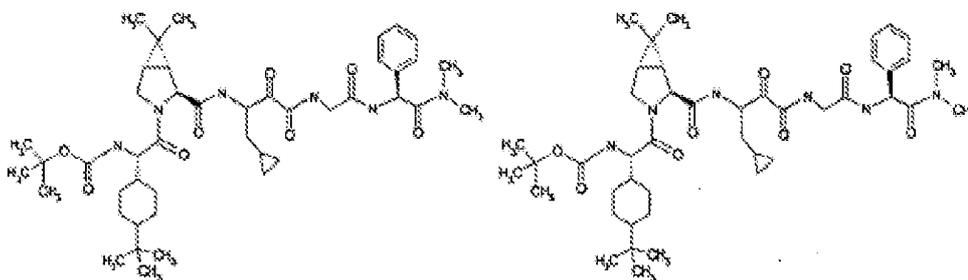


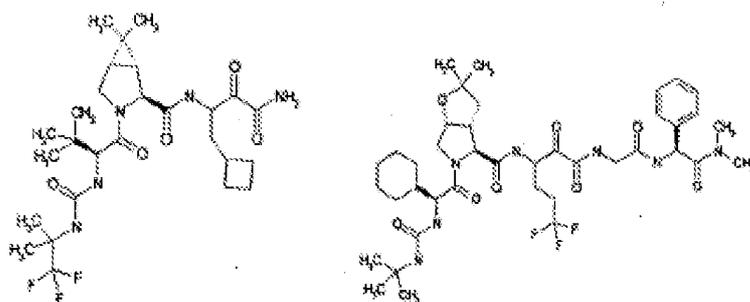
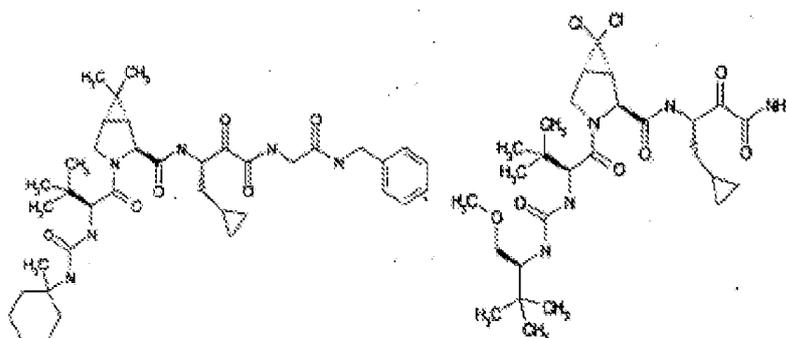
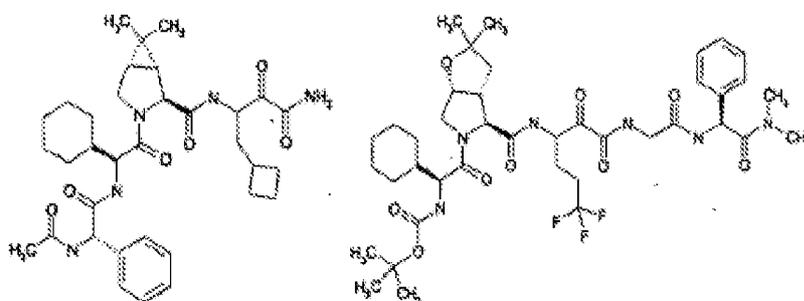
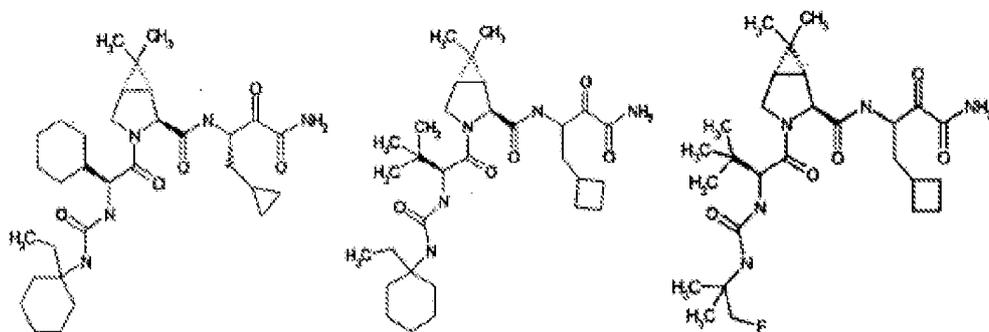




