

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

(21) **PI0902520-0 A2**



* B R P I 0 9 0 2 5 2 0 A 2 *

(22) Data de Depósito: 28/07/2009
(43) Data da Publicação: 05/04/2011
(RPI 2100)

(51) *Int.Cl.:*
C07D 493/04
A61K 31/34
A61P 31/12

(54) Título: **COMPOSTOS PSEUDOPEPTÍDICOS INIBIDORES DA SERINO PROTEASE, COMPOSIÇÕES INIBIDORAS DA SERINO PROTEASE E COMPOSIÇÕES FARMACÊUTICAS CONTENDO TAIS COMPOSTOS**

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

(72) Inventor(es): Almicar Tanuri, Estela Maris Freitas Muri, Helena de Souza Pereira, José Boullosa Alonso Neto, Octávio Augusto Ceva Antunes, Rodrigo de Moraes Brindeiro, Sergio Pinheiro, Thalita Gonçalves Barros

(57) Resumo: Compostos Pseudopeptídicos Inibidores da Serino Protease, Composições Inibidoras da Serino Protease e Composições Farmacêuticas Contendo Tais Compostos Resumo A presente invenção relata compostos pseudopeptídicos inibidores da serino protease que apresentam um cerne rígido derivado do D-manitol, isomanídeo, capaz de conferir rigidez ao inibidor, e que por sua natureza química também pode atuar em polimerases, como DNA ou RNA polimerases, inibindo-as. Esses compostos inibidores de serino proteases e polimerases são base de composições inibidoras da serino protease, bem como composições farmacêuticas destinadas à elaboração de potenciais medicamentos antivirais, contra vírus da família Flaviviridae sendo relacionada, principalmente, aos vírus da Hepatite C (HCV) e o vírus da Dengue.



PI0902520-0

**Compostos Pseudopeptídicos Inibidores da Serino Protease,
Composições Inibidoras da Serino Protease e Composições
Farmacêuticas Contendo Tais Compostos**

Campo da Invenção

5 A presente invenção se refere à pseudopeptídios ativos contra os vírus da família *flaviviridae*, desenhados como inibidores serino protease e potencialmente inibidores de polimerases caracterizados por possuir, na porção central, uma estrutura do tipo 1,4:3,6-dianidromanitol. As porções laterais são caracterizadas por possuir ligações peptidomiméticas provenientes da abertura
10 de diversas oxazolonas. Esses novos compostos ativos contra os vírus da família *flaviviridae* são a base para a preparação de composições farmacêuticas antivirais capazes de cessar, principalmente, a proliferação de vírus do HCV e o vírus da dengue.

Antecedentes da Invenção

15 A família Flaviviridae compreende mais de 60 viroses, muita das quais são patogênicas ao ser humano. Dentre estas viroses encontram-se aquelas relacionadas ao vírus da Hepatite C (HCV), da Febre do Oeste do Nilo (ou Febre do Nilo Ocidental), da febre amarela e da Dengue. No caso das hepatites virais, são pelo menos sete os tipos de vírus que já foram caracterizados: A, B,
20 C, D, E, G e TT, que têm em comum o hepatotropismo e podem levar a inflamação e necrose hepática. Hepatite é o termo genérico, com origem grega *hepato-* (fígado) e *-itis* (inflamação), que designa a inflamação do fígado. As hepatites virais, particularmente, são causadas por diferentes agentes etiológicos, de distribuição global dentre eles o HCV (Craxi, A.; Laffi, G.;
25 Zignego, A.L. *Mol. Aspects Med.* 2008, 29, 85-95; Manns, M.P.; Foster, G.R.; Rockstroh, J.K.; Zeuzem, S.; Zoulim, F.; Houghton, M. *Nat. Rev. Drug Discov.* 2007, 6, 991-1000).

Em termos estruturais o HCV é um vírus envelopado, possuindo um
30 genoma RNA, com aproximadamente 9.4Kb. O genoma possui uma única janela aberta de leitura que codifica três proteínas estruturais (cerne, E1, E2) e sete proteínas não estruturais (p7, NS2 a NS5B). Duas regiões não traduzidas (UTR) presentes em cada extremidade do genoma são importantes para as etapas de tradução e transcrição do genoma RNA. Foi descrita uma grande

variedade na seqüência genômica do HCV. Os diferentes genótipos foram reunidos em seis grupos principais e vários subtipos. Há uma distribuição geográfica diferenciada em relação aos diferentes genótipos. No Brasil, os mais freqüentes são os genótipos 1, 2 e 3 com incidência de 70; 2,5 e 28 %, respectivamente.

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

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

Mesmo com este arsenal terapêutico, a infecção pelo HCV é responsável por mais de 80% dos transplantes de fígado no mundo, e no Brasil. (Consenso da Sociedade Paulista de Infectologia (SPI) para Manuseio e Terapia da Hepatite C, São Paulo, SP.) Diversos novos compostos têm sido avaliados para o tratamento das infecções pelo HCV. Esses compostos se encontram em fases iniciais de avaliação, ou seja, estudos *in vitro* ou pré-clínicos em animais. Porém, a maioria desses compostos ainda não foi

5 analisada em fases de triagem envolvendo seres humanos (estudos clínicos). De forma geral, apenas 1 em cada 1.000 novos compostos chega a ser avaliado em etapas que envolvem seres humanos. Entre esses, somente 1 em 5 recebe a aprovação pelo Food and Drug Administration, FDA, escritório de alimentos e medicamentos do governo dos Estados Unidos da América.

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

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

Fase I	Fase II	Fase III	Fase IV
ANA971	XTL-6865 (formerly HepX-C)	REBIF	Infergen /Consensus
Interferon Alfa oral	E - 1	IP-501	Amantadine
ANA 975	Civacir	Viramidine*	
EMZ702	Omega Interferon	Zadaxin	
HCV/MF59	Multiferon	NM283*	
HCV-796*	IDN-6556		
Bavituxinab (Tarvacin)	Albuferon		
Alinia(nitrazoxanide)	IC41		
BLX-883 (Locteron)	Medusa Interferon		
R1626*	VX 950 **		
GGI-5005	CPG 10101		
NOV-205	BIVN-401 (Virostat)		
XTL-2125	MX-3253 (Celgosivir)		
G126270	SCH 503034**		
	VGX-410C		

* Inibidores da RNA polimerase

**** Inibidores da protease**

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

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

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

O peso molecular do monômero da protease NS3 do HCV é de 70 kDa.
30 Sua estrutura ativa é um dímero e a estrutura terciária do monômero tem uma extensão na porção N-terminal, 2 domínios com 6 "beta-barrels" (conjunto de fitas beta-pregueadas) cada, assim como um domínio de troca e uma alfa hélice. O sítio ativo da protease está localizado na porção N-terminal.

Comparando a seqüência da NS3 de outros flavivírus podemos identificar três resíduos conservados (His-57, Asp-81, and Ser-139) que compõem o centro catalítico desta protease. O centro ativo da protease NS3 contém um sítio estabilizador de um oxianion tetraédrico, intermediário da reação, "oxyanion/stabilization loop", e uma fita E2 e precedida por uma fita E1. A NS3 cliva a poliproteína viral entre os resíduos de aminoácidos Cys/Ser (nos sítios 4B/5A e 5A/5B), Cys/Ala (no 4A/4B), ou Thr/Ser (no 3/4A).

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

Vários trabalhos têm sido relatados sobre inibidores de serina protease.

A determinação do modo como a serina protease atua para possibilitar a hidrólise de peptídeos é uma característica importante na pesquisa de eficazes inibidores enzimáticos.

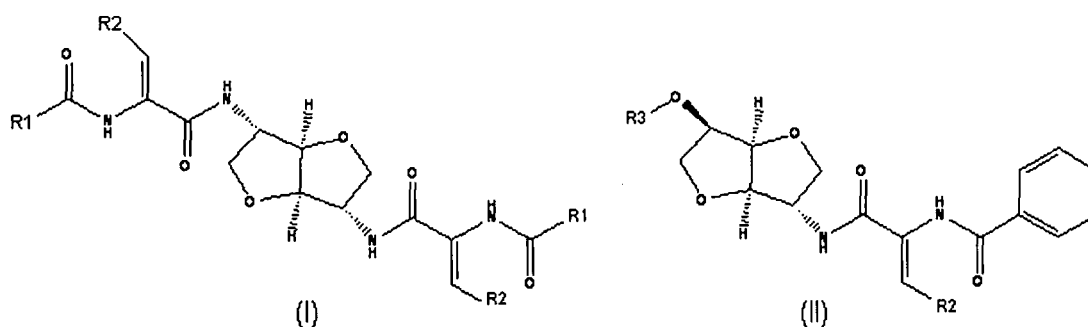
Estudos recentes de nosso grupo mostraram a obtenção de novas séries de compostos pseudopeptídeos derivados do isomanídeo (Estela Maris Freitas Muri, Marlito Gomes Junior, Jerônimo S. Costa, Marcelo Lima Bastos, Ricardo Hernandez-Valdes, Magaly Girão Albuquerque, E.F.F. da Cunha, Ricardo B. Alencastro, O.A.C. Antunes "Compostos inibidores de serina protease, processo de obtenção e uso para tratamento de flavivirose" PI 0401908-3, 04/06/2004. RPI 1762 de 13/10/2004, RPI 1828 de 17/01/2006; Muri, E. M.F.; Gomes Jr., M.; Albuquerque, M.G.; Cunha, E.F.F.; Alencastro, R.B.; Williamson, J.S.; Antunes, O.A.C. *Amino Acids* 2005, 28, 413-419. Muri, E.M.F.; Gomes Jr., M.; Costa, J.S.; Alencar, F.L. Sales Jr., A.; Bastos, M.L.; Hernandez-Valdes, R.; Albuquerque, M.G.; Cunha, E.F.F.; Alencastro, R.B.; Williamson, J.S.; Antunes, O.A.C. *Amino Acids* 2004, 27, 153-157). Nesse trabalho foi realizado um estudo de modelagem molecular (docking) de um fragmento de MbBBI (um potente inibidor de NS3-pro) no sítio ativo da enzima NS3 protease, validando, assim, o modelo proposto para o estudo com os nossos compostos sintetizados. O composto estruturalmente mais simples da série dos ésteres apresentou 3 ligações hidrogênio com a enzima. Uma ligação entre o grupo NH da Gly¹³³ e o átomo de oxigênio do anel biciclo corresponde a

posição P1' do nosso composto. As outras duas ligações correspondem à posição P1, ou seja, a Alanina do composto interagindo com a hidroxila da Ser¹³⁵ e com a Asn¹⁵² da enzima.

