

(12) PEDIDO INTERNACIONAL PUBLICADO SOB O TRATADO DE COOPERAÇÃO EM MATÉRIA DE PATENTES (PCT)

(19) Organização Mundial da Propriedade Intelectual
Secretaria Internacional



(43) Data de Publicação Internacional
29 de Junho de 2017 (29.06.2017)

WIPO | PCT

(10) Número de Publicação Internacional
WO 2017/106950 A1

(51) Classificação Internacional de Patentes :
A61K 47/16 (2006.01) A61P 31/04 (2006.01)
A61K 31/702 (2006.01)

PROPRIEDADE INTELECTUAL; Rua Padre João Manuel, 755 - 3º Andar, São Paulo, 01411-001 São Paulo (BR).

(21) Número do Pedido Internacional :
PCT/BR2016/050338

(81) Estados Designados (sem indicação contrária, para todos os tipos de proteção nacional existentes) : AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DJ, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, JP, KE, KG, KH, KN, KP, KR, KW, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.

(22) Data do Depósito Internacional :
20 de Dezembro de 2016 (20.12.2016)

(25) Língua de Depósito Internacional : Português

(26) Língua de Publicação : Português

(30) Dados Relativos à Prioridade :
102015032162-7
21 de Dezembro de 2015 (21.12.2015) BR

(71) Requerente : UNIAO BRASILEIRA DE EDUCACAO E ASSISTENCIA [BR/BR]; Av. Ipiranga, 6681 - Prédio 96C - Sala 119 - Rio Grande do Sul, 90610-900 Porto Alegre (BR).

(84) Estados Designados (sem indicação contrária, para todos os tipos de proteção regional existentes) : ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), Eurasiático (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), Europeu (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

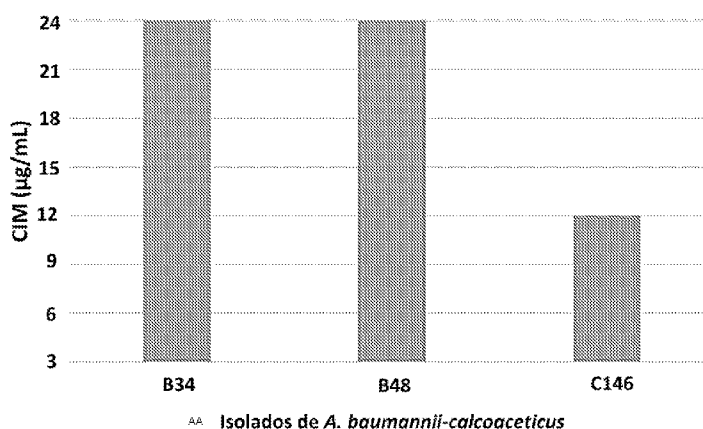
(72) Inventores : DIAS DE OLIVEIRA, Sílvia; Rua Tocantins, 1120 - casa 81 - Rio Grande do Sul, 91540-420 Porto Alegre (BR). ARIGONY SOUTO, André; Rua Eça de Queiroz, 901/402 - Rio Grande do Sul, 90670-020 Porto Alegre (BR).

(74) Mandatário : REMER VILLAÇA & NOGUEIRA ASSESSORIA E CONSULTORIA DE

Publicado:
— com relatório de pesquisa internacional (Art. 21(3))

(54) Title : PHARMACEUTICAL COMPOSITION, USE OF THE PHARMACEUTICAL COMPOSITION, METHOD FOR TREATING DISEASES ASSOCIATED WITH MICROBIAL INFECTIONS AND METHOD FOR PREPARING A COMPOUND

(54) Título : COMPOSIÇÃO FARMACÊUTICA, USO DA COMPOSIÇÃO FARMACÊUTICA, MÉTODO DE TRATAMENTO DE DOENÇAS ASSOCIADAS A INFECÇÕES MICROBIANAS E PROCESSO DE PREPARAÇÃO DE UM COMPOSTO



AA Isolates of A. calcoaceticus-baumannii

Figura 1

(57) Abstract : The present invention describes the antimicrobial action of azo-stilbenoids. The present invention pertains to the fields of microbiology and organic chemistry.

(57) Resumo : A presente invenção descreve ação antimicrobiana de azoestilbenoides. A presente invenção se situa nos campos da Microbiologia e Química Orgânica.

WO 2017/106950 A1

Relatório Descritivo de Patente de Invenção

COMPOSIÇÃO FARMACÊUTICA, USO DA COMPOSIÇÃO FARMACÊUTICA,
MÉTODO DE TRATAMENTO DE DOENÇAS ASSOCIADAS A INFECÇÕES
MICROBIANAS E PROCESSO DE PREPARAÇÃO DE UM COMPOSTO

Campo da Invenção

[0001] A presente invenção descreve ação antimicrobiana de azoestilbenoides. A presente invenção se situa nos campos da Microbiologia e Química Orgânica.

Antecedentes da Invenção

[0002] Infecções associadas à assistência em saúde causadas por *Acinetobacter calcoaceticus-baumannii* têm sido bastante prevalentes nas últimas décadas, tornando-se motivo de preocupação mundial nas unidades de saúde. Estes microrganismos são considerados patógenos oportunistas responsáveis por causar infecções do trato respiratório, quadros de pneumonias associados à ventilação mecânica, infecções de feridas e bacteremia em pacientes internados em unidades de terapia intensiva (Manchanda et al., 2010).

[0003] O uso indiscriminado de antimicrobianos aliado ao fato de que esses microrganismos possuem capacidade de se manter por longos períodos em ambientes hospitalares e adquirirem facilmente determinantes de resistência culminou em um quadro disseminado de resistência aos principais antimicrobianos utilizados na terapia contra infecções causadas por esta bactéria (Peleg et al., 2008; Manchanda et al., 2010). Desde a década de 1970, têm sido relatados inúmeros casos de resistência associados a aminoglicosídeos, fluoroquinolonas e cefalosporinas em *Acinetobacter spp.*, o que levou ao uso dos carbapenêmicos. Entretanto, atualmente, a resistência aos carbapenêmicos é amplamente descrita em vários países, inclusive no Brasil, e obriga o uso de outros fármacos, como as polimixinas e a tigeciclina,

ou mesmo a tobramicina inalatória como adjuvante em quadros de infecções respiratórias (Levin et al., 1999; Villegas & Hartstein, 2003; Manchanda et al., 2010; Rossi, 2011; Kempf & Rolain, 2012).

[0004] Muitos mecanismos de resistência a antimicrobianos têm sido descritos em *A. calcoaceticus-baumannii*, tais como redução da permeabilidade da membrana externa, perda de porinas, alterações nos sítios de ligação dos antimicrobianos, produção de β -lactamases e hiperexpressão de bombas de efluxo (Manchanda et al., 2010; Rumbo et al., 2013). As bombas de efluxo AdeABC, AdeFGH, AdeIJK, CraA, AmvA, AbeM e AbeS têm sido associadas à resistência a um amplo espectro de antimicrobianos, tais como cloranfenicol, trimetoprim, aminoglicosídeos, fluoroquinolonas, β -lactâmicos e tetraciclina (Coyne et al., 2011). Desta forma, os inibidores de bomba de efluxo podem ser importantes adjuvantes no tratamento de infecções causadas por *Acinetobacter* spp. resistentes a múltiplos fármacos.