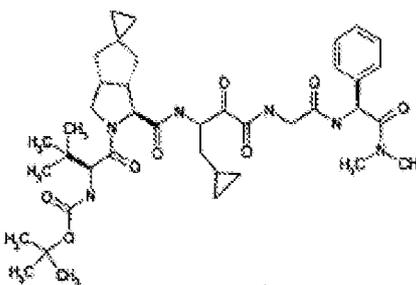
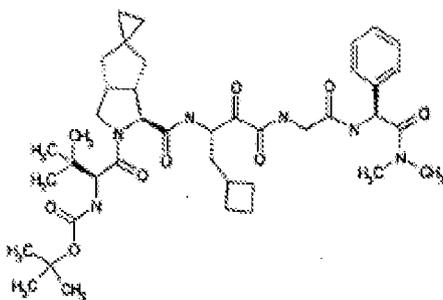
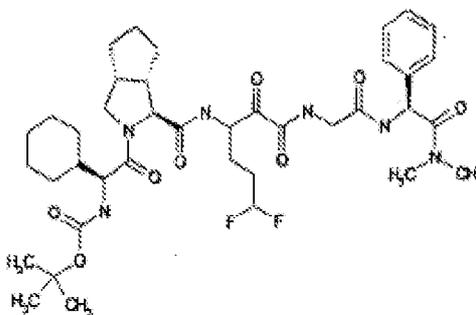
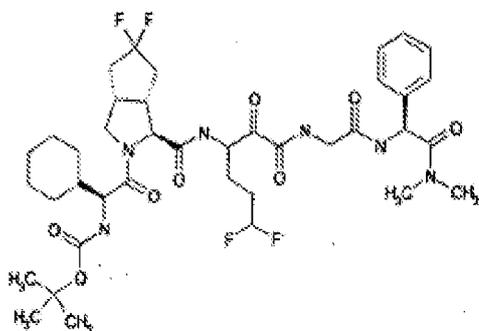
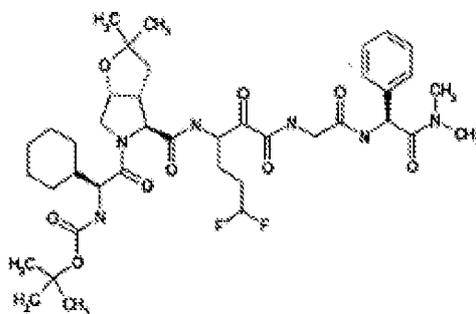
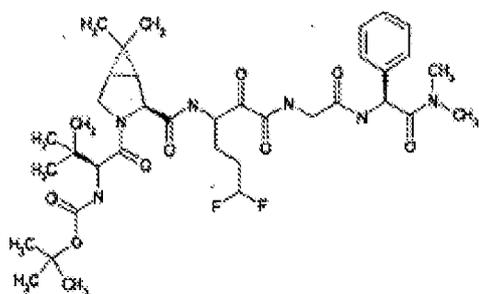
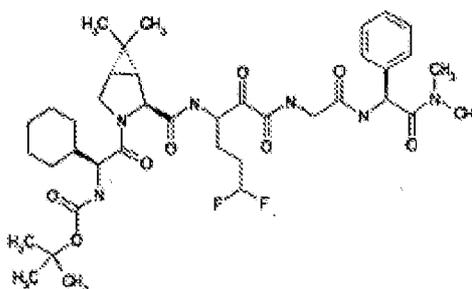
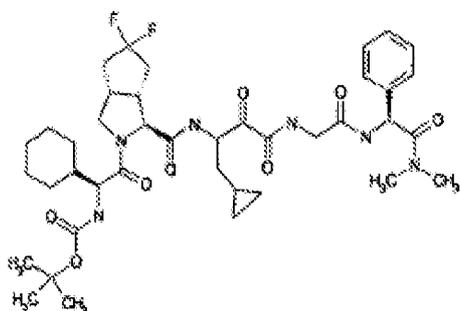