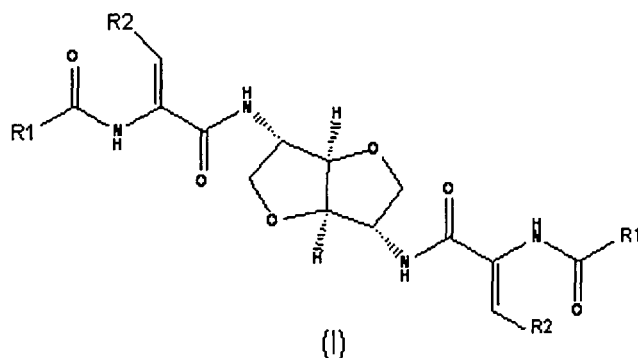
Recentemente, derivados hexapeptídicos contendo uma função eletrofílica α -ceto-amida têm sido descritos como potentes inibidores da serina protease de HCV (Arasappan, A.; Njoroge, F.G.; Chan, T.-Y.; Bennett, F.; Bogen, S.L.; Chen, K.; Gu, H.; Hong, L.; Jao, E.; Liu, Y.-T.; Lovey, R.G.; Parekh, T.; Pike, R.E.; Pinto, P.; Santhanam, B.; Venkatraman, S.; Vaccaro, H.; Wang, H.; Yang, X.; Zhu, Z.; Mckittrick, B.; Saksena, A.K.; Girijavallabhan, V.; Pichardo, J.; Butkiewicz, N.; Ingram, N.; Malcolm, B.; Prongay, A.; Yao, N.; Marten, B.; Madison, V.; Kemp, S.; Levy, O.; Lim-Wilby, M.; Tamura, S.; Ganguly, A.K. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 2005, 15, 4180-4184). Ainda dentro da classe das α -ceto-amidas, o VX-950 e o SCH503034 (Bocepravir), já mencionados anteriormente, encontram-se em desenvolvimento clínico. O VX-950 foi capaz de reduzir a carga viral plasmática de pacientes dosados com 750mg a cada 8h, e em alguns pacientes o vírus tornou-se indetectável após 14 dias de dosagem (Chen, K.X.; Vibulbhan, B.; Yang, W.; Cheng, K-C.; Liu, R.; Pichardo, J.; Butkiewicz, N.; Njoroge, F.G. *Bioorg. Med. Chem.* 2008, doi:10.1016/j.bmc.2007.11.002. Perni, R.B.; Almquist, S.J.; Byrn, R.A.; Chandorkar, G.; Chaturvedi, P.R.; Courtney, L.F.; Decker, C.J.; Dinehart, K.; Gates, C.A.; Harbeson, S.L.; Heiser, A.; Kalkeri, G.; Kolaczowski, E.; Lin, K.; Luong, Y-P.; Rao, B.G.; Taylor, W.P.; Thomson, J.A.; Tung, R.D.; Wei, Y.; Kwong, A.D.; Lin, C. *Antimicrob. Agents Chemother.* 2006, 50, 899-909).

Sumário da Invenção

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

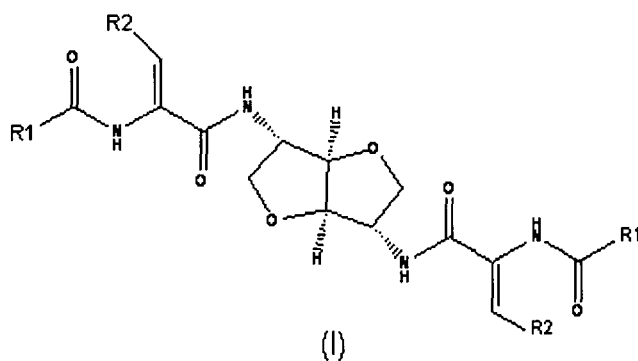


O segundo objeto dessa invenção refere-se a uma composição inibidora da serino protease contendo um composto inibidor da serino protease de fórmula molecular (I):



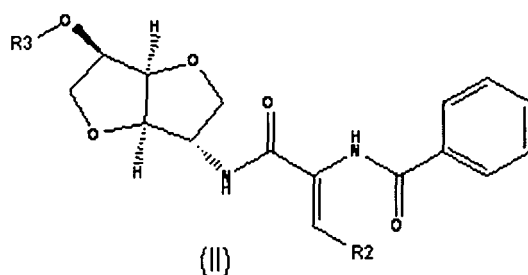
20 e/ou seus sais farmacologicamente aceitáveis, para a produção de um medicamento usados com inibidores da serino protease e potencialmente empregado como inibidor da DNA e RNA polimerases, além de excipientes farmacologicamente aceitáveis.

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



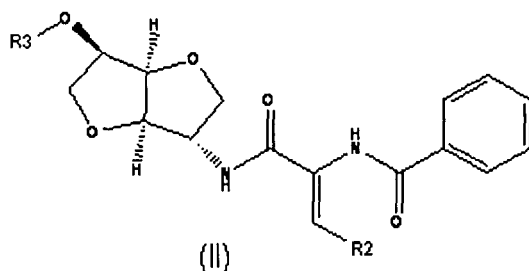
45 assim como seus e/ou seus sais farmacologicamente aceitáveis, úteis na produção de um medicamento usado no tratamento de doenças causadas pelos vírus da família Flaviviridae em mamíferos humanos e não humanos, além de excipientes farmacologicamente aceitáveis.

O quarto objeto dessa invenção trata-se de uma composição inibidora da serino protease contendo um composto de fórmula molecular (II):



15 assim como seus derivados e/ou seus sais farmacologicamente aceitáveis, usados para a produção de um medicamento usados como inibidores da serino proteases e potencialmente inibidores da DNA e RNA polimerases, além de excipientes farmacologicamente aceitáveis.

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



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

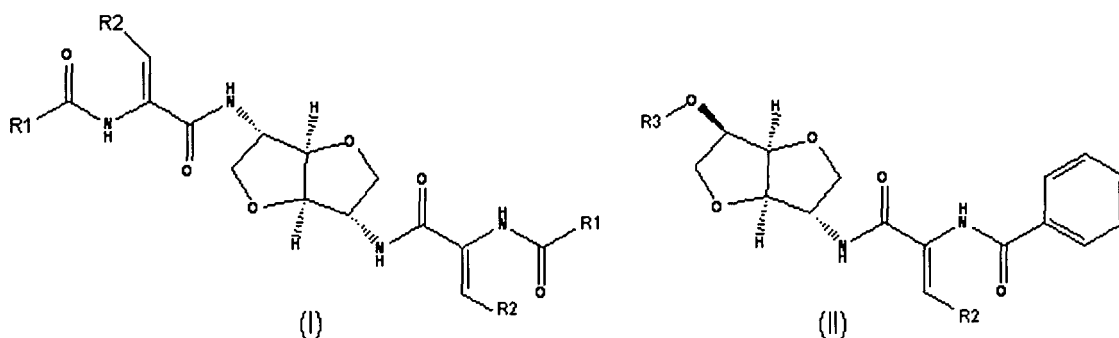
Descrição Detalhada da Invenção

45 A presente invenção refere-se aos compostos pseudopeptídicos de fórmula geral (I) e (II), desenhados como inibidores da serina protease e potencialmente inibidores da polimerase.

Estes compostos pseudopeptídicos são potencialmente ativos em vírus da família flaviviridae, tais compostos são ativos na inibição da serino protease

e potencialmente inibidores de polimerases do HCV, do vírus da dengue do vírus da febre amarela, do vírus da febre do oeste e do vírus da febre do Nilo.

Os compostos pseudopeptídicos de fórmula geral (I) e (II) da presente invenção:



5

Onde:

R1 Benzila, carboxibenzila, carboxi-*t*-butila, hidrogênio, alquila ou arila;

R2 fenila, *p*-fluorfenila, *p*-clorofenila, *p*-bromofenila, *p*-trifluormetilfenila, *p*-metoxifenila, 2-tienil, 3,4-metilenodioxifenil, 3-piridil, 3,4-dimetoxifenil, *p*-cianofenil, 2-naftil, 4-metilfenil; e,

10

R3 benzila, carboxibenzila, carboxi-*t*-butila, hidrogênio, aquila ou arila.

Preferencialmente,

R1 pode ser uma fenila ou metila;

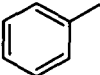
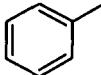
R2 fenila *p*-substituídos ou heterocíclis; e,

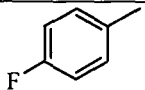
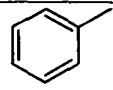
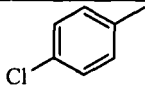
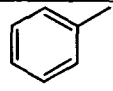
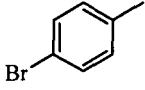
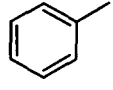
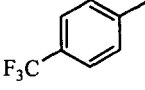
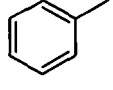
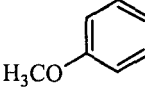
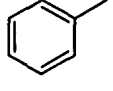
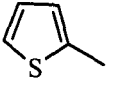
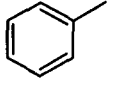
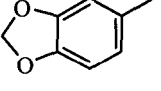
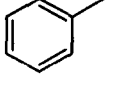

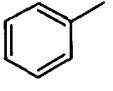
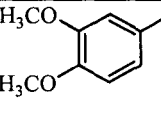
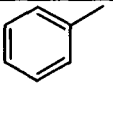

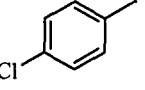
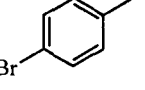
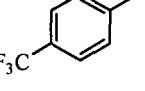
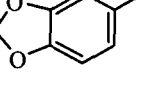
15

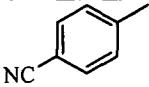
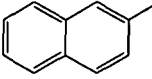
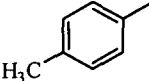
R3 benzila (-Bn), carboxibenzila (-Cbz) ou carboxi-*t*-butila (-Boc); capazes de conferir rigidez ao inibidor de serino protease e que, por sua natureza, também podem atuar em polimerases, como DNA ou RNA polimerases, inibindo-as.

A tabela 1 abaixo apresenta alguns dos compostos de fórmula geral (I) e (II) obtidos, mostrando os diferentes radicais R1 e R2 efetivamente empregados em cada composto. Tais compostos serão melhor descritos e exemplificados posteriormente.

20

Composto	R ₂	R ₁	PF (°C)
10			169-170

11			186
12			199-200
13			207-208
14			174-175
15			162-163
16			176-178
17			200
18			149-151
19			154-155
20		-CH ₃	158
21		-CH ₃	149
22		-CH ₃	135
23		-CH ₃	119
24		-CH ₃	183

25		-CH ₃	191-192
26		-CH ₃	225
27		-CH ₃	136

Os ditos compostos de fórmula molecular (I) e (II) e/ou sais farmaceuticamente, além de excipientes farmaceuticamente aceitáveis, são usados em composições inibidoras da serino protease e potencialmente inibidoras de polimerases, tais como DNA e RNA polimerases.

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

Preferencialmente, a concentração dos compostos de fórmula geral (I) e (II) fica compreendida entre 15 μ M a 100 μ M.

10 Os compostos de fórmula molecular (I) e (II) e/ou seus sais farmaceuticamente aceitáveis além de excipientes farmaceuticamente aceitáveis, podem ainda serem empregados em composições farmacêuticas para a preparação de medicamentos voltados para o tratamento de doenças causadas por vírus da família *flaviviridae*. Preferencialmente os falvívirus desta
15 invenção são os vírus da hepatite C, o vírus da dengue, o vírus da febre amarela, o vírus da febre do oeste e o vírus da febre do Nilo.