[0005] Desta forma, a indústria farmacêutica não tem desenvolvido novos fármacos na mesma velocidade em que os microrganismos têm se mostrado resistentes àqueles já existentes. Assim, tem sido necessária a investigação de alternativas terapêuticas, considerando compostos já disponíveis no mercado e validados para a utilização em seres humanos, bem como a síntese de novos compostos para serem utilizados isoladamente ou associados com fármacos antimicrobianos para o tratamento de infecções causadas por bactérias caracterizadas como resistentes aos antibióticos.

[0006] O resveratrol é uma fitoalexina polifenólica produzida por plantas em resposta a condições ambientais desfavoráveis, que apresenta ação antioxidante, anti-inflamatória, cardioprotetora, neuroprotetora, quimioprotetora, antiviral, antifúngica e antibacteriana (Docherty et al., 2005; Jung et al., 2005; Aggarwal & Shishodia, 2006; Baur & Sinclair, 2006; Pezzuto, 2008; Paulo et al., 2010; Martini et al., 2011; Nawrocki et al., 2013; Zetterström et al., 2013). O resveratrol tem se mostrado capaz de inibir a formação de biofilme bacteriano, o que tem sido atribuído à ação inibitória no *quorum sensing* (Augustine et al.,

2013; Lee et al., 2013), bem como tem sido associado à inibição da expressão do “swarming” e da virulência em *Proteus mirabilis* (Wang et al., 2006). A ruptura do potencial de membrana e/ou a inibição da replicação do DNA através da inibição da DNA girase também têm sido indicados como mecanismos de ação do resveratrol em diversos microrganismos (Subramanian et al., 2014; Mora-Pale et al., 2015). Foi atribuída a este composto a capacidade de inibir o crescimento de *Escherichia coli* pela supressão da expressão de FtsZ e da formação do anel Z, implicado na divisão da célula bacteriana (Hwang & Lim, 2015). A divisão celular também foi descrita como alvo da ação do resveratrol em *Arcobacter* spp., onde este composto agiu como inibidor de bomba de efluxo (Ferreira et al., 2014), o que indica a possibilidade de utilização do resveratrol como adjuvante em terapias antimicrobianas. Entretanto, o resveratrol não tem sido avaliado em associação a fármacos antimicrobianos que poderiam ser utilizados para o tratamento de infecções causadas por bactérias multirresistentes. Desta forma, a associação do resveratrol, que possivelmente possa atuar como inibidor de sistemas de efluxo, com antibióticos que poderiam ser excluídos da célula bacteriana por efluxo, poderia constituir uma opção terapêutica.

[0007] Assim, do que se depreende da literatura pesquisada, não foram encontrados documentos antecipando ou sugerindo os ensinamentos da presente invenção, de forma que a solução aqui proposta possui novidade e atividade inventiva frente ao estado da técnica.

Sumário da Invenção

[0008] A presente declaração de invenção visa proteger o achado de que o estilbenoide Redresv001 apresentou ação inibitória frente a três isolados de *A. calcoaceticus-baumannii* (B34, B48 e C146) (Figura 1), bem como apresentou interação com os fármacos antimicrobianos polimixina B, polimixina E (colistina), tobramicina e meropenem.

[0009] Estes e outros objetos da invenção serão imediatamente valorizados pelos versados na arte e pelas empresas com interesses no segmento, e serão descritos em detalhes suficientes para sua reprodução na descrição a seguir.

Breve Descrição das Figuras

[0010] Com o intuito de melhor definir e esclarecer o conteúdo do presente pedido de patente, são apresentadas as presentes figuras:

[0011] A figura 1 mostra gráficos com a concentração inibitória mínima (CIM) ($\mu\text{g/mL}$) do Azoestilbenoide Redresv001 em isolados de *A. calcoaceticus-baumannii* (B34, B48 e C146).

[0012] A figura 2 mostra gráficos da associação do Azoestilbenoide Redresv001 com polimixina B no isolado *A. calcoaceticus-baumannii* B48, expressas como CIM ($\mu\text{g/mL}$).

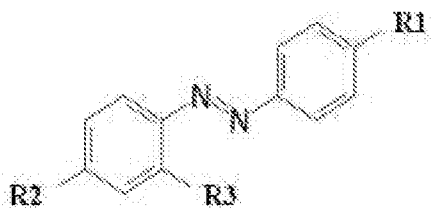
[0013] A figura 3 mostra gráficos da associação do Azoestilbenoide Redresv001 com polimixina B no isolado *A. calcoaceticus-baumannii* C146, expressas como CIM ($\mu\text{g/mL}$).

[0014] A figura 4 mostra gráficos da associação do Azoestilbenoide Redresv001 com tobramicina no isolado *A. calcoaceticus-baumannii* C146, os valores são expressos como CIMs ($\mu\text{g/mL}$) necessárias para inibir o crescimento de *Acinetobacter calcoaceticus-baumannii* cepa 146. (1) somente tobramicina; (2) tobramicina na presença do inibidor de bomba de efluxo CCCP nas concentrações de 20, 10 e 5 $\mu\text{g/mL}$; (3) tobramicina na presença de CCCP na concentração de 2,5 $\mu\text{g/mL}$; (4) tobramicina na presença de redresv001 nas concentrações de 12 e 6 $\mu\text{g/mL}$; (5) tobramicina na presença de redresv001 na concentração de 3 $\mu\text{g/mL}$.

Descrição Detalhada da Invenção

[0015] Em um primeiro objeto, a presente invenção apresenta uma composição farmacêutica, caracterizada por compreender:

- pelo menos um composto de fórmula:



em que R1, R2 e R3 são OH; e

- pelo menos um veículo farmacologicamente aceitável.

[0016] Em uma concretização, a composição farmacêutica adicionalmente compreende pelo menos um fármaco com ação antimicrobiana

[0017] Em uma concretização da composição farmacêutica, o fármaco com ação antimicrobiana é selecionado do grupo consistindo de: Polimixina B, Polimixina E e tobramicina ou combinação dos mesmos.

[0018] Em uma concretização da composição farmacêutica, o composto está em uma concentração entre 2 e 30 µg/mL.

[0019] Em uma concretização da composição farmacêutica, o fármaco com ação antimicrobiana está em uma concentração entre 2 e 100 µg/mL.

[0020] Em um segundo objeto, o uso da dita composição farmacêutica é para a preparação de um medicamento com ação antimicrobiana.

[0021] Em uma concretização do uso da dita composição farmacêutica, é para a preparação de um medicamento com ação antimicrobiana contra um microrganismo selecionado do gênero *Acinetobacter* spp.

[0022] Em uma concretização do uso da dita composição farmacêutica, o microrganismo é *Acinetobacter calcoaceticus-baumannii*.

[0023] Em um terceiro objeto, o método de tratamento de doenças associadas a infecções microbianas compreende a aplicação da dita composição farmacêutica.

[0024] Em um quarto objeto, o processo de preparação do dito composto compreende a condensação de um fenol adequado com um nitrito de sódio.

Exemplos - Concretizações

[0025] Os exemplos aqui mostrados têm o intuito somente de exemplificar uma das inúmeras maneiras de se realizar a invenção, contudo sem limitar, o escopo da mesma.

[0026] A presente declaração de invenção visa proteger o achado de que o estilbenoide **Redresv001** apresentou ação inibitória frente a três isolados de *A. calcoaceticus-baumannii* (B34, B48 e C146) (**Figura 1**), bem como apresentou interação com os fármacos antimicrobianos polimixina B, polimixina E (colistina), tobramicina e meropenem. Além disso, o ativo **Redresv001** apresentou atividade adjuvante com os fármacos antimicrobianos polimixina B, polimixina E e tobramicina.