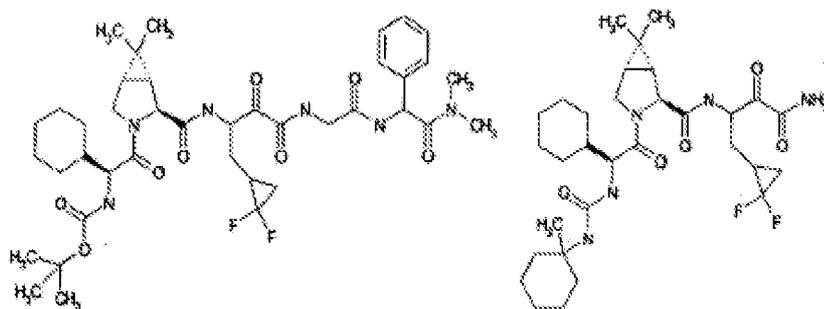
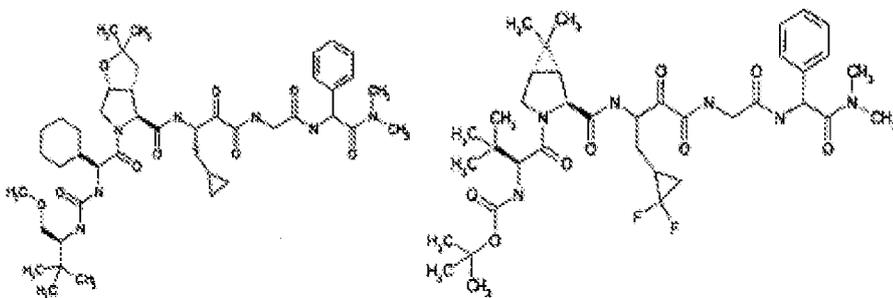
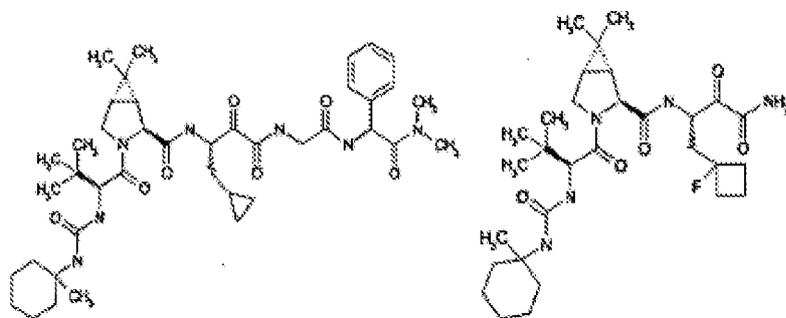
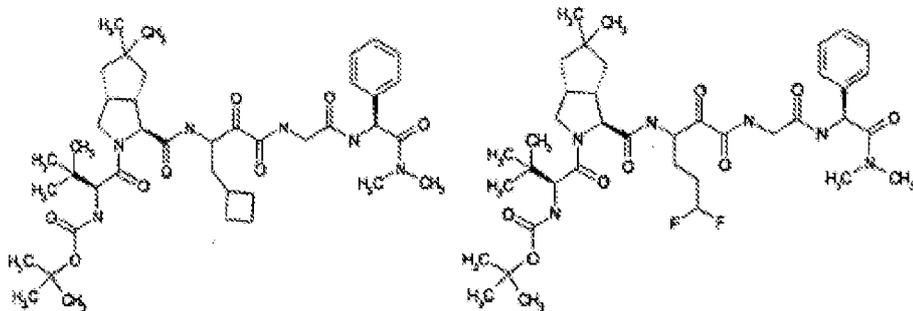