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

20 Preferencialmente, a concentração dos compostos de fórmula geral (I) e (II) fica compreendida entre 15 μ M a 100 μ M.

Para fins dessa invenção os excipientes são todos aqueles compostos químicos que tem como objetivo dar forma, volume, estabilidade a composição farmacêutica. Todos os excipientes que aqui serão usados são aqueles das
25 indústrias farmacêuticas tais como: adjuvantes, edulcorantes, solventes, estabilizantes, antioxidantes, conservantes, tampões, flavorizantes,

tensoativos, umectantes, lubrificantes, dispersantes e todos aqueles conhecidos por um técnico na área.

Os tais excipientes podem ser empregados em diferentes formas farmacêuticas, tais como pós, comprimidos, cápsulas, nanocápsulas, 5 nanoesferas, cristais, ampolas, soluções orais, adesivos transdérmicos, soluções injetáveis musculares ou parenterais, pomadas, cremes, géis, suspensões, emulsões, aerossóis, tinturas, elixires, pastas, pastilhas, supositórios, unguentos, óvulos, e todas aquelas conhecidas por um técnico da arte.

10 Tal composição farmacêutica que contem os compostos (I) e/ou (II), assim como seus derivados e sais farmaceuticamente aceitáveis, é empregada para a produção de um medicamento no tratamento de doenças causadas pelos vírus da família Flaviviridae, compreendendo os vírus dessa família os vírus da hepatite C, da dengue, da febre amarela, da febre do oeste ou febre 15 do Nilo, sendo preferencialmente empregado no tratamento de doenças provocadas pelo vírus da dengue e da hepatite C. No caso da hepatite C estão compreendidos os seguintes vírus A, B, C, D, E, G e TT.

Os compostos de fórmula geral (I) foram produzidos a partir do isomanídeo como análogos dos previamente publicados pelo grupo, com a 20 analogia adicional a pró-nucleosídios, isto é, compostos capazes de inibir polimerases. Sua analogia estrutural com dipeptídeos rígidos cíclicos o faz um excelente chassi, cerne rígido, "scaffold". (Bencsik, J.R.; Kercher, T.; O'Sullivan, M.; Josey, J.A. *Org Lett.* 2003, 5, 2727–2730. Dietrich, E.; Lubell, W.D. *J. Org. Chem.* 2003, 68, 6988–6996. Além disto, pelo fato de apresentar 25 um eixo C₂ de simetria, pode ser homologado, em duas ou em uma posição, mantendo ou não o eixo de simetria, via reação com diferentes amino ácidos e diidroamino ácidos, por exemplo, via acoplamento direto catalisado por EDC, HOBt, e amino ácidos ou via abertura de azalactonas (síntese em paralelo, química combinatória).

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

A primeira etapa na obtenção dos derivados de fórmula geral I consistiu na conversão do isomanídeo (1) no derivado di-tosilado (2) por reação com

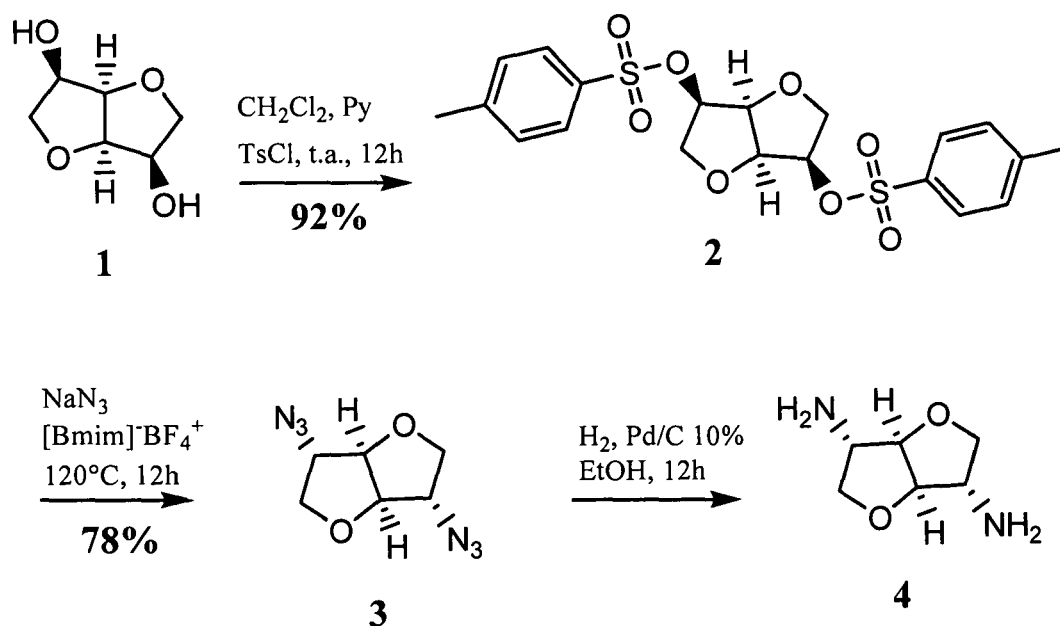
cloreto de *p*-toluenosulfonila em piridina por 12h a temperatura ambiente. O tratamento do di-tosilado (2) com azida de sódio em [bmim]BF₄ a 120°C por 12h forneceu a di-azida (3), com inversão de configuração. Redução da di-azida (3) com paládio sobre carbono em etanol por 12h utilizando uma pressão

5

de 40psi resultou na di-amina (4), que foi o substrato para a formação de novas amidas simétricas derivadas do isomanideo (28-45) (Esquema 1) (Archibald, T.G.; Baum, K. *Synth. Comm.* 1989, 19, 1493-1498. Hockett, R.C.; Fletcher Jr., H.G.; Sheffield, E.L.; Goepf Jr., R.M.; Soltzberg. *J. Chem. Soc.* 1946, 68, 930-935. Kuzsmann, J.; Medgyes, G. *Carbohydr. Res.* 1980, 85, 259-269).

10

Esquema 1. Síntese dos compostos intermediários para a obtenção da di-amina (4).



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

15

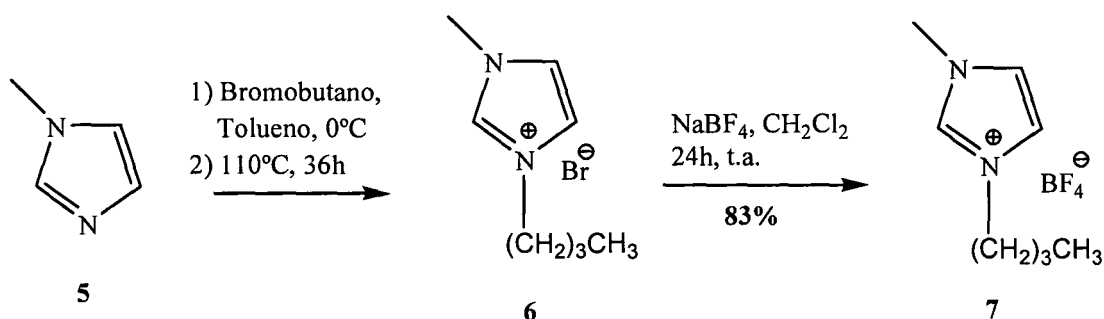
20

acima de 400°C, podendo ser usados em vácuo sem que haja perda de solvente. Devido a esses fatores, além da possibilidade de sua reutilização, os líquidos iônicos são, hoje em dia, muito empregados no conceito de Química

Verde (Andrade, C.K.Z.; Takada, S.C.S.; Alves, L.M.; Rodrigues, J.P.; Suarez, P.A.Z.; Brandão, R.F.; Soares, V.C.D. *Synlett* 2004, 12, 2135-2138. Lancaster, N.L.; Salter, P.A.; Welton, T.; Young, G.B. *J. Org. Chem* 2002, 67, 8855-8861).

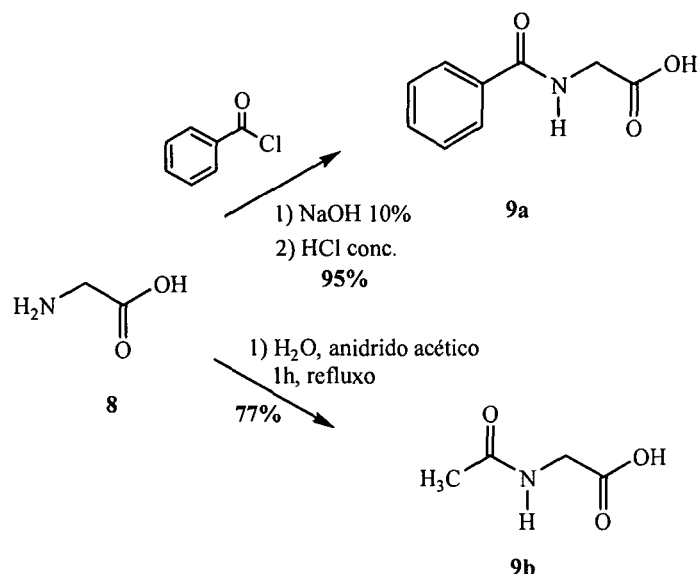
O líquido iônico, [bmim]BF₄ (7) foi sintetizado a partir do N-metilimidazol (5). Este reagiu com o 1-bromobutano formando o derivado (6) que, por troca iônica com NaBF₄, originou (7). O líquido iônico foi purificado por coluna cromatográfica em sílica gel tendo como eluente o diclorometano, sendo obtido em 83% de rendimento como mostrado no esquema 2 (Lancaster, N.L.; Salter, P.A.; Welton, T.; Young, G.B. *J. Org. Chem* 2002, 67, 8855-61).

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



A etapa seguinte consistiu na obtenção das oxazolonas (ou azalactonas) (10-27) a partir da glicina (8) comercialmente disponível. Para a obtenção do composto (9a), reagiu-se a glicina (8) com cloreto de benzoíla em solução aquosa de NaOH. O produto suficientemente puro foi obtido em 95% de rendimento. A N-acetilglicina (9b) foi obtida pela reação de (8) com anidrido acético em meio aquoso sob refluxo, sendo obtida em 77% de rendimento após precipitação e filtração, como observado no esquema 3 (Mesaik, A.M.; Rahat, S.; Khan, K.M.; Zia-Ullah.; Choudhary, M.I.; Murad, S.; Ismail, Z.; Atta-ur-Rahman and Ahmad, A. *Bioorg. Med. Chem.* 2004, 12, 2049-2057).