[0027] Ao associar o composto ao fármaco antimicrobiano, ocorre a Reversão do Fenótipo de Resistência dos isolados. Dessa forma, o composto **Redresv 001** não está sendo utilizado como agente terapêutico, e sim em doses subterapêuticas, diminuindo as concentrações inibitórias mínimas (CIM) das doses terapêuticas dos antibióticos que antes já eram utilizados e que os isolados tinham perfil de resistência a eles.

[0028] Os isolados de *A. calcoaceticus-baumannii* B48 e C146 são resistentes à polimixina B, com concentrações inibitórias mínimas (CIM) de 8 e 4 µg/mL, respectivamente. Entretanto, a associação de Azoestilbenoides **Redresv001** em concentrações inibitórias (24 µg/mL) e sub-inibitórias (3, 6 e 12 µg/mL) com a polimixina B diminuiu a CIM para 0,75 µg/mL, tornando-os sensíveis a este fármaco (**Figuras 2 e 3**). Cabe ressaltar que a polimixina B tem sido amplamente utilizada para o tratamento de infecções causadas por estes microrganismos, uma vez que eles têm se mostrado resistentes a todos os outros fármacos disponíveis. Logo, quando *A. calcoaceticus-baumannii* é resistente à polimixina B, as opções de tratamento ficam bastante limitadas. Desta forma, é possível que o Azoestilbenoides Redresv001, mesmo em concentrações tão baixas quanto 3 µg/mL, possa ser clinicamente importante para o tratamento de infecções causadas por *A. calcoaceticus-baumannii*

resistentes à polimixina B. O isolado *A. calcoaceticus-baumannii* B34 não foi avaliado por ser sensível à polimixina B.

[0029] O isolado *A. calcoaceticus-baumannii* C146 com CIM de 24 µg/mL para redresv001 e com CIM 64 µg/mL para tobramicina, foi submetido à associação de tobramicina com redresv001 nas concentrações de 12 e 6 µg/mL, tendo reduzido a CIM de tobramicina para 8 µg/mL, e a associação da tobramicina com redresv001 na concentração de 3 µg/mL reduziu a CIM de tobramicina para 16 µg/mL (**Figura 4**).

[0030] O isolado *A. calcoaceticus-baumannii* C146 com CIM de 24 µg/mL para redresv001 e com CIM > 8 µg/mL para polimixina E (colistina), foi submetido à associação de polimixina E com redresv001 nas concentrações de 12 e 6 µg/mL, tendo reduzido a CIM para polimixina E para 4 µg/mL.

[0031] Entretanto, o azoestilbenoide **Redresv001** não foi capaz de reverter a resistência dos isolados de *A. calcoaceticus-baumannii* ao meropenem, mas o meropenem nas concentrações de 16 e 32 µg/mL foi capaz de inibir a ação do Azoestilbenoide **Redresv001** nos três isolados analisados (**Tabelas 1 e 2**), sugerindo alguma interação entre os compostos.

Tabela 1 – Influência da associação de meropenem com Azoestilbenoide Redresv001 no crescimento dos isolados B48 e C146 de *A. calcoaceticus-baumannii*.

Meropenem (µg/mL)	Azoestilbenoide Redresv01 (µg/mL)			
	6	8	10	12
32	Crescimento	Crescimento	Crescimento	Crescimento
16	Crescimento	Crescimento	Crescimento	Crescimento
8 a 0,25	Ausência de crescimento			

Tabela 2 – Influência da associação de meropenem com Azoestilbenoide Redresv001 no crescimento do isolado B34 de *A. calcoaceticus-baumannii*.

Meropenem (µg/mL)	Azoestilbenoide Redresv01 (µg/mL)		
	20	22	24

32	Crescimento	Crescimento	Crescimento
16	Crescimento	Crescimento	Crescimento
8 a 0,25	Ausência de crescimento		

[0032] Em ensaios preliminares, a associação de Azoestilbenoides **Redresv001**, em concentrações sub-inibitórias, não alterou a CIM de ciprofloxacina nos três isolados avaliados.

[0033] Todas as composições utilizadas foram preparadas em meio de cultura Mueller-Hinton com veículo DMSO e antibiótico solúvel em água, quando utilizado.

Tolerância de células *persisters*

[0034] O efeito em células *persisters* da associação de tobramicina na concentração de 10xCIM com redresv001 na concentração de 0,5xCIM foi avaliado no isolado *A. calcoaceticus-baumannii* Ac2 em cultivo planctônico. O isolado Ac2 foi capaz de produzir células *persisters* após 24 h de exposição à tobramicina associada ao redresv001, após a adição imediata de ambos os compostos, bem como após a adição tardia do redresv001, apresentando frações de células sobreviventes semelhantes: 5.6905% e 5.3452%, respectivamente. Paralelamente, foi observado que Ac2 também foi capaz de apresentar células *persisters* após 24 h de exposição aos compostos quando avaliados individualmente, sendo que 0.4114% da fração inicial de células foi capaz de sobreviver à exposição à tobramicina e 4.210% ao redresv001. Desta forma, observou-se que a fração de células *persisters* detectada a partir da associação do redresv001 com a tobramicina foi 10X maior do que a fração obtida a partir da exposição somente ao fármaco, o que, diferentemente do que era esperado, indicou que o redresv001 atuou favorecendo a formação de células tolerantes ao fármaco. Também foi observado que não houve diferença na fração de células *persisters* após a exposição imediata e tardia do redresv001.

Citotoxicidade do Redresv001 em fibroblastos

[0035] Foi realizado ensaio de citotoxicidade com Redresv001 em linhagem MRC-7 (fibroblasto de pulmão humano). Em 24h de ensaio, não houve morte celular. Após 72 horas, a dose IC50 de Redresv001 para a linhagem celular foi de 13,34 ug/mL. Esses dados corroboram com os ensaios realizados com Redresv001 em associação com polimixina B, colistina e tobramicina, nas concentrações de 6 e 12ug, reduzindo as MICs dos fármacos e mantendo viabilidade celular nestas concentrações.

Atividade biológica dos azoestilbenoides

[0036] Em estudos anteriores, análogos do resveratrol foram sintetizados pela modificação de substituintes em ambos os anéis, não alterando a dupla ligação entre eles: um pela fusão de benzeno e outros dois pela fusão de um anel heterocíclico; esses análogos recentemente sintetizados apresentaram atividade antineoplásica, vasodilatadora e anti-tirosinase (Song et al., 2012). O aumento dos efeitos anti-tirosinase, bem como antioxidante e outras atividades, foram relatados por Song e colaboradores em 2012, para o azo-oxiresveratrol e o azo-resveratrol. Segundo esses autores, os dois compostos são potenciais inibidores da atividade agonista da tirosinase em cogumelos, por apresentarem inibição de 41,46% a 50 µM e de 72,75% na mesma concentração, respectivamente. O azo-resveratrol ($IC_{50}=36,28 \pm 0,72\mu M$) exibiu atividade inibitória equipotente ao resveratrol e os autores sugerem a possibilidade de mais fácil absorção na pele por apresentar um Log P maior (3,03 para resveratrol e 3,30 para azo-resveratrol), indicando o uso externo para tratamento de várias doenças associadas com a hiperpigmentação.

[0037] Além desses análogos, outros azoestilbenoides estão envolvidos em numerosas reações biológicas como a inibição de DNA, RNA e síntese de proteínas, carcinogênese e fixação de nitrogênio (Gini et al., 2011).