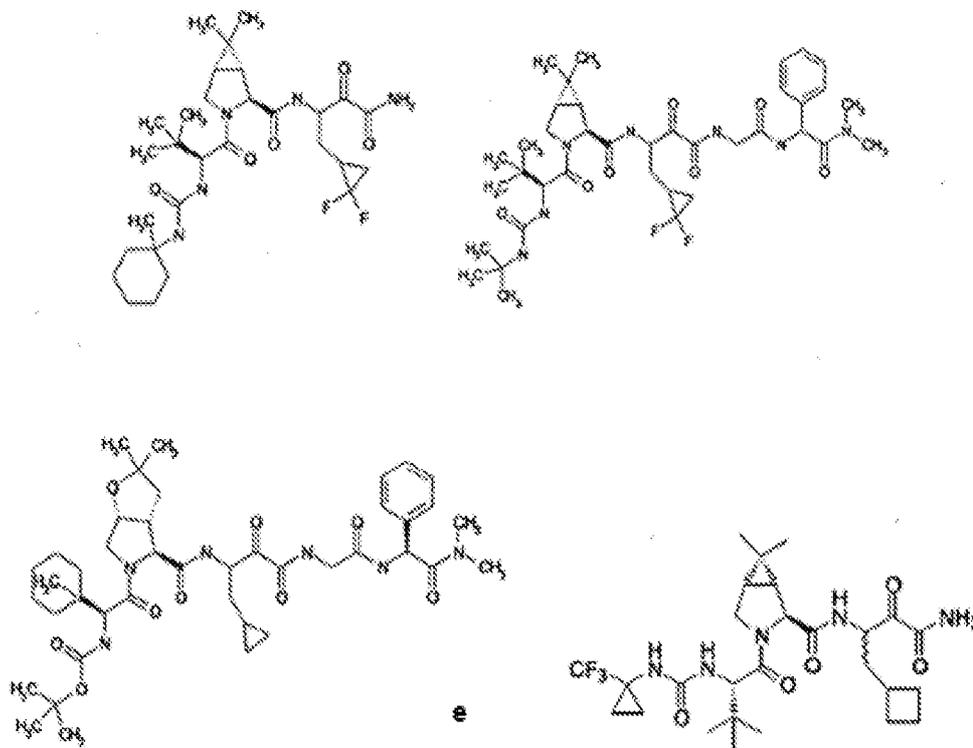




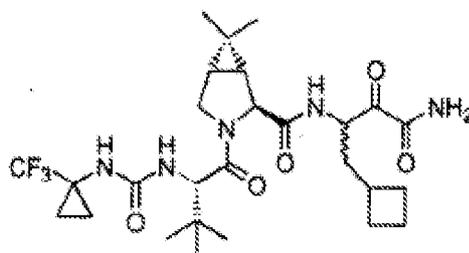




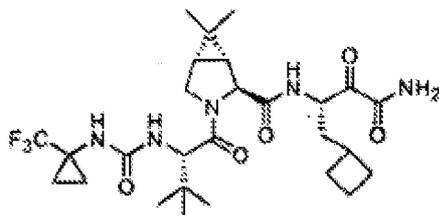




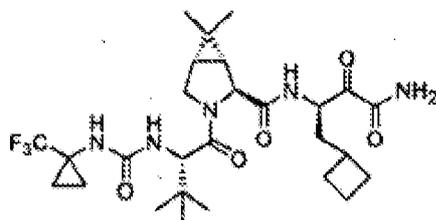
2. Composto de acordo com a reivindicação 1, ou os enantiómeros, estereoisómeros, rotâmeros, tautómeros ou racematos do referido composto, ou os sais ou solvatos farmacologicamente aceitáveis do referido composto, tendo o referido composto a estrutura ilustrada a seguir:



3. Composto de acordo com a reivindicação 2 que tem a fórmula ilustrada a seguir:



4. Composto de acordo com a reivindicação 2 que tem a fórmula ilustrada a seguir:



5. Composição farmacêutica compreendendo como um ingrediente activo pelo menos um composto de acordo com qualquer das reivindicações 1 a 4.