Esquema 3. Síntese dos derivados acilglicina (9a) e (9b)



Os derivados (9a) e (9b) foram aquecidos com vários aldeídos aromáticos na presença de anidrido acético e acetato de sódio, gerando as oxazolonas (ou azalactonas) (10-27) exclusivamente em Z, o isômero termodinamicamente mais estável (Esquema 4). A Tabela 2 apresenta os respectivos rendimentos, pontos de fusão e substituintes das oxazolonas (Jendralla, H.; Seuring, B.; Herchen, J.; Kulitzscher, B.; Wunner, J.; Stiiber, W.; Koschinsky, R. *Tetrahedron* 1995, 51, 12047-12068. Bautista, F.M.; Campelo, J.M.; García, A.; Luna, D.; Marinas, J.M.; Romero, A.A. *J. Chem. Soc. Perkin Trans.* 2002, 2, 227-234. Meiwes, J.; Schudok, M.; Kretzschmar, G. *Tetrahedron: Asymmetry*, 1997, 8, 527-536. Lisichkina, L.N.; Ushakova, O.M.; Alekseeva, M.O.; Peregudov, A.S.; Belikov, V.M. *Russ. Chem. Bull.* 1999, 48, 1682-1684. Wong, H.N.C.; Xu, Z.L.; Chang, H.M.; Lee, C.M. *Synthesis*, 1992, 793-797. Hoshina, H.; Kubo, K.; Morita, A.; Sakurai, T. *Tetrahedron*, 2000, 56, 2941-2951. Slater, G.; Someville, A.W. *Tetrahedron*, 1966, 22, 35-42. Paul, S.; Nanda, P.; Gupta, R.; Loupy, A. *Tetrahedron Lett.* 2004, 45, 425-427. Kitazawa, M.; Higuchi, R.; Takahashi, M. *J. Phys. Chem.* 1995, 99, 14784-14792.

Esquema 4. Síntese das oxazolonas

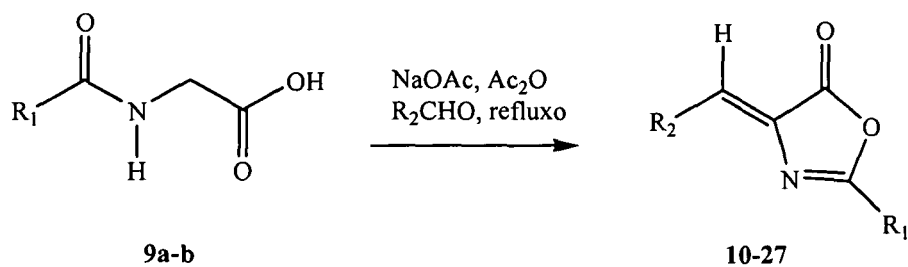
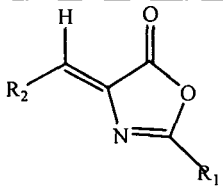
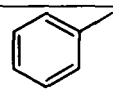
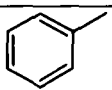
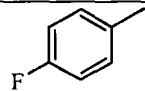
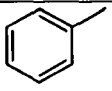
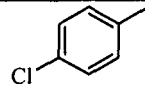
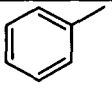
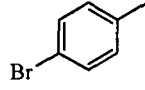
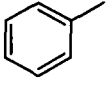
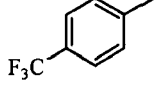
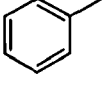
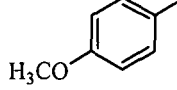
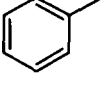
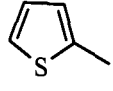
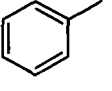
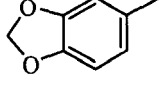
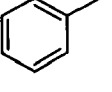
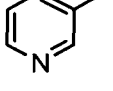
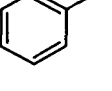
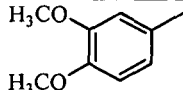
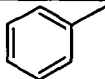
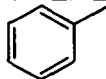
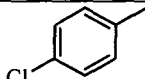
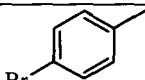
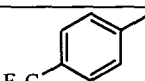
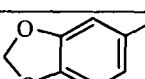
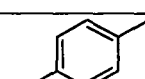
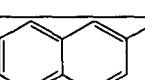
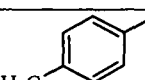


Tabela 2. Substituintes e pontos de fusão das oxazolonas

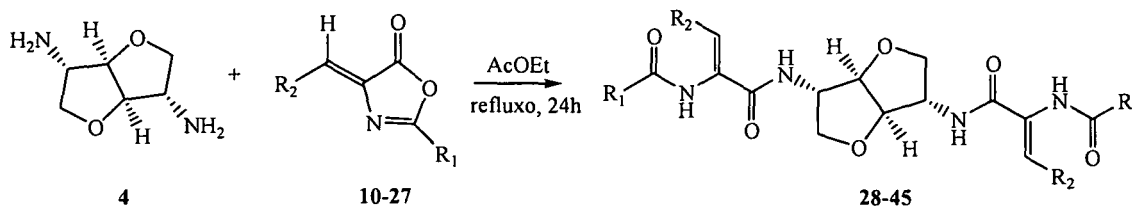


Composto	R ₂	R ₁	PF (°C)	Rendimento (%)
10			169-170	61
11			186	71
12			199-200	60
13			207-208	66
14			174-175	78
15			162-163	55
16			176-178	84
17			200	50
18			149-151	40

19			154-155	50
20		-CH ₃	158	48
21		-CH ₃	149	58
22		-CH ₃	135	66
23		-CH ₃	119	55
24		-CH ₃	183	35
25		-CH ₃	191-192	84
26		-CH ₃	225	40
27		-CH ₃	136	45

A última etapa consistiu em uma reação de abertura de anel das oxazolonas substituídas (10-27) com a di-amina (4). A reação foi realizada com acetato de etila em refluxo. Após o tempo necessário de cada reação, esta foi resfriada a temperatura ambiente e o produto precipitado foi filtrado e seco (Esquema 5) (Girgis, A.S.; Ellithey, M. *Bioorg. Med. Chem.* 2006, 14, 8527-8532. Chebanov, V.A.; Desenko, S.M.; Kuzmenko, S.A.; Borovskoy, V.A.; Musatov, V.I.; Sadchikova, Y.V. *Russ. Chem. Bul.: Int. Ed.*, 2004, 53, 2845-2849.

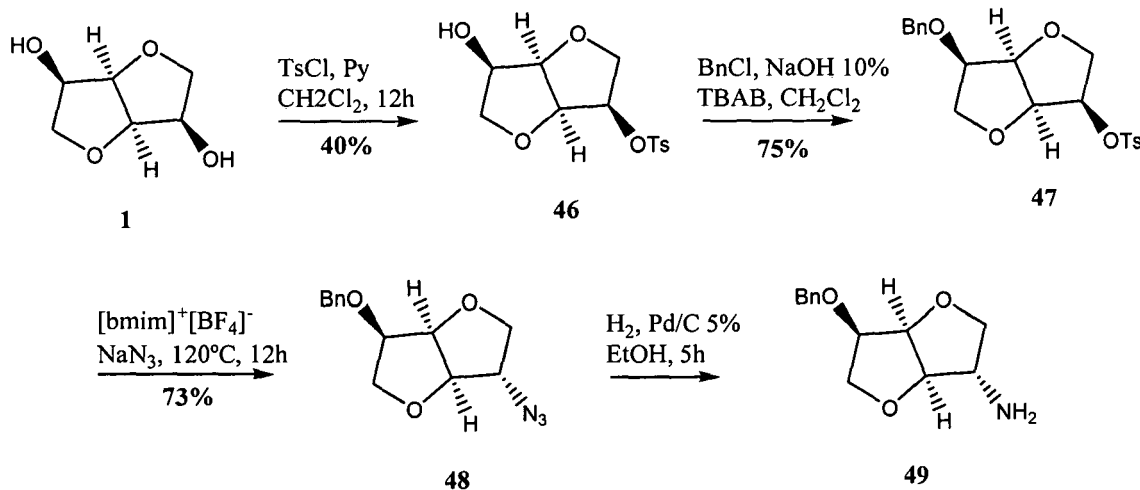
10 Esquema 5. Síntese dos derivados pseudopeptídicos



A síntese dos inibidores da serina protease previstos pela fórmula geral II iniciou-se pela monotosilação do isomanideo (1) com cloreto de *p*-toluenosulfonila e piridina por 12h resultando no composto monotosilado (46).

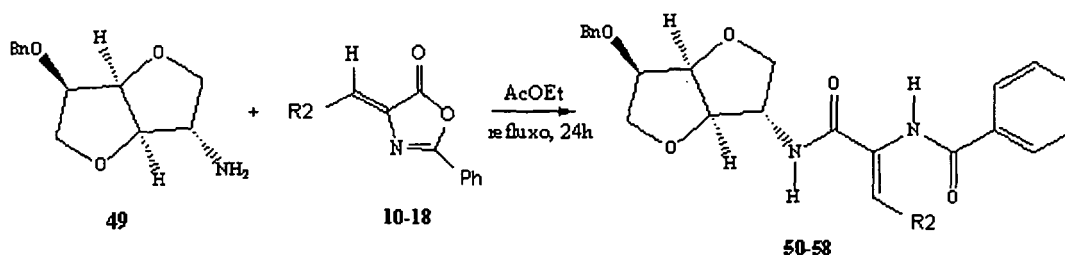
O grupamento hidroxila de (46) foi protegido com cloreto de benzila em meio básico obtendo-se o derivado (47). Uma reação de substituição nucleofílica do grupo tosila pela azida em líquido iônico resultou na formação do composto (48), o qual foi reduzido por hidrogenação catalítica usando Pd/C em etanol a 40psi formando a amina O-benzilada (49) como mostrado no esquema 6 (Kumar, S.; Ramachandran, U. *Tetrahedron*, 2005, 6, 4141–4148. Loupy, A.; Monteux, D. *Tetrahedron Lett.* 1996, 37, 7023-7026. Chiappe, C.; Pieraccini, D.; Saullo, P. *J. Org. Chem.* 2003, 68, 6710-6715. Tamion, R.; Marsais, F.; Jubereau, P.; Queguiner, G. *Tetrahedron: Asymmetry*, 1993, 4, 1879-1890).

Esquema 6. Síntese dos intermediários para obtenção da amina O-benzilada



A última etapa consistiu na reação da amina O-benzilada (49) com as oxazolonas (10-18) em refluxo com acetato de etila resultando na formação dos compostos peptidomiméticos (50-58) como mostrado no esquema 7.

Esquema 7. Síntese dos compostos (50-58)



Além disso, a di-amina (4) é capaz de reagir com qualquer aminoácido (D- ou L-), di- ou tripeptídeo, contendo grupos de proteção N-BOC, N-Bn ou N-CBZ, e carboxilas livres, via acoplamento catalisado por EDC e HOBT, de modo a fornecer os pseudopeptídios correspondentes.

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

Exemplo 1: Obtenção do 1,4:3,6-Dianidro-2,5-di-O-*p*-tosil-D-manitol.

A uma solução de isomanideo (13mmol, 2g) e piridina (54mmol, 4,43mL) em CH₂Cl₂ (6mL) foi adicionado TsCl (41mmol, 7,85g) à 0°C. A mistura reacional foi agitada por 12h à temperatura ambiente. Após este tempo, foi adicionado CH₂Cl₂ (200mL) e em seguida, a fase orgânica foi lavada com solução de HCl 1N (160mL), água (120mL) e solução saturada de NaCl. Após secagem com Na₂SO₄ e evaporado o solvente, o resíduo foi purificado por sucessivas recristalizações com metanol ou por coluna cromatográfica em sílica gel, usando uma mistura de hexano e acetato de etila, obtendo o produto como um sólido branco em 92% de rendimento; PF: 94°C, $\alpha_D^{20} = +96$ (c, 0,1) DMSO.

