

DESCRIÇÃO
DA
PATENTE DE INVENÇÃO

N.º 96 331

REQUERENTE: SMITHKLINE BEECHAM CORPORATION, norte americana, com sede em One Franklin Plaza, P.O. Box 7929, Philadelphia, Pennsylvania 19101, Estados Unidos da América

EPÍGRAFE: "Processo de preparação de derivados de floro-glucinol e de composições farmacêuticas"

INVENTORES: James Amigo Chan e John William Westley

Reivindicação do direito de prioridade ao abrigo do artigo 4.º da Convenção de Paris de 20 de Março de 1883.

Estados Unidos da América, em 22 de Dezembro de 1989,
sob o n.º 07/455 647

72 011

14476



PATENTE Nº 96 331

"Processo de preparação de derivados de floro-glucinol e de composições farmacêuticas"

para que

SMITHKLINE BEECHAM CORPORATION, pretende obter privilégio de invenção em Portugal.

R E S U M O

O presente invento refere-se ao processo de preparação de derivados de floroglucinol tendo a estrutura tri-hidroxílica do núcleo do floroglucinol mas que tem substituídos um ou mais protões dos grupos hidroxilo ou das posições não substituídas.

O invento refere-se também ao processo de preparação de composições farmacêuticas para o tratamento da disfunção imune associada à infecção por um Vírus da Imunodeficiência, o qual compreende associar um floroglucinol ou um seu derivado definido acima com veículos farmaceuticamente aceitáveis.

DESCRIÇÃO

Campo do Invento

Este invento pertence ao campo de tratamento de distúrbios imunológicos associados à infecção pelos