6. Composição farmacêutica de acordo com a reivindicação 5 para utilização no tratamento de doenças associadas a HCV.

7. Composição farmacêutica de acordo com a reivindicação 5 compreendendo adicionalmente um veículo farmacêuticamente aceitável.

8. Composição farmacêutica de acordo com a reivindicação 7, contendo adicionalmente pelo menos um agente antiviral.

9. Composição farmacêutica de acordo com a reivindicação 8, contendo adicionalmente ainda um interferão ou conjugado de PEG-interferão alfa.

10. Composição farmacêutica de acordo com a reivindicação 9, em que o referido agente antiviral é ribavirina e o referido interferão é interferão  $\alpha$ .

11. Utilização de um composto de acordo com qualquer das reivindicações 1 a 4 para o fabrico de um medicamento para tratamento de doenças associadas a HCV.

12. Utilização de acordo com a reivindicação 11, em que o referido medicamento é para administração oral ou subcutânea.

13. Composto de acordo com qualquer das reivindicações 1 a 4 para tratamento de doenças associadas a HCV.

14. Método de preparação de uma composição farmacêutica para tratamento de doenças associadas a HCV, compreendendo o referido método levar a contacto íntimo pelo menos um composto de acordo com qualquer das reivindicações 1 a 4 e um veículo farmacêuticamente aceitável.

15. Método de modulação da actividade de proteases do vírus da hepatite C (HCV), compreendendo fazer contactar proteases de HCV com um ou mais compostos de acordo com qualquer das reivindicações 1 a 4, em que o

referido método é diferente de um método para tratamento terapêutico do corpo humano ou animal.

16. Utilização de um ou mais compostos de acordo com qualquer das reivindicações 1 a 4 para o fabrico de um medicamento para o tratamento, prevenção ou melhoramento de um ou mais sintomas de hepatite C.

17. Método de acordo com a reivindicação 15, em que a protease de HCV é a protease NS3/NS4.

18. Utilização de acordo com a reivindicação 16, em que o composto ou compostos são inibidores de protease NS3/NS4 de HCV.

19. Composto de acordo com qualquer das reivindicações 1 a 4 para tratamento, prevenção ou melhoramento de um ou mais sintomas de hepatite C.

20. Método de modulação do processamento do polipéptido do vírus da hepatite C (HCV), compreendendo fazer contactar uma composição contendo o polipéptido de HCV em condições em que o polipéptido é processado com um ou mais compostos de acordo com qualquer das reivindicações 1 a 4, em que o referido método é diferente de um método para tratamento terapêutico do corpo humano ou animal.

21. Utilização de um composto de acordo com qualquer das reivindicações 1 a 4 no fabrico de uma composição para utilização numa terapêutica de associação

para o tratamento de doenças associadas ao vírus da hepatite C (HCV), compreendendo a referida terapêutica de associação a administração (i) do referido composto e (ii) um interferão.

22. Utilização de acordo com a reivindicação 21, em que o referido interferão é interferão alfa ou interferão pegilado.

23. Utilização de acordo com a reivindicação 21 ou a reivindicação 22, em que a referida terapêutica de associação compreende a administração de uma composição de acordo com a reivindicação 5.

24. Utilização de acordo com a reivindicação 21 ou a reivindicação 22, em que a referida terapêutica de associação compreende a administração de um composto de acordo com a reivindicação 2.

25. Utilização de acordo com a reivindicação 21 ou a reivindicação 22, em que a referida terapêutica de associação compreende a administração de um composto de acordo com a reivindicação 3 ou a reivindicação 4.

26. Utilização de acordo com qualquer das reivindicações 21 a 25, em que a referida terapêutica de associação compreende a administração oral ou subcutânea.