Exemplo 2: Obtenção do 1,4:3,6-Dianidro-2,5-diazido-2,5-dideoxi-L-iditil.

O composto di-tosilado (2) (7,7mmol, 3,5g) foi dissolvido no líquido iônico [Bmim]⁺BF₄⁻ (46mmol, 9,3mL) e em seguida, foi adicionado a NaN₃ (30mmol, 2g). A mistura ficou agitando a 120°C por 12h. Ao final da reação, o balão foi resfriado à temperatura ambiente, éter etílico foi adicionado e a solução foi lavada com água, seca com Na₂SO₄. Evaporado o solvente, o produto pode ser purificado por coluna cromatográfica em sílica gel, usando

uma mistura de hexano e acetato de etila, obtendo o produto como um óleo amarelo claro em 78% de rendimento.

Exemplo 3: Obtenção do 1,4:3,6-Dianidro-2,5-diamino-2,5-dideoxi-L-iditol.

5 A uma mistura de di-azida (**3**) (1mmol, 0.25g) em etanol (10mL) foi adicionado 10% de Pd/C 10% (0,127mmol, 0,140g). A mesma foi hidrogenada a 40 psi por 12h. Após esse tempo a mistura foi filtrada em XAD-4 (amberlite neutro), lavada com etanol e o solvente foi evaporado, obtendo um produto oleoso em rendimento quantitativo.

Exemplo 4: Obtenção do Líquido Iônico [Bmim]⁺BF₄⁻ (composto 5).

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

Exemplo 5: Obtenção da N-Benzoilglicina.

A glicina (**8**) (133mmol, 10g) foi dissolvida em uma solução de NaOH 10% (100mL) e, em seguida, cloreto de benzoila (186mmol, 21,6mL) foi adicionado lentamente com uma agitação vigorosa. Depois foi adicionado gelo
25 picado HCl concentrado, gota-a-gota, até a mistura ser acidificada (pH 2-3). A mistura foi filtrada em funil de Büchner e o precipitado lavado com água gelada. O produto foi obtido como um sólido branco em 95% de rendimento. PF: 197°C.

Exemplo 6: Obtenção da N-Acetilglicina.

30 A uma solução de glicina (**8**) (66mmol, 5g) em água (40mL), anidrido acético foi adicionado (140mmol, 26mL). A mistura foi agitada vigorosamente durante 1h sob refluxo brando. Ao final desse tempo, a reação foi resfriada à temperatura ambiente e deixada durante a noite em geladeira. No dia seguinte,

o produto foi filtrado em funil de Büchner e lavado com água gelada. A água mãe foi concentrada e filtrada novamente, obtendo (9b) como um sólido branco em 77% de rendimento. PF: 205°C.

Processo geral para obtenção das oxazolonas (10-19).

5 Uma mistura de *N*-benzoilglicina (9a) (20mmol), o respectivo aldeído (18mmol) e anidrido acético (58mmol) foram aquecidos sob agitação até a dissolução dos reagentes e, logo após, foi adicionado acetato de sódio anidro (8mmol). Ao adicionar o acetato de sódio, formou-se uma mistura pastosa à qual foi necessária nova adição de anidrido acético (58mmol). A mistura
10 permaneceu a 60°C por 3h, depois foi resfriada a temperatura ambiente e água foi adicionada. O precipitado formado foi filtrado em funil de Büchner e lavado com muita água gelada. Em seguida o produto foi recristalizado com o solvente adequado.

Exemplo 7: 2-Fenil-4-(Z)-benzilideno-4,5-diidro-1,3-oxazol-5-ona (10).

15 PF: 169-170°C. Aspecto: sólido amarelo.

Exemplo 8: 2-Fenil-4-(Z)-4-fluorobenzilideno-4,5-diidro-1,3-oxazol-5-ona (11)

PF: 186°C. Aspecto: sólido amarelo.

Exemplo 9: 2-Fenil-4-(Z)-4-clorobenzilideno-4,5-diidro-1,3-oxazol-5-ona (12)

PF: 199-200°C. Aspecto: sólido amarelo.

20 Exemplo 10: 2-Fenil-4-(Z)-4-bromobenzilideno-4,5-diidro-1,3-oxazol-5-ona (13)

PF: 207-208°C. Aspecto: sólido amarelo.

Exemplo 11: 2-Fenil-4-(Z)-4-trifluorometilbenzilideno-4,5-diidro-1,3-oxazol-5-ona (14)

PF: 174-175°C. Aspecto: sólido amarelo.

25 Exemplo 12: 2-Fenil-4-(Z)-4-metoxibenzilideno-4,5-diidro-1,3-oxazol-5-ona (15)

PF: 162°C. Aspecto: sólido amarelo.

Exemplo 13: 2-Fenil-4-(Z)-(2-tiofenil)metilideno-4,5-diidro-1,3-oxazol-5-ona (16)

PF: 176-178°C. Aspecto: sólido amarelo.

Exemplo 14: 2-Fenil-4-(Z)-piperonilmetilideno-4,5-diidro-1,3-oxazol-5-ona (17)

30 PF: 200°C. Aspecto: sólido amarelo.

Exemplo 15: 2-Fenil-4-(Z)-(3-piridil)metilideno-4,5-diidro-1,3-oxazol-5-ona (18)

PF: 149-151°C. Aspecto: sólido bege.

Exemplo 16: 2-Fenil-4-(Z)-3,4-dimetoxibenzilideno-4,5-diidro-1,3-oxazol-5-ona (19)

PF: 155-156°C. Aspecto: sólido amarelo.

Processo geral para obtenção das oxazolonas

5 Uma mistura de *N*-acetilglicina (9b) (20mmol, 2,34g), acetato de sódio anidro (15mmol, 1,2g), anidrido acético (64mmol, 6mL) e o respectivo aldeído (30mmol) foi ligeiramente aquecida até a completa solubilização, quando então foi agitada sob refluxo brando por 2h. A solução foi resfriada até atingir a temperatura ambiente e posta na geladeira. Após uma noite, o produto foi
10 filtrado em funil de Büchner, lavado com muita água gelada e em seguida recristalizado com o solvente adequado.

Exemplo 17: 2-Metil-4-(Z)-benzilideno-4,5-diidro-1,3-oxazol-5-ona (20)

PF: 158°C. Aspecto: sólido amarelo.

Exemplo 18: 2-Metil-4-(Z)-4-clorobenzilideno-4,5-diidro-1,3-oxazol-5-ona (21)

15 PF: 149°C. Aspecto: sólido amarelo.

Exemplo 19: 2-Metil-4-(Z)-4-bromobenzilideno-4,5-diidro-1,3-oxazol-5-ona (22)

PF: 135°C. Aspecto: sólido amarelo.

Exemplo 20: 2-Metil-4-(Z)-4-trifluorometilbenzilideno-4,5-diidro-1,3-oxazol-5-ona (23)

20 PF: 119°C. Aspecto: sólido amarelo.

Exemplo 21: 2-Metil-4-(Z)-piperonilmetilideno-4,5-diidro-1,3-oxazol-5-ona (24)

PF: 191°C. Aspecto: sólido amarelo.

Exemplo 22: 2-Metil-4-(Z)-4-cianobenzilideno-4,5-diidro-1,3-oxazol-5-ona (25)

PF: 191-192°C. Aspecto: sólido amarelo.

25 Exemplo 23: 2-Metil-4-(Z)-2-naftilmetilideno-4,5-diidro-1,3-oxazol-5-ona (26)

PF: 225°C. Aspecto: sólido amarelo.

Exemplo 24: 2-Metil-4-(Z)-4-metilbenzilideno-4,5-diidro-1,3-oxazol-5-ona (27)

PF: 136°C. Aspecto: sólido laranja.

Processo geral de obtenção dos compostos

30 A uma solução da di-amina (1mmol, 0,2g) em acetato de etila (25mL), foi adicionada a respectiva oxazolona (10-27) (3mmol). Em geral, a mistura se torna homogênea com aquecimento. A reação foi mantida sob refluxo por 24h.

Após ter sido resfriada a temperatura ambiente, houve formação de precipitado, o qual foi filtrado e lavado com acetato de etila.

Exemplo 25: 1,4:3,6-Dianidro-2,5-di[2-benzamido-(Z)-cinamamido]-2,5-dideoxi-L-iditol (28)

5 PF: 169°C. $\alpha_D^{20} = + 72$ (c, 0,1) DMSO. Aspecto: sólido bege. Rendimento: 40%. HRMS calculada para $C_{38}H_{34}N_4O_6$, 642,2478; encontrada $[M+1]^+$ 643,3465.

Exemplo 26: 1,4:3,6-Dianidro-2,5-di[2-benzamido-(Z)-4-fluorocinamamido]-2,5-dideoxi-L-iditol (29)

10 PF: 152-153°C. $\alpha_D^{20} = + 65$ (c, 0,1) DMSO. Aspecto: sólido bege. Rendimento: 37%. HRMS calculada para $C_{38}H_{32}F_2N_4O_6$, 678,229; encontrada $[M+1]^+$ 679,3388.

Exemplo 27: 1,4:3,6-Dianidro-2,5-di[2-benzamido-(Z)-4-clorocinamamido]-2,5-dideoxi-L-iditol (30)

15 PF: 166-169°C. $\alpha_D^{20} = + 89$ (c, 0,1) DMSO. Aspecto: sólido bege. Rendimento: 35%. HRMS calculada para $C_{38}H_{32}Cl_2N_4O_6$, 710,1699; encontrada $[M+1]^+$ 711,2859.

Exemplo 28: 1,4:3,6-Dianidro-2,5-di[2-benzamido-(Z)-4-bromocinamamido]-2,5-dideoxi-L-iditol (31)

20 PF: 172-174°C. $\alpha_D^{20} = + 80$ (c, 0,1) DMSO. Aspecto: sólido bege. Rendimento: 40%. HRMS calculada para $C_{38}H_{32}Br_2N_4O_6$, 798,0689; encontrada $[M+1]^+$ 801,1971.

Exemplo 29: 1,4:3,6-Dianidro-2,5-di[2-benzamido-(Z)-4-trifluorometilcinamamido]-2,5-dideoxi-L-iditol (32)

25 RMN 1H δ ppm (DMSO, 300 MHz): 9,99 (s, 2H); 8,54 (d, 2H. $J = 6,6$ Hz); 7,97 (d, 4H, $J = 7,2$ Hz); 7,77-7,60 (m, 8H); 7,63-7,56 (m, 2H); 7,50-7,47 (m, 4H); 7,09 (s, 2H); 4,62 (s, 2H); 4,29-4,21 (m, 2H); 4,02-3,96 (m, 2H); 3,75 (dd, 2H, $J = 9,3$ Hz, $J = 3,0$ Hz).