[0038] Em 1994, Stevens e colaboradores sintetizaram benzotiazóis hidroxi-substituídos com a finalidade de comparar as citotoxicidades e propriedades farmacológicas com a genisteína e quercetina (Stevens et al.,

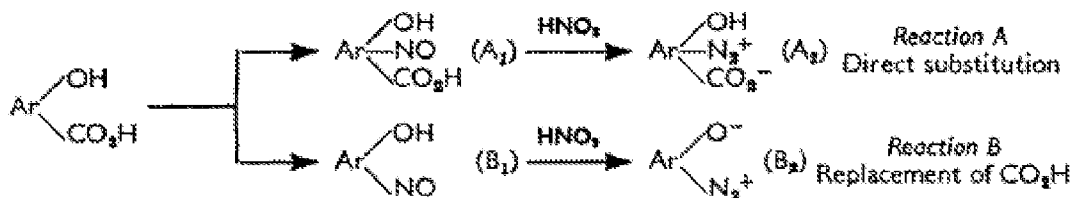
1994), que são inibidores competitivos do sítio de ligação de Adenosina Trifosfato (ATP) de quinases, como a tirosina quinase. As proteínas tirosina quinases ocupam posição central no controle da proliferação celular e quando estão superexpressas mostram associação com a promoção e manutenção de doenças malignas. Os resultados *in vitro* desse estudo mostram que a citotoxicidade dos compostos sintetizados em linhagens de células MCF-7 (carcinoma de mama humano) e WiDr (células de tumor de cólon humano), em ratos, foram relevantes, principalmente do azocomposto, que apresentou IC50 de 7,0 e 27,0 μM para as respectivas linhagens, se comparado ao IC50 de 15,1 e 27,7 μM para genisteína e 24,0 e 40,2 μM para quercetina. Além das duas linhagens já citadas, os autores utilizaram também a HN5 (carcinoma de células escamosas), na qual o azo composto sintetizado apresentou IC50 de 58,0 μM e a quercetina de 190,0 μM .

[0039] Piotto e colaboradores, em 2013, sintetizaram derivados de pequenos azobenzenos com atividade antibacteriana e antifúngica (Piotto et al., 2013). A relevância desse estudo deve-se ao fato do aumento da resistência bacteriana à maioria das classes de antibióticos disponíveis. Os compostos sintetizados foram comparados com antimicrobianos estilbenos, sendo que os azoestilbenoides mostraram maior atividade antifúngica e antibacteriana, com menor toxicidade. A atividade antimicrobiana e a capacidade de destruir biofilmes, também demonstrada nesse estudo, são promissoras e aumentam o interesse do uso terapêutico dos azoestilbenoides. Estudos realizados no desenvolvimento molecular pré-síntese, indicaram que esses compostos podem inibir a ligação da ATP sintase (catalisa a formação de ATP) na interface entre as subunidades α e δ dessa enzima.

Síntese dos azoestilbenoides

[0040] Geralmente os azoestilbenoides são sintetizados pela oxidação de amins aromáticas utilizando metais de transição ou pela redução de nitro aromáticos utilizando metais (Tedder & Theaker, 1958; Wermuth, 2008). A fim de preparar azoestilbenoides assimétricos, utilizamos o proposto por Tedder &

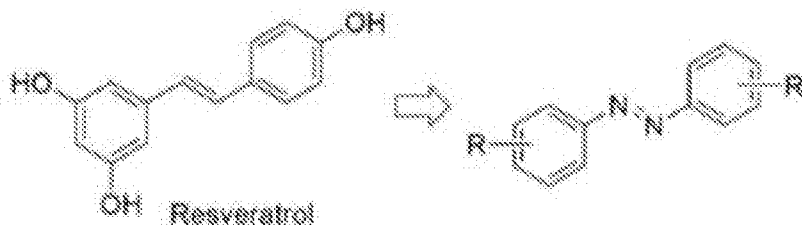
Theaker (Tedder & Theaker, 1958): adição direta de um grupo diazônico num núcleo aromático (**esquema 1**). Hidroxi-ácidos aromáticos reagem com tampão de ácido nítrico em dois caminhos, ambos levando à produção de sais diazônicos, que serão total ou parcialmente resultados pela descarboxilação e à substituição do grupamento carboxila ejetado pelo grupo diazônico.



Esquema 1. Adição direta de um grupo diazônico

Exemplo 1

[0041] Neste trabalho, tentamos a modificação do ligante entre os dois anéis fenólicos do resveratrol pelo grupamento diazônico (**esquema 2**), através da condensação direta com o fenol e o nitrito de sódio. Em planejamento e desenvolvimento de potenciais fármacos por modificação molecular, a estratégia de mínimas modificações é muito bem aceita, na qual análogos são obtidos por pequenas modificações na estrutura do protótipo, podendo produzir aumento na potência ou na seletividade (Lee et al., 2003).



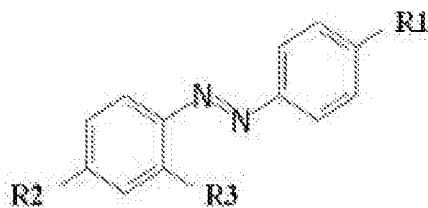
Esquema 2. Modificação do protótipo resveratrol (adaptado de Roberti et al., 2003)

[0042] Conforme descrito por Tedder & Theaker (Tedder & Theaker, 1958), fenol foi dissolvido em uma mistura de acetona e água; nitrito de sódio foi adicionado à solução, seguido de ácido clorídrico e mantida agitação a 0°C por 24h. A solução foi tratada com excesso de ácido sulfâmico e neutralizada com bicarbonato de sódio antes da adição de excesso de resorcinol

solubilizado em solução de hidróxido de sódio. Após agitação por 2h à temperatura de 25 °C, o precipitado foi isolado por filtração e recristalizado, resultando em cristais de coloração avermelhada, sendo esse o redresv001.

Outros Exemplos

[0043] Outros derivados podem ser sintetizados por acetilação ou metilação; para metilação podem ser seguidos os métodos descritos por Snyder e colaboradores (Snyder et al., 2012) e Norikane (Norikane, 2014), e para a acetilação por Pujic e colaboradores (Pujic et al., 2008) e Acerson & Andrus (Acerson & Andrus, 2014). Todos os compostos sintetizados foram caracterizados por espectroscopia de infravermelho, determinação de massa e ponto de fusão, além de ressonância magnética nuclear (^1H e ^{13}C RMN).



onde $\text{R1}=\text{R2}=\text{R3}=\text{OH}$.

Esquema 3. Síntese do azoestilbenoide redresv001

[0044] A síntese do redresv001 ($\text{R1}=\text{R2}=\text{R3} = \text{OH}$) foi através do método geral descrito na literatura (Tedder & Theaker, 1958). A molécula redresv001 foi obtida a partir da dissolução do Fenol (0,01 mol) em uma mistura de acetona e água (1:2). Adicionado nitrito de sódio (0,145 mol) à solução, seguido de ácido clorídrico 2 N (0,1 mol) e agitação mantida a 0°C por 24h. A solução foi tratada com excesso de ácido sulfâmico e neutralizada com bicarbonato de sódio. Adicionado excesso de resorcinol solubilizado em solução de hidróxido de sódio 1 M. Após agitação por 2h à temperatura de 25°C adicionado ácido clorídrico p.a até precipitação. Após resfriamento, o composto foi isolado por filtração e recristalizado; rendimento: 72%; composto colorido; ponto de fusão: 220°C; IR (KBr): $\nu = 3425,80, 3201,83, 1592,19, 1251,51$; UV-vis: λ (acetonitrila/água) = 230nm; RMN ^1H (400 MHz, CD_3OD): $\delta = 13.363$ (s, 1H, OH), 9.951 (s, 1H, OH), 9.737 (s, 1H, OH), 7.690-7.579 (m,

3H, Ar-H), 6.902-6.864 (m, 2H, Ar-H), 6.489-6.461 (m, 2H, Ar-H), 6.303-6.297 (m, 1H, Ar-H); RMN ^{13}C (100 MHz, CD_3OD): δ = 163.03, 161.16, 156.64, 145.30, 134.66, 133.45, 124.37, 116.94, 109.46, 104.02.