## REFERÊNCIAS CITADAS NA DESCRIÇÃO

*Esta lista de referências citadas pelo requerente é apenas para conveniência do leitor. A mesma não faz parte do documento da patente Europeia. Ainda que tenha sido tomado o devido cuidado ao compilar as referências, podem não estar excluídos erros ou omissões e o IEP declina quaisquer responsabilidades a esse respeito.*

## Documentos de patentes citadas na Descrição

- WO 8904669 A
- EP 381216 A
- US 5712145 A
- WO 9814181 A
- WO 9817679 A
- WO 9822496 A
- WO 9907734 A
- WO 0009558 A
- WO 0009543 A
- US 2002107181 A
- US 2002016294 A
- US 2002102295 A
- US 2003036501 A
- US 2002180982 A
- US 2002147139 A
- US 2002088702 A
- WO 0140262 A

## Literatura que não é de patentes citada na Descrição

- Pizzi et al. *Proc. Natl. Acad. Sci. (USA)*, 1994, vol. 91, 888-892
- Falla et al. *Folding & Design*, 1998, vol. 3, 35-42
- Kolykhalov et al. *J. Virol.*, 1994, vol. 68, 7525-7533
- Komoda et al. *J. Virol.*, 1994, vol. 68, 7351-7357
- Landro et al. *Biochem*, 1997, vol. 36, 9340-9348
- Ingallinella et al. *Biochem*, 1998, vol. 37, 8906-8914
- Llinás-Brunel et al. *Eur. J. Biochem. Med. Chem. Lett.*, 1998, vol. 8, 1713-1718
- Martín et al. *Biochem*, 1998, vol. 37, 11459-11466
- Dimasi et al. *J. Virol.*, 1997, vol. 71, 7461-7469
- Martín et al. *Protein Eng.*, 1997, vol. 10, 607-614
- Elzouki et al. *J. Hepat.*, 1997, vol. 27, 42-28
- *BioWorld Today*, 10 November 1998, vol. 9 (217), 4
- A. Marchetti et al. *Synlett*, 1999, vol. S1, 1000-1002
- W. Han et al. *Bioorganic & Medicinal Chem. Lett.*, 2000, vol. 10, 711-713
- Berenguer et al. *Proc. Assoc. Am. Physicians*, 1998, vol. 110 (2), 86-112
- Hoofnagle et al. *N. Engl. J. Med.*, 1997, vol. 336, 347
- S. L. Harbeson et al. *J. Med. Chem.*, 1994, vol. 37 (18), 2916-2929
- Wang et al. *J. Chem. Soc., Perkin Trans.*, 1997, vol. 1 (5), 621-624
- Pedregal, C.; Ezquerro, J.; Escribano, A.; Carreno, M. C.; Garcia Ruano, J. L. *Tetrahedron Letters*, 1994, vol. 35 (13), 2053-2056
- *J. Org. Chem.*, 1989, vol. 54 (2), 547
- Marinuzzi, M.; Natani, B.; Ni, M.H.; Costantino, G.; Pellicciari R. *Il Farmaco*, 1995, vol. 50 (5), 327-331
- Kogami Y.; Okawa, K. *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, 1987, vol. 60, 2963-2965
- *Tetrahedron*, 1992, vol. 48 (44), 9707-9718
- Kunz, H.; Pfingler, W.; Ruck, K.; Wilfried, S. *Synthesis*, 1991, 1039-1042
- Barrett, A. G. M.; Doubleday, W. W.; Kasdorf, K.; Tustin, G. J. *J. Org. Chem.*, 1996, vol. 61, 3280
- R. Zhang; J. S. Madalenoitla. *J. Org. Chem.*, 1999, vol. 64, 330
- H. Mokkwin. *J. Chem. Soc.*, 1941, 75
- *J. Org. Chem.*, 1977, vol. 42, 143
- Bailey, J. H.; Cherry, D. T.; Crispell, K. M.; Moloney, M. G.; Shim, S. B.; Bamford, M. J.; Lamont, R. B. *Tetrahedron*, 1997, vol. 53, 11731
- J. Ramnauth; E. Lee-Ruff. *Can. J. Chem.*, 2001, vol. 79, 114-120
- R. Zhang et al. *Analytical Biochemistry*, 1999, vol. 270, 265-275
- D. L. Sall et al. *Biochemistry*, 1996, vol. 37, 3392-3401
- K. Barlos et al. *Int. J. Pept. Protein Res.*, 1991, vol. 37, 513-520
- K. Holmber et al. *Acta Chem. Scand.*, 1979, vol. B33, 410-412