30 RMN ^{13}C δ ppm (DMSO, 75,4 MHz): 165,7 (-C=O); 165,0 (-C=O); 138,5 (-C); 133,3 (-C); 132,3 (-C); 131,6 (-CH); 129,6 (-CH); 128,2 (-CH); 127,7 (-CH); 125,7 (-CH); 125,1 (-CH); 112,6 (-C); 110,2 (-C); 86,4 (-CH); 71,1 (-CH₂); 56,5 (-C). IV ν cm^{-1} (KBr): 3274, 3065, 1646, 1580, 1519, 1477, 1324, 1281, 1168, 1126, 1069, 830, 708.

PF: 164-166°C. $\alpha_D^{20} = + 53$ (c, 0,1) DMSO. Aspecto: sólido bege. Rendimiento: 40%. HRMS calculada para $C_{40}H_{32}F_6N_4O_6$, 778,2226; encontrada $[M+1]^+$ 779,3478.

Exemplo 30: 1,4:3,6-Dianidro-2,5-di[2-benzamido-(Z)-4-metoxicinamamido]-2,5-dideoxi-L-iditol (33)

RMN 1H δ ppm (DMSO, 300 MHz): 9,80 (s, 2H); 8,27 (d, 2H, $J = 7,2$ Hz); 7,99 (d, 4H, $J = 6,9$ Hz); 7,65-7,40(m, 10H); 7,12 (s, 2H); 6,91 (d, 4H, $J = 8,7$ Hz); 4,57 (s, 2H); 4,30-4,20 (m, 2H); 3,96 (dd, 2H, $J = 9,3/5,7$ Hz); 3,73 (s, 6H, -CH₃); 3,80-3,60 (m, 2H).

RMN ^{13}C δ ppm (DMSO, 75,4 MHz): 165,9 (-C); 165,7 (-C); 159,7 (-C); 133,8 (-C); 131,7 (-CH); 131,2 (-CH); 128,9 (-CH); 128,4 (-CH); 128,0 (-C); 127,9 (-CH); 126,7 (-C); 114,1 (-CH); 86,8 (-CH); 71,4 (-CH₂); 56,7 (-CH); 55,3 (-CH₃).

IV ν cm⁻¹(KBr): 3274, 3061, 2962, 2838, 1650, 1604, 1578, 1512, 1477, 1300, 1255, 1177,; 1080, 1028, 829, 707.

PF: 167 -168°C. $\alpha_D^{20} = + 86$ (c, 0,1) DMSO. Aspecto: sólido bege. Rendimiento: 46%. HRMS calculada para $C_{40}H_{38}N_4O_8$, 702,269; encontrada $[M+1]^+$ 703,3768.

Exemplo 31: 1,4:3,6-Dianidro-2,5-di[2-benzamido-(Z)-2-tiofenilcinamamido]-2,5-dideoxi-L-iditol (34)

PF: 183-185°C. Aspecto: sólido bege. Rendimiento: 40%.

Exemplo 32: 1,4:3,6-Dianidro-2,5-di[2-benzamido-(Z)-3,4-metilenodioxicinamamido]-2,5-dideoxi-L-iditol (35)

PF: 246-247°C. $\alpha_D^{20} = + 77$ (c, 0,1) DMSO. Aspecto: sólido bege. Rendimiento: 70%. HRMS calculada para $C_{40}H_{34}N_4O_{10}$, 730,2275; encontrada $[M+1]^+$ 731,3270.

Exemplo 33: 1,4:3,6-Dianidro-2,5-di[2-benzamido-(Z)-3-piridilcinamamido]-2,5-dideoxi-L-iditol (36)

PF: 167°C. Aspecto: sólido bege. Rendimiento: 45%.

Exemplo 34: 1,4:3,6-Dianidro-2,5-di[2-benzamido-(Z)-3,4-dimetoxicinamamido]-2,5-dideoxi-L-iditol (37)

PF: 159-160°C. $\alpha_D^{20} = + 72$ (c, 0,1) DMSO. Aspecto: sólido bege. Rendimiento: 55%. HRMS calculada para $C_{42}H_{42}N_4O_{10}$, 762,2901; encontrada $[M+1]^+$ 763,4067.

Exemplo 35: 1,4:3,6-Dianidro-2,5-di[2-acetamido-(Z)-cinamamido]-2,5-dideoxi-L-iditol (38)

RMN ^1H δ ppm (DMSO, 300 MHz): 9,41 (s, 2H); 8,25 (d, 2H, $J = 6,9$ Hz); 7,53 (d, 4H, $J = 7,2$ Hz); 7,42-7,20 (m, 6H); 6,88 (s, 2H); 4,57 (s, 2H); 4,23-4,16 (m, 2H); 3,96 (dd, 2H, $J = 9,3$ Hz, $J = 5,4$ Hz); 3,71 (dd, 2H, $J = 9,3$ Hz, $J = 3,6$ Hz); 1,98 (s, 6H).

RMN ^{13}C δ ppm (DMSO, 75,4 MHz): 169,2 (-C); 165,3 (-C); 134,1 (-C); 130,1 (-C); 129,2 (-CH); 128,4 (-CH); 128,3 (-CH); 126,5 (-CH); 86,5 (-CH); 71,2 (-CH₂); 56,4 (-CH); 22,7 (-CH₃).

IV ν cm^{-1} (KBr): 3480, 3258, 3056, 2975, 2870, 1651, 1537, 1489, 1446, 1373, 1287, 1208, 1088, 1042, 932.

PF: 191-192°C. $\alpha_{\text{D}}^{20} = + 71$ (c, 0,1) DMSO. Aspecto: sólido bege. Rendimento: 95%. HRMS calculada para C₂₈H₃₁N₄O₆, 519,2244; encontrada 519,2244.

Exemplo 36: 1,4:3,6-Dianidro-2,5-di[2-acetamido-(Z)-4-clorocinamamido]-2,5-dideoxi-L-iditol (39)

PF: 168-170°C. $\alpha_{\text{D}}^{20} = + 85$ (c, 0,1) DMSO. Aspecto: sólido bege. Rendimento: 96%. HRMS calculada para C₂₈H₂₈N₄O₆NaCl₂, 609,1284; encontrada 609,1282.

Exemplo 37: 1,4:3,6-Dianidro-2,5-di[2-acetamido-(Z)-4-bromocinamamido]-2,5-dideoxi-L-iditol (40)

PF: 175°C. $\alpha_{\text{D}}^{20} = + 81$ (c, 0,1) DMSO. Aspecto: sólido bege. Rendimento: 58%. HRMS calculada para C₂₈H₂₈N₄O₆NaBr₂, 697,0273; encontrada 697,0306.

Exemplo 38: 1,4:3,6-Dianidro-2,5-di[2-acetamido-(Z)-4-trifluorometilcinamamido]-2,5-dideoxi-L-iditol (41)

PF: 209-210°C. $\alpha_{\text{D}}^{20} = + 51$ (c, 0,1) DMSO. Aspecto: sólido bege. Rendimento: 50%. HRMS calculada para C₃₀H₂₈N₄O₆NaF₆, 677,1811; encontrada 677,1792.

Exemplo 39: 1,4:3,6-Dianidro-2,5-di[2-acetamido-(Z)-3,4-metilenodioxicinamamido]-2,5-dideoxi-L-iditol (42)

PF: 170-173°C. $\alpha_{\text{D}}^{20} = + 37$ (c, 0,1) DMSO. Aspecto: sólido bege. Rendimento: 70%. HRMS calculada para C₃₀H₃₀N₄O₁₀, 606,1962; encontrada [M+1]⁺ 607,2885.

Exemplo 40: 1,4:3,6-Dianidro-2,5-di[2-acetamido-(Z)-4-cianocinamamido]-2,5-dideoxi-L-iditol (43)

PF: 204-206°C. $\alpha_D^{20} = + 106$ (c, 0,1) DMSO. Aspecto: sólido bege. Rendimento: 56%. HRMS calculada para $C_{30}H_{28}N_6O_6Na$, 591,1968; encontrada 591,1971.

Exemplo 41: 1,4:3,6-Dianidro-2,5-dif[2-acetamido-(Z)-2-naftalenacrilamido]-2,5-dideoxi-L-iditol (44)

5 RMN 1H δ ppm (DMSO, 300 MHz): 9,38 (s, 2H); 8,03 (s, 2H); 7,92-7,84 (m, 8H); 7,77 (d, 2H, $J = 8,1$ Hz); 7,55-7,49 (m, 4H); 7,32 (s, 2H); 4,44 (s, 2H); 3,80 (dd, 2H, $J = 9,0$ Hz, $J = 4,8$ Hz); 3,60 (dd, 2H, $J = 9,0$ Hz, $J = 4,8$ Hz); 3,42 (dd, 2H, $J = 4,8$ Hz, $J = 2,7$ Hz); 2,01 (s, 6H).

10 RMN ^{13}C δ ppm (DMSO, 75,4 MHz): 167,4(-C); 167,2 (-C); 132,6 (-C); 132,5 (-C); 132,4 (-C); 131,2 (-C); 129,0 (-CH); 128,0 (-CH); 127,3 (-CH); 127,2 (-CH); 126,4 (-CH); 126,1 (-CH); 86,8 (-CH); 72,5 (-CH₂); 56,6 (-C); 22,8 (-CH₃).

IV ν cm^{-1} (KBr): 3253, 3054, 2982, 2890, 1650, 2153, 1660, 1634, 1525, 1380, 1322, 1275, 1149, 1050, 1015, 811, 746, 716.

15 PF: 191-193°C. $\alpha_D^{20} = + 10$ (c, 0,1) DMSO. Aspecto: sólido bege. Rendimento: 86%.

Exemplo 42: 1,4:3,6-Dianidro-2,5-dif[2-acetamido-(Z)-4-metilcinamamido]-2,5-dideoxi-L-iditol (45)

PF: 174-175°C. $\alpha_D^{20} = + 83$ (c, 0,1) DMSO. Aspecto: sólido bege. Rendimento: 52%. HRMS calculada para $C_{30}H_{34}N_4O_6Na$, 569,2376; encontrada 569,2361.

20 Exemplo 43: Obtenção do 1,4:3,6-dianidro-mono(4-metilbenzenosulfonato)-D-manitol (46)

25 A uma solução do isomanideo (1g, 6mmol) e piridina (1,10mL) em CH_2Cl_2 (10mL) foi adicionado cloreto de *p*-toluenosulfonila (1,49g, 7mmol) a 0°C. A reação foi agitada a temperatura ambiente por 12h e após foi diluída com CH_2Cl_2 (20mL). A solução foi lavada com água, HCl 1N e solução saturada de cloreto de sódio. Após evaporação do solvente, o sólido foi recristalizado com uma mistura de metanol/isopropanol fornecendo o produto como um sólido branco em 40% de rendimento. PF: 103-104°C.

30 Exemplo 44: Obtenção do 1,4:3,6-dianidro-5-O-(benzil)-2-(4-metilbenzenosulfonato)-D-manitol (47)

A uma solução de (46) (10g, 33mmol), solução aquosa de KOH 50% e TBAB (0,322g, 1mmol) em CH_2Cl_2 (80mL), foi adicionado cloreto de benzila (6,54g, 38mmol). Após agitação por 12h, a mistura foi diluída com água (10mL)

e a fase orgânica foi separada. A fase aquosa foi extraída com CH₂Cl₂ e seca com Na₂SO₄. O produto foi purificado por coluna cromatográfica em sílica gel tendo como eluente uma mistura de hexano e acetato de etila, fornecendo o produto como um óleo incolor em 75% de rendimento.