Composto Redresv002

[0045] Seguindo o método geral, esse composto foi obtido a partir da solubilização do Redresv001 (4,38 mmol) em Acetona (20 mL). Após solubilização, foi adicionado Carbonato de Potássio (5,45g) e mantido em agitação por 5 min a temperatura de 25°C, protegido da luz. Finalizado o tempo, adicionou-se Iodeto de Metila (3 mL) gota a gota, por aproximadamente 5 min. Agitação mantida a 25°C por 24hs. À solução, adicionou-se Iodeto de Metila (3 mL) conforme procedido anteriormente e agitação mantida por mais 24hs à 25°C. Acrescentado Cloreto de Amônio saturado (25 mL) e o produto foi extraído com Acetato de Etila (3 x 30 mL). A fase orgânica foi lavada com Água destilada (5 x 30 mL), solução de Hidróxido de Sódio 1M (6 x 30 mL) e Cloreto de Sódio saturado (3 x 30 mL). Finalizado, Sulfato de Magnésio foi colocado em excesso na solução, sendo esta filtrada e concentrada; rendimento: 77%; composto colorido; ponto de fusão: 110-120°C; IR (KBr): ν = 2928,37, 2930,46, 3306,50, 1580,93, 1596,60, 1250,90; UV-vis: λ (acetonitrila/água) = 226nm; RMN 1H (400 MHz, CDCl_3): δ = 13.352 (s, 1H, OH), 7.795-7.736 (m, 3H, Ar-H), 7.003-6.981 (m, 2H, Ar-H), 6.610-6.582 (m, 1H, Ar-H), 6.470-6.474 (m, 1H, Ar-H), 3.983-3.857 (d, 6H, CH₃); RMN 13C (100 MHz, CDCl_3): δ = 163.21, 161.46, 155.67, 144.46, 134.09, 132.77, 123.36, 114.51, 107.77, 101.44, 55.64, 55.61.

Composto Redresv003

[0046] Seguindo o método geral, esse composto foi obtido a partir de agitação por à 80°C até solubilização completa do Redresv001 (0,9 mmol) em Dimetilformamida (5 mL) e Carbonato de Potássio (25 mmol). Foi Adicionado Iodeto de Metila (5,2 mmol), gota a gota, mantendo a agitação por 24h, sob refluxo, à 40°C. O produto foi extraído com acréscimo de Cloreto de Amônio saturado (25 mL) e Acetato de Etila (3 x 30 mL). A fase orgânica foi lavada com Água destilada (5 x 30 mL), solução de Hidróxido de Sódio 1M (6 x 30 mL) e

Cloreto de Sódio saturado (3 x 30 mL). Finalizado, Sulfato de Magnésio foi colocado em excesso na solução, sendo esta filtrada e concentrada; rendimento: 66%; composto colorido; ponto de fusão: 190-200°C; IR (KBr): ν = 3243,03, 1593,20, 1251,45; UV-vis: λ (acetonitrila/água) = 244nm; RMN 1H (400 MHz, CDCl₃): δ = 7.863-7.545 (m, 3H, Ar-H), 7.135-7.082 (m, 2H, Ar-H), 6.773-6.768 (m, 1H, Ar-H), 6.636-6.602 (m, 1H, Ar-H), 4.125-3.325 (d, 9H, CH₃); RMN 13C (100 MHz, CDCl₃): δ = 163.12, 161.12, 158.26, 146.81, 135.81, 124.08, 124.08, 117.18, 114.58, 114.44, 106.07, 99.15, 56.07, 55.66, 55.55.

Composto Redresv004

[0047] Seguindo o método geral, esse composto foi obtido a partir da solubilização de Redresv001 (4,38 mmol) em Anidrido Acético (120 mL) sob agitação a temperatura ambiente. Foi adicionado Piridina (1 mL) sendo uma gota a cada 5 min e agitado por 30 min após toda a adição. O produto foi precipitado após adição de Água Destilada a 10°C, filtrado e lavado com Água (3 x 30mL) e Ácido Clorídrico a 5% (500 mL); rendimento: 98,3%; composto colorido; ponto de fusão: 115-122°C; IR (KBr): ν = 3065,77, 1760,37, 1588,21, 1191,01; UV-vis: λ (acetonitrila/água) = 355nm; RMN 1H (400 MHz, CDCl₃): δ = 7.876-7.821 (m, 3H, Ar-H), 7.259-7.224 (m, 2H, Ar-H), 7.159-7.021 (m, 2H, Ar-H), 2.380-2.262 (m, 7H, COCH₃); RMN 13C (100 MHz, CDCl₃): δ = 169.12, 168.58, 153.21, 150.40, 149.44, 141.63, 124.16, 122.27, 119.74, 118.27, 116.80, 21.17, 20.69.

Composto Redresv005

[0048] Seguindo o método geral, esse composto foi obtido a partir da adição do Dimetilsulfóxido anidro (10mL) com Redresv001 (500 mg) e mantido sob agitação em sistema fechado até solubilização. Após, adicionou-se Trietilamina (306 μ L) e a agitação foi mantida por 20 minutos, acrescentando Anidrido Acético (206 μ L) e agitação por mais 1h. O produto foi separado através de passagem por coluna cromatográfica com sílicagel 60 (0,2-0,5mm) empacotada e utilizando como solvente o clorofórmio; rendimento: 8%;

composto colorido; ponto de fusão: 130-145°C; IR (KBr): ν = 3495,94, 1760,37, 1371,79, 1191,01; UV-vis: λ (acetonitrila/água) = 272nm; RMN 1H (400 MHz, CDCl₃): δ = 13.362 (s, 1H, OH), 13.156 (s, 1H, OH), 7.798-7.648 (m, 3H, Ar-H), 7.260-7.185 (m, 1H, Ar-H), 6.814-6.723 (m, 2H, Ar-H), 6.276-6.271 (m, 1H, Ar-H), 2.411-2.334 (d, 3H, CH₃); RMN 13C (100 MHz, CDCl₃): δ = 169.79, 158.85, 154.01, 152.98, 144.26, 133.59, 132.96, 123.83, 122.45, 116.16, 115.83, 113.43, 108.91, 21.24.

Atividade antimicrobiana

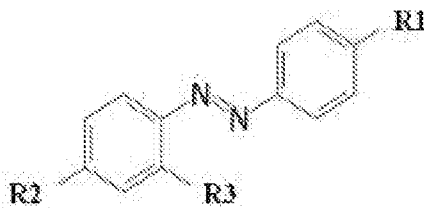
[0049] Para os derivados redresv002, redresv003, redresv004 e redresv005 foram testados nas concentrações de 5, 10, 20, 40, 80, 160, 320 e 640 $\mu\text{g/mL}$ frente a *Acinetobacter* sp. e *Escherichia coli* sem mostrar atividade antimicrobiana.