5 Exemplo 45: Obtenção do 1,4:3,6-dianidro-2-azido-2-deoxi-5-O-(benzil)-D-Glucitol (48)

Uma mistura de (47) (1,86g, 4mmol), [bmim]⁺[BF₄]⁻ previamente seco sob vácuo a 90°C (4,8mL, 23mmol) e NaN₃ (0,93g, 14mmol) foi aquecida a 120°C por 12h. Adicionou-se água e a fase aquosa foi extraída com éter etílico. O
10 produto foi purificado por coluna cromatográfica flash (hexano/acetato de etila), obtendo um óleo amarelo claro em 73% de rendimento.

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

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

15 Exemplo 46: Obtenção do 1,4:3,6-dianidro-2-amino-2-deoxi-5-O-(benzil)-D-Glucitol (49)

A uma solução de (48) (0,870g, 3mmol) em etanol (25mL) foi adicionado Pd/C 5% (0,3mmol) e a mistura foi hidrogenada sob 40psi por 5h. Após esse tempo a suspensão foi filtrada em XAD-4 e lavada com etanol. Evaporado o
solvente obteve-se um óleo incolor em rendimento quantitativo.

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

Processo geral para a obtenção dos compostos (50-58)

Uma solução da amina O-benzilada (49) (0,2g, 0,85mmol) e a respectiva oxazolona (10-18) (0,85mmol) em acetato de etila (20mL) foi refluxada por 24-
25 48h. A reação foi monitorada por c.c.f. e após seu término foi deixada resfriar a temperatura ambiente. O sólido formado foi filtrado e lavado com acetato de etila. Alguns produtos necessitaram de recristalização com o solvente apropriado.

Exemplo 47: 1,4:3,6-dianidro-2-[2-benzamido-(Z)-cinamamido]-2-deoxi-5-O-(benzil)-D-Glucitol (50)

30 PF: 168-169°C. $\alpha_D^{20} = +70$ (c, 0.1) DMSO. Aspecto: sólido branco. Rendimento: 50%. HRMS calculada para C₂₉H₂₈N₂O₅Na, 507,1896; encontrada, 507,1878.

Exemplo 48: 1,4:3,6-dianidro-2-[2-benzamido-(Z)-4-fluorocinamamido]-2-deoxi-5-O-(benzil)-D-Glucitol (51)

PF: 202-203°C. $\alpha_D^{20} = +55$ (c, 0.1) DMSO. Aspecto: sólido branco.
Rendimento: 55%. HRMS calculada para $C_{29}H_{27}FN_2O_5Na$, 525,1802;
5 encontrada, 525,1784.

Exemplo 49: 1,4:3,6-dianidro-2-[2-benzamido-(Z)-4-clorocinamamido]-2-deoxi-5-O-(benzil)-D-Glucitol (52)

PF: 203-204°C. $\alpha_D^{20} = +65$ (c, 0.1) DMSO. Aspecto: sólido branco.
Rendimento: 60%. HRMS calculada para $C_{29}H_{27}ClN_2O_5Na$, 541,1506;
10 encontrada, 541,1492.

Exemplo 50: 1,4:3,6-dianidro-2-[2-benzamido-(Z)-4-bromocinamamido]-2-deoxi-5-O-(benzil)-D-Glucitol (53)

PF: 194-195°C. $\alpha_D^{20} = +62$ (c, 0.1) DMSO. Aspecto: sólido branco.
Rendimento: 55%. HRMS calculada para $C_{29}H_{27}BrN_2O_5Na$, 585,1001;
15 encontrada, 585,1005.

Exemplo 51: 1,4:3,6-dianidro-2-[2-benzamido-(Z)-4-trifluorometilcinamamido]-2-deoxi-5-O-(benzil)-D-Glucitol (54)

PF: 183-184°C. $\alpha_D^{20} = +23$ (c, 0.1) DMSO. Aspecto: sólido branco.
Rendimento: 50%. HRMS calculada para $C_{30}H_{27}F_3N_2O_5Na$, 575,1770;
20 encontrada, 575,1771.

Exemplo 52: 1,4:3,6-dianidro-2-[2-benzamido-(Z)-4-metoxicinamamido]-2-deoxi-5-O-(benzil)-D-Glucitol (55)

PF: 167-168°C. $\alpha_D^{20} = +75$ (c, 0.1) DMSO. Aspecto: sólido amarelo.
Rendimento: 57%. HRMS calculada para $C_{30}H_{30}N_2O_6Na$, 537,2002;
25 encontrada, 537,1998.

Exemplo 53: 1,4:3,6-dianidro-2-[2-benzamido-(Z)-2-tiofenilacrilamido]-2-deoxi-5-O-(benzil)-D-Glucitol (56)

PF: 157-158°C. $\alpha_D^{20} = +60$ (c, 0.1) DMSO. Aspecto: sólido branco.
Rendimento: 60%. HRMS calculada para $C_{27}H_{26}N_2O_5SNa$, 513,1460;
30 encontrada, 513,1437.

Exemplo 54: 1,4:3,6-dianidro-2-[2-benzamido-(Z)-3,4-metilenodioxicinamamido]-2-deoxi-5-O-(benzil)-D-Glucitol (57)

PF: 140-141°C. $\alpha_D^{20} = +53$ (c, 0.1) DMSO. Aspecto: sólido branco. Rendimento: 60%. HRMS calculada para $C_{30}H_{28}N_2O_7Na$, 551,1794; encontrada, 551,1785.

Exemplo 55: 1,4:3,6-dianidro-2-[2-benzamido-(Z)-3-piridilacrilamido]-2-deoxi-5-O-(benzil)-D-Glucitol (58)

PF: 161-162°C. $\alpha_D^{20} =$ (c, 0.1) DMSO. Aspecto: sólido branco. Rendimento: 62%.

Medida de atividade in vitro das drogas anti-HCV em replicons de HCV

Na etapa de medida da atividade anti-HCV das drogas descritas acima, foi utilizado um replicon subgenômico do RNA do HCV composto das regiões não traduzidas 5' e 3' do genoma viral (5'UTR e 3'UTR) e os genes não-estruturais NS3-NS4-NS5 precedido por uma seqüência de ligação a ribossomos eucarióticos (IRES) vinda do vírus da encefalomiocardite murina (EMC-IRES). Este replicon ainda possui outro cistron que é composto pelo gene da luciferase de vaga-lume fusionada a uma seqüência de ubiquitilação, e o gene da resistência ao antibiótico G418. A tradução deste segundo cistron esta sob controle do IRES do próprio HCV localizado no final da região 5'UTR. Este replicon foi nomeado de I389/NS3-3'-LucUbiNeo ET, e possui mutações adaptativas no gene da NS5B que conferem uma maior capacidade replicativa a esses clones em cultura de células estabelecidas de hepatócitos (Lohmann, V., Hoffmann, S., Herian, U., Penin, F., and Bartenschlager, R. (2003). Viral and cellular determinants of hepatitis C virus RNA replication in cell culture. *J. Virol.* 77, 1-13). Esse sistema é absolutamente seguro para manipulação por não ser capaz de gerar partículas virais.

As células utilizadas neste ensaio são derivadas de uma linhagem de hepatocarcinoma humano Huh7 (Nakabayashi, H.; Taketa, K.; Miyano, K.; Yamane, T.; Sato, J. *Cancer Res.* 1982, 42, 3858-3863). As células Huh7 são competentes em manter o replicon por mais de 50 repliques em meio seletivo DEMEM 10% soro fetal bovino contendo 1 mg/mL de G418. Para introduzir o replicon nas células Huh7 é necessária a transcrição do RNA do replicon in vitro. Esta reação é feita utilizando o plasmídeo linearizado I389/NS3-3'-LucUbiNeo ET. O plasmídeo foi linearizado com a enzima de restrição *Spe I* e purificado em coluna (PCR purification Kit, Qiagen). Os RNAs foram

sintetizados em tampão contendo 40 mM Tris-HCl (pH 7,9), 10 mM NaCl, 12 mM MgCl₂, 2 mM espermidina, 10 mM DTT, 3 mM de cada nucleosídeo trifosfatado (Invitrogen), 0,025 U de pirofosfato, 100U de RNasin, 100U de T7 RNA polimerase e 2 µg de DNA linearizado, durante 90 minutos a 37 °C. O produto final, o RNA do replicon, foi finalmente purificado com extração com o reagente Trizol LS (Invitrogen, USA) e precipitado com a adição.

Aproximadamente 4 µg de RNA foram eletroporados em 5. 10⁶ células resuspensas em meio citomix (KCl 120mM, K₂PO₄ 10mM, MgCl₂ 5mM, HEPES 25mM, CaCl₂ 0.15mM, EGTA 2mM, 1,9 mM ATP, 4,7mM glutationa) contendo 1,25% de DMSO. As células no meio eram colocadas em uma cubeta de eletroporação com intervalo de di-polo de 0,4 cm, as condições de eletrotransferência foram 270 v e 960µF. Após o pulso elétrico, as células foram transferidas para 8mL de meio DMEM (10% soro fetal bovino) contendo 1,25% de DMSO. As células foram semeadas em uma placa de 10cm de diâmetro e cultivadas por 24horas. Após esta incubação o meio foi substituído por DMEM (10% soro fetal bovino), e as células contendo o replicon foram selecionadas com adição de 0,5 mg/mL de G418 será adicionado ao meio de cultura. As colônias foram finalmente visualizadas após 7 dias em cultura. As colônias foram retiradas do meio seletivo e semeadas numa garrafa de cultura de 25cm², e mantidas em repiques semanais em meio seletivo.

Os ensaios antivirais foram realizados em meio Eagle's modificado por Dulbecco (Gibco-Invitrogen), na ausência de G418. As células serão semeadas em placas de 96-poços (3,000 células por poço) e os compostos a serem testados em diferentes concentrações (100µM, 20 µM, 4 µM, 1 µM, 0,25 µM, serão adicionados imediatamente após as células. As células foram cultivadas por 4 dias e após esta incubação, 20µL do corante vital Risazurina (CellTiter-Blue[®] Cell Viability Assay. PROMEGA, USA) foi adicionado e as mesmas foram incubadas por 18 horas. A viabilidade foi medida comparando-se as unidades de fluorescência lidas nos poços contendo drogas e o do poço controle (sem droga). Após a medida da viabilidade, as células foram rompidas com 20 µL de um tampão de lise (25mM Tris-fosfato (pH 7,8), 2mM DTT, 2mM 1,2-diaminociclohexano-N-N'-N'-ácido tetraacético, 10% glicerol, 1% Triton X100) e ensaiadas para a atividade de Luciferase, adicionando-se 100µL da

solução de revelação (Luciferase Assay System, PROMEGA, USA). A emissão de luz foi medida em um luminômetro (Turner-Designs – TD-20/20). Os EC_{50%} dos diferentes compostos frente aos replicons recombinantes foram calculados utilizando os dados de Luciferase dos poços controle (100% de atividade). O interferon alfa (IFN- α) foi utilizado 300UI/ml até 0.03 UI/ml como controle positivo nos ensaios de inibição.

Os resultados das análises de IC_{50%} para as células e o EC_{50%} para o replicon HCV com os diferentes compostos sintetizados estão mostrados na Tabela 3.

10 Tabela 3 - Tabela mostrando os resultados de IC_{50%} e EC_{50%} em μ M para o replicon I389/NS3-3'-LucUbiNeo ET em células Huh7.

Número do composto	IC _{50%} ¹ em células Huh7	EC _{50%} ² no replicon I389/NS3-3'-LucUbiNeo ET	Número do composto	IC _{50%} em células Huh7	EC _{50%} no replicon I389/NS3-3'-LucUbiNeo ET	Número do composto	IC _{50%} em células Huh7	EC _{50%} no replicon I389/NS3-3'-LucUbiNeo ET
28	>20	>20	37	NS	NS	50	>100	75
29	NS	NS	38	>100	>100	51	NS	NS
30	>100	>100	39	NS	NS	52	NS	NS
31	NS	NS	40	NS	NS	53	NS	NS
32	NS	NS	41	NS	NS	54	NS	NS
33	NS ⁴	NS	42	>100	>100	55	NS	NS
34	ND ³	ND	43	ND	ND	56	>100	35
35	>100	95	44	ND	ND	57	>100	>100
36	ND	ND	45	ND	ND	58	ND	ND

1- Concentração que inibe 50% do crescimento das células huh7 no ensaio de Risazurina.

2- Concentração que inibe 50% do sinal de luciferase do replicon I389/NS3-3'-LucUbiNeo ET nas células Huh7.

15 3- Composto não testado.

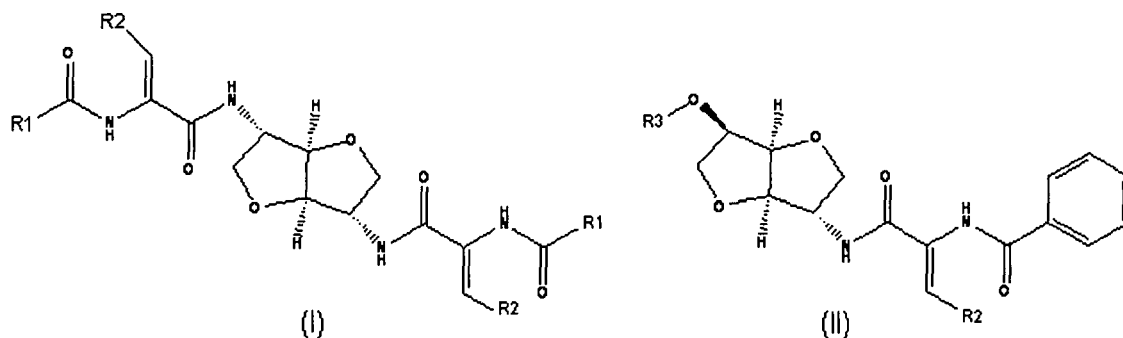
4- Composto com baixa solubilidade em meio DMEM, não podendo ser testado para atividade anti-HCV.

20 Como podemos evidenciar que o composto (56) foi o que apresentou uma atividade anti-HCV mais robusta com EC_{50%} na faixa de 35 μ M. O composto (35) apresentou uma atividade anti-HCV menor na faixa de 95 μ M. Todas as drogas não apresentaram toxidez mensuráveis pela técnica da Risazurina com as células Huh7 (IC_{50%} > 100 μ M).

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

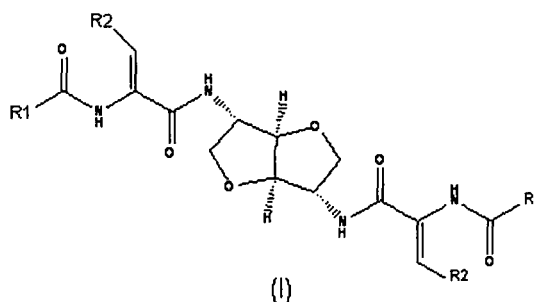
REIVINDICAÇÕES

1-Compostos pseudopeptídicos inibidores da serino protease **caracterizados por** compreenderem as fórmulas gerais (I) e (II),



onde:

- 5 R1 Benzila, carboxibenzila, carboxi-*t*-butila, hidrogênio, alquila ou arila;
 R2 fenila, *p*-fluorfenila, *p*-clorofenila, *p*-bromofenila, *p*-trifluormetilfenila, *p*-metoxifenila, 2-tienil, 3,4-metilenodioxifenil, 3-piridil, 3,4-dimetoxifenil, *p*-cianofenil, 2-naftil, 4-metilfenil; e,
 R3 benzila, carboxibenzila, carboxi-*t*-butila, hidrogênio, aquila ou arila.
- 10 2-Compostos de acordo com a reivindicação 1, **caracterizados por** R1 pode ser uma fenila ou metila;
 R2 fenila *p*-substituídos ou heterocíclis; e,
 R3 benzila (-Bn), carboxibenzila (-Cbz) ou carboxi-*t*-butila (-Boc).
- 15 3-Compostos de acordo com a reivindicação 1 **caracterizado por** R3 ser preferencialmente benzila.
- 4-Composição inibidora da serino protease e potencialmente inibidora da polimeraser **caracterizadas por** ser consistida do composto de formula geral (I)



, onde R1 pode ser uma fenila ou metila;

R2 fenila *p*-substituídos ou heterocíclis; e,

R3 benzila (-Bn), carboxibenzila (-Cbz) ou carboxi-*t*-butila (-Boc);

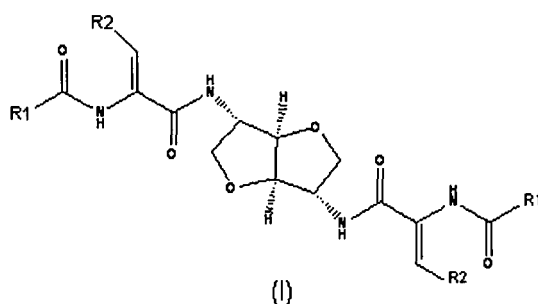
5 e/ou seus sais farmacologicamente aceitáveis além de adjuvantes farmacologicamente aceitáveis.

5-Composição de acordo com a reivindicação 4 **caracterizada por** compreender entre 10µM a 150µM de um composto de fórmula geral (I).

6-Composição de acordo com a reivindicação 5 **caracterizadas por** apresentarem uma concentração preferencial de 10µM a 100 µM de um composto de fórmula geral (I).

7-Composição farmacêutica **caracterizada por** compreender o composto de fórmula geral (I)

20



, e/ou seus sais farmacologicamente aceitáveis, útil na produção de um medicamento voltado para o tratamento de doenças causadas por vírus da família *flaviviridae*.

8-Composição de acordo com a reivindicação 7 **caracterizada por** compreender entre 10µM a 150µM de um composto de fórmula geral (I).

9-Composição de acordo com a reivindicação 8 **caracterizada por** apresentarem uma concentração preferencial de 10µM a 100 µM de um composto de fórmula geral (I).

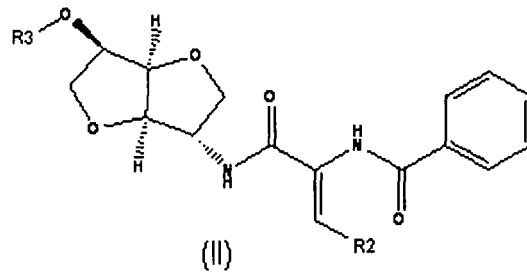
10- Composição de acordo com a reivindicação 7, **caracterizada por** preferencialmente ser empregada no preparo de um medicamento para o tratamento do vírus da hepatite C.

11- Composição de acordo com a reivindicação 7, **caracterizada por** preferencialmente ser empregada no preparo de um medicamento para o tratamento do dengue.

40

12- Composição inibidora da serino protease e potencialmente inibidora da polimeraser **caracterizadas** por ser consistida do composto de formula geral (II)

5



15

20

, onde R1 pode ser uma fenila ou metila;

R2 fenila *p*-substituídos ou heterocícos; e,

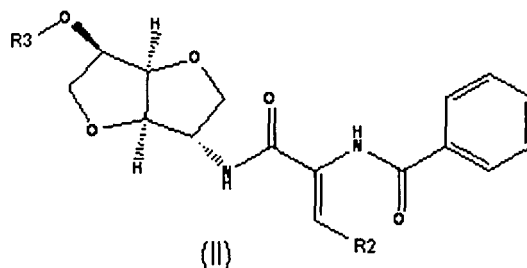
R3 benzila (-Bn), carboxibenzila (-Cbz) ou carboxi-*t*-butila (-Boc). e/ou seus sais farmaceuticamente aceitáveis e adjuvantes farmaceuticamente aceitáveis.

25 13-Composição acordo com a reivindicação 12 **caracterizada por** compreender entre 10 μ M a 150 μ M de um composto de fórmula geral (II).

14-Composição de acordo com a reivindicação 13 **caracterizadas por** apresentarem uma concentração preferencial de 10 μ M a 100 μ M de um composto de fórmula geral (II).

30 15-Composição farmacêutica **caracterizada por** compreender o composto de fórmula geral (II)

40



, e/ou seus sais farmacologicamente aceitáveis, útil na produção de um medicamento voltado para o tratamento de doenças causadas por vírus da família *flaviviridae*.

5 16-Composição de acordo com a reivindicação 15 **caracterizada por** compreender entre 10 μ M a 150 μ M de um composto de fórmula geral (I).

17-Composição de acordo com a reivindicação 16 **caracterizada por** apresentarem uma concentração preferencial de 10 μ M a 100 μ M de um composto de fórmula geral (II).

10 18- Composição de acordo com a reivindicação 15, **caracterizada por** preferencialmente ser empregada no preparo de um medicamento para o tratamento do vírus da hepatite C.

19- Composição de acordo com a reivindicação 15, **caracterizada por** preferencialmente ser empregada no preparo de um medicamento para o tratamento do dengue.

**Compostos Pseudopeptídicos Inibidores da Serino Protease,
Composições Inibidoras da Serino Protease e Composições
Farmacêuticas Contendo Tais Compostos**

Resumo

5 A presente invenção relata compostos pseudopeptídeos inibidores da
serino protease que apresentam um cerne rígido derivado do D-manitol,
isomanídeo, capaz de conferir rigidez ao inibidor, e que por sua natureza
química também pode atuar em polimerases, como DNA ou RNA polimerases,
inibindo-as. Esses compostos inibidores de serino proteases e polimerases são
10 base de composições inibidoras da serino protease, bem como composições
farmacêuticas destinadas à elaboração de potenciais medicamentos antivirais,
contra vírus da família *Flaviviridae* sendo relacionada, principalmente, aos vírus
da Hepatite C (HCV) e o vírus da Dengue.