[0050] Os versados na arte valorizarão os conhecimentos aqui apresentados e poderão reproduzir a invenção nas modalidades apresentadas e em outras variantes, abrangidas no escopo das reivindicações anexas.

Reivindicações

1. Composição farmacêutica, **caracterizada** por compreender:

- pelo menos um composto de fórmula:



em que R1, R2 e R3 são OH; e

- pelo menos um veículo farmacêuticamente aceitável.

2. Composição farmacêutica de acordo com a reivindicação 1, **caracterizada** por adicionalmente compreender pelo menos um fármaco com ação antimicrobiana

3. Composição farmacêutica de acordo com a reivindicação 2, **caracterizada** pelo fármaco com ação antimicrobiana ser selecionado do grupo consistindo de: polimixina B, polimixina E, tobramicina, combinação dos mesmos.

4. Composição farmacêutica de acordo com qualquer uma das reivindicações 2 ou 3, **caracterizada** pelo fármaco com ação antimicrobiana ser selecionado do grupo consistindo de: polimixina B, polimixina E e tobramicina ou combinação dos mesmos.

5. Composição farmacêutica de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 4, **caracterizada** pelo composto estar em uma concentração entre 2 e 30 µg/mL.

6. Composição farmacêutica de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 5, **caracterizada** pelo fármaco com ação antimicrobiana estar em uma concentração entre 2 e 100 µg/mL.

7. Uso da composição farmacêutica, conforme definida em qualquer uma das reivindicações 1 a 6 **caracterizado** por ser para a preparação de um medicamento com ação antimicrobiana.

8. Uso da composição farmacêutica, de acordo com a reivindicações 7, **caracterizado** por ser para a preparação de um medicamento com ação antimicrobiana contra um microrganismo selecionado do gênero *Acinetobacter*.
9. Uso da composição farmacêutica, de acordo com a reivindicação 8 **caracterizado** pelo microrganismo ser *Acinetobacter calcoaceticus-baumannii*.
10. Método de tratamento de doenças associadas a infecções microbianas, **caracterizado** por compreender a aplicação de uma composição farmacêutica, conforme definido em qualquer uma das reivindicações 1 a 6 em um paciente.
11. Processo de preparação de um composto conforme definido na reivindicação 1, **caracterizado** por compreender a condensação de um fenol adequado com um nitrito de sódio.

FIGURAS

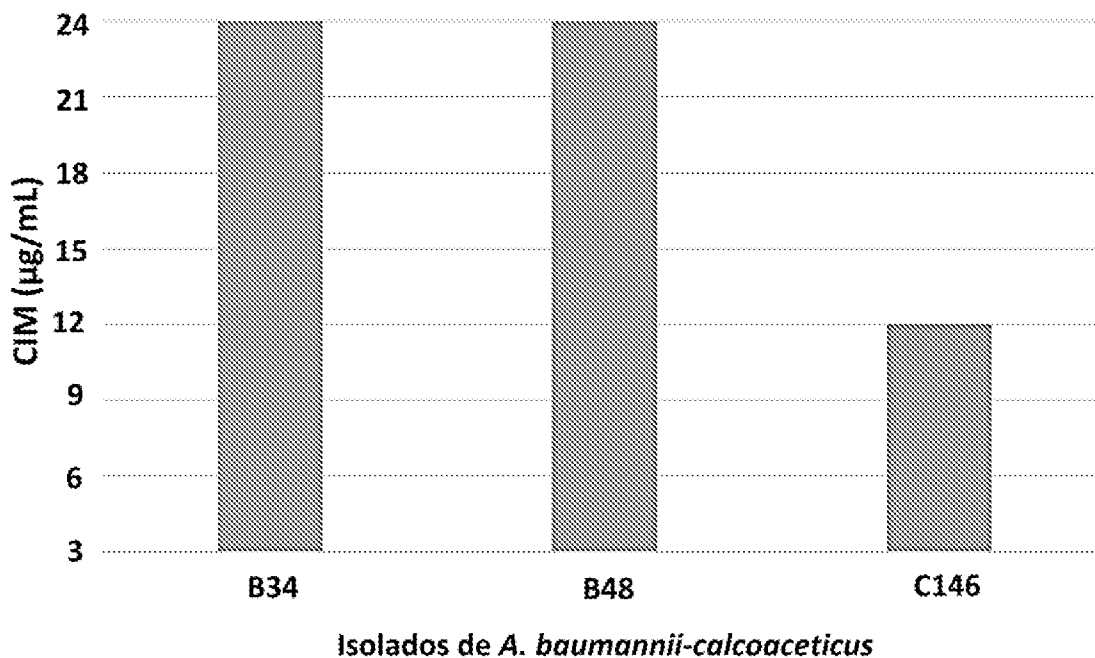


Figura 1

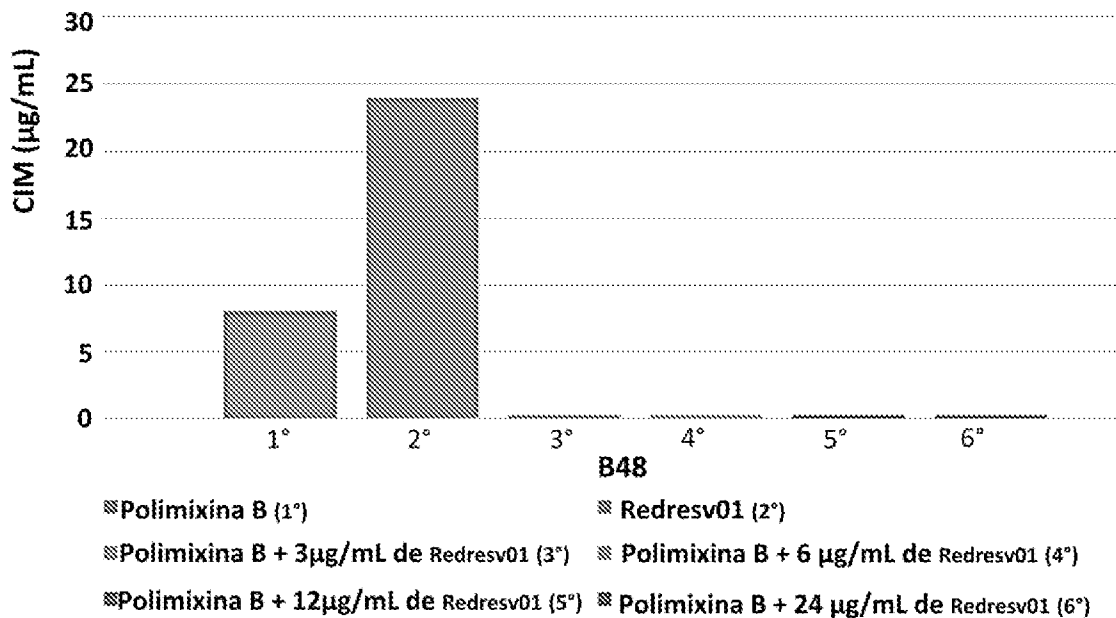


Figura 2

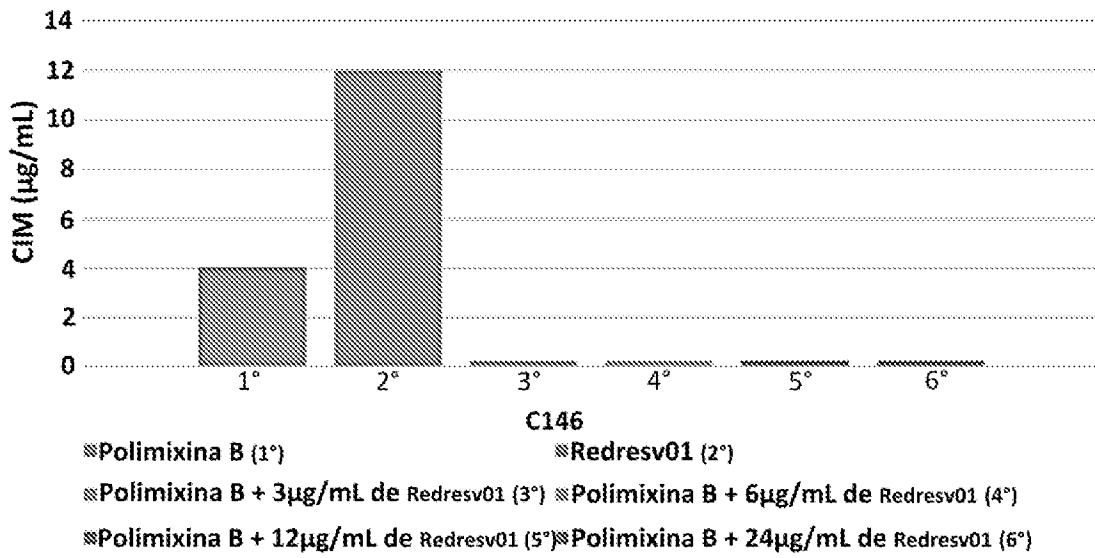


Figura 3

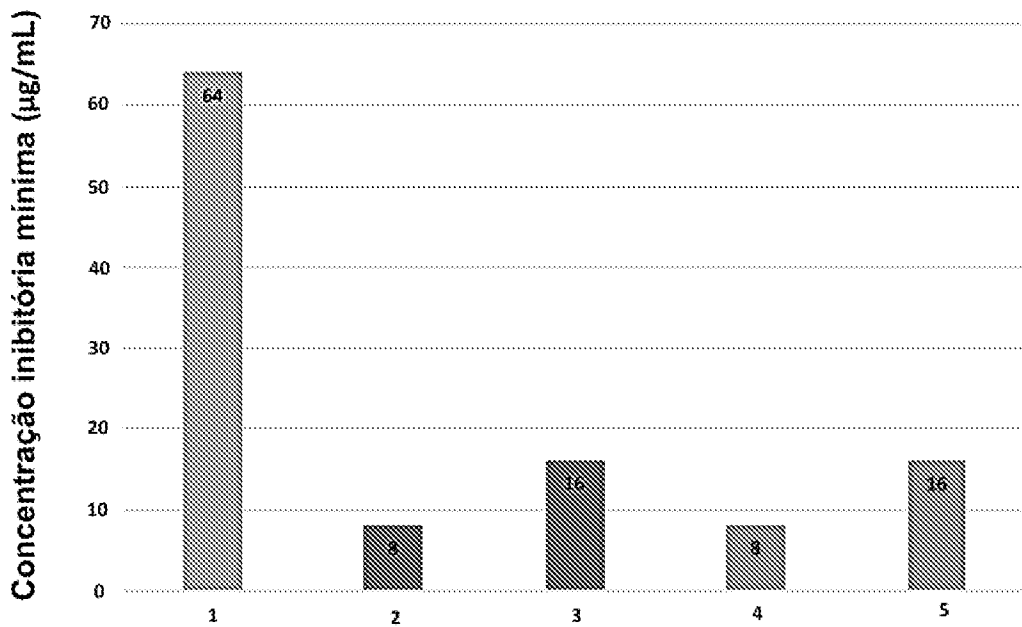


Figura 4

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/BR2016/050338

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

A61K47/16 (2006.01), A61K31/702 (2006.01), A61P31/04 (2006.01)

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

A61K47, A61K31, A61P

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Banco de Patentes Brasileiro INPI-BR (SINPI), Periódicos Capes, Google

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

Espacenet, WPI, STN, Chemical Abstracts, Reaxys, Epodoc

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 0233005 A2 (GHARAVI ALIREZA [US]) 25 April 2002 (2002-04-25) The whole document -----	1
X	Nader Noroozi Pesyan, Davoud Soleimani, Nima Hosseini Jazani, New tetrazolic azo dyes linked to (thio)barbiturate and electron-rich aromatics as potential antimicrobial agents, Turk J Chem (2015) 39: 998 - 1011. Published online on 22/03/2015. The whole document -----	1
X	Malcolm F. G. Stevens, Carol J. McCall, Peter Lelieveld, Peter Alexander, Audrey Richter and Donna E. Davies, Structural Studies on Bioactive Compounds. 23. Synthesis of Polyhydroxylated 2- Phenylbenzothiazoles and a Comparison of Their Cytotoxicities and Pharmacological Properties with Genistein and Quercetin, J. Med. Chem. 1994, 37, 1689-1695. Published on 01/05/1994. The whole document	1,11

 Further documents are listed in the continuation of Box C. See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"&" document member of the same patent family


Date of the actual completion of the international search

21/02/2017

Date of mailing of the international search report

06/03/2017

Name and mailing address of the ISA/ BR


INSTITUTO NACIONAL DA PROPRIEDADE INDUSTRIAL
 Rua Sao Bento nº 1, 17ª andar
 cep: 20090-010, Centro - Rio de Janeiro/RJ

Facsimile No.

+55 21 3037-3663

Authorized officer

Luiz Eduardo Kaercher

Telephone No.

+55 21 3037-3493/3742

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/BR2016/050338

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	----- BR PI0705511 A (OREAL [FR]) 12 August 2008 (2008-08-12) The whole document -----	1 to 9
A	WO 2013187167 AI (KANTO KAGAKU [JP]) 19 December 2013 (2013-12-19) The whole document	1 to 9

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/BR2016/050338

Box No. II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 2 of first sheet)

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

- 1. Claims Nos.: **10**
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:

- 2. Claims Nos.:
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:

- 3. Claims Nos.:
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

Box No. III Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 3 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

- 1. As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
- 2. As all searchable claims could be searched without effort justifying additional fees, this Authority did not invite payment of additional fees.
- 3. As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:

- 4. No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

Remark on Protest

- The additional search fees were accompanied by the applicant's protest and, where applicable, the payment of a protest fee.
- The additional search fees were accompanied by the applicant's protest but the applicable protest fee was not paid within the time limit specified in the invitation.
- No protest accompanied the payment of additional search fees.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.

PCT/BR2016/050338

WO 0233005 A2	2002-04-25	WO 0233005 A3	2003-09-25
		AU 1336202 A	2002-04-29
		US 2004013375 A1	2004-01-22
		US 7205347 B2	2007-04-17
		US 2007197699 A1	2007-08-23
-----	-----	-----	-----
BR PI0705511 A	2008-08-12	CN 101204357 A	2008-06-25
		EP 1964539 A1	2008-09-03
		FR 2909868 A1	2008-06-20
		JP 2008150381 A	2008-07-03
		JP 4980877 B2	2012-07-18
		KR 20080055721 A	2008-06-19
		KR 100997176 B1	2010-11-29
		MX 2007015780 A	2009-02-23
		US 2008244837 A1	2008-10-09
		US 7611545 B2	2009-11-03
-----	-----	-----	-----
WO 2013187167 A1	2013-12-19	JP 2013255442 A	2013-12-26
-----	-----	-----	-----

A. CLASSIFICAÇÃO DO OBJETO

A61K47/16 (2006.01), A61K31/702 (2006.01), A61P31/04 (2006.01)

De acordo com a Classificação Internacional de Patentes (IPC) ou conforme a classificação nacional e IPC

B. DOMÍNIOS ABRANGIDOS PELA PESQUISA

Documentação mínima pesquisada (sistema de classificação seguido pelo símbolo da classificação)

A61K47, A61K31, A61P

Documentação adicional pesquisada, além da mínima, na medida em que tais documentos estão incluídos nos domínios pesquisados

Banco de Patentes Brasileiro INPI-BR (SINPI), Periódicos Capes, Google

Base de dados eletrônica consultada durante a pesquisa internacional (nome da base de dados e, se necessário, termos usados na pesquisa)

Espacenet, WPI, STN, Chemical Abstracts, Reaxys, Epodoc

C. DOCUMENTOS CONSIDERADOS RELEVANTES

Categoria*	Documentos citados, com indicação de partes relevantes, se apropriado	Relevante para as reivindicações Nº
X	WO 0233005 A2 (GHARAVI ALIREZA [US]) 25 abril 2002 (2002-04-25) Todo o documento	1
X	Nader Noroozi Pesyan, Davoud Soleimani, Nima Hosseini Jazani, New tetrazolic azo dyes linked to (thio)barbiturate and electron-rich aromatics as potential antimicrobial agents, Turk J Chem (2015) 39: 998 – 1011. Publicado <i>online</i> em 22/03/2015. Todo o documento	1
X	Malcolm F. G. Stevens, Carol J. McCall, Peter Lelieveld, Peter Alexander, Audrey Richter and Donna E. Davies, Structural Studies on Bioactive Compounds. 23. Synthesis of Polyhydroxylated 2-Phenylbenzothiazoles and a Comparison of Their Cytotoxicities and Pharmacological Properties with Genistein and Quercetin, J. Med. Chem. 1994, 37, 1689-1695. Publicado em 01/05/1994. Todo o documento	1,11

 Documentos adicionais estão listados na continuação do quadro C Ver o anexo de famílias das patentes

* Categorias especiais dos documentos citados:

"A" documento que define o estado geral da técnica, mas não é considerado de particular relevância.

"E" pedido ou patente anterior, mas publicada após ou na data do depósito internacional

"L" documento que pode lançar dúvida na(s) reivindicação(ões) de prioridade ou na qual é citado para determinar a data de outra citação ou por outra razão especial

"O" documento referente a uma divulgação oral, uso, exibição ou por outros meios.

"P" documento publicado antes do depósito internacional, porém posterior a data de prioridade reivindicada.

"T" documento publicado depois da data de depósito internacional, ou de prioridade e que não conflita como depósito, porém citado para entender o princípio ou teoria na qual se baseia a invenção.

"X" documento de particular relevância; a invenção reivindicada não pode ser considerada nova e não pode ser considerada envolver uma atividade inventiva quando o documento é considerado isoladamente.

"Y" documento de particular relevância; a invenção reivindicada não pode ser considerada envolver atividade inventiva quando o documento é combinado com outro documento ou mais de um, tal combinação sendo óbvia para um técnico no assunto.

"&" documento membro da mesma família de patentes.

Data da conclusão da pesquisa internacional

21/02/2017

Data do envio do relatório de pesquisa internacional:

06/03/2017

Nome e endereço postal da ISA/BR

INSTITUTO NACIONAL DA
PROPRIEDADE INDUSTRIAL
Rua Sao Bento nº 1, 17º andar
cep: 20090-010, Centro - Rio de Janeiro/RJ

Nº de fax:

+55 21 3037-3663

Funcionário autorizado

Luiz Eduardo Kaercher

Nº de telefone:

+55 21 3037-3493/3742

C. DOCUMENTOS CONSIDERADOS RELEVANTES

Categoria*	Documentos citados, com indicação de partes relevantes, se apropriado	Relevante para as reivindicações N°
A	----- BR PI0705511 A (OREAL [FR]) 12 agosto 2008 (2008-08-12) Todo o documento	1 a 9
A	----- WO 2013187167 A1 (KANTO KAGAKU [JP]) 19 dezembro 2013 (2013-12-19) Todo o documento	1 a 9

Quadro II Observações quando certas reivindicações não puderam ser objeto de pesquisa (Continuação do ponto 2 da primeira página)

Este relatório de pesquisa internacional não foi formulado em relação a certas reivindicações, sob Artigo 17.2).a), pelas seguintes razões:

1. Reivindicações: **10**

porque estas se referem a matéria na qual esta Autoridade não está obrigada a realizar a pesquisa, a saber:

Método de tratamento do corpo humano ou animal por terapia de acordo com o Artigo 17(2)(a)(i) e Regra 39.1.(iv) do PCT.

2. Reivindicações:

porque estas se referem a partes do pedido internacional que não estão de acordo com os requisitos estabelecidos, de tal forma que não foi possível realizar uma pesquisa significativa, especificamente:

3. Reivindicações:

porque estas são reivindicações dependentes e não estão redigidas de acordo com a segunda e terceira frase da Regra 6.4.a).

Quadro III Observações por falta de unidade de invenção (Continuação do ponto 3 da primeira página)

Esta Autoridade de pesquisa internacional encontrou múltiplas invenções neste depósito internacional, a saber:

1. como todas as taxas requeridas para pesquisas adicionais foram pagas pelo depositante dentro do prazo, este relatório de pesquisa cobre todas as reivindicações pesquisáveis.

2. como a pesquisa em todas as reivindicações pesquisáveis pode ser feita sem esforço que justifique pagamento adicional, esta Autoridade não solicitou o pagamento de taxas adicionais.

3. como somente algumas das taxas requeridas para pesquisas adicionais foram pagas pelo depositante dentro do prazo, este relatório de pesquisa internacional cobre somente aquelas reivindicações cujas taxas foram pagas, especificamente as reivindicações:

4. as taxas de pesquisas adicionais requeridas não foram pagas dentro do prazo pelo depositante. Consequentemente, este relatório de pesquisa internacional se limita à invenção mencionada primeiramente nas reivindicações, na qual é coberta pelas reivindicações:

Observações da reclamação

as taxas adicionais para pesquisas foram acompanhadas pela reclamação do depositante e, se for o caso, pelo pagamento da taxa de reclamação.

as taxas adicionais para pesquisa foram acompanhadas pela reclamação do depositante mas a taxa de reclamação não foi paga dentro do prazo especificado pela solicitação.

o pagamento de pesquisas adicionais não acompanha nenhuma reclamação.

RELATÓRIO DE PESQUISA INTERNACIONAL
 Informação relativa a membros da família da patentes

Depósito internacional N°

PCT/BR2016/050338

Documentos de patente citados no relatório de pesquisa	Data de publicação	Membro(s) da família de patentes	Data de publicação
WO 0233005 A2	2002-04-25	WO 0233005 A3 AU 1336202 A US 2004013375 A1 US 7205347 B2 US 2007197699 A1	2003-09-25 2002-04-29 2004-01-22 2007-04-17 2007-08-23
BR PI0705511 A	2008-08-12	CN 101204357 A EP 1964539 A1 FR 2909868 A1 JP 2008150381 A JP 4980877 B2 KR 20080055721 A KR 100997176 B1 MX 2007015780 A US 2008244837 A1 US 7611545 B2	2008-06-25 2008-09-03 2008-06-20 2008-07-03 2012-07-18 2008-06-19 2010-11-29 2009-02-23 2008-10-09 2009-11-03
WO 2013187167 A1	2013-12-19	JP 2013255442 A	2013-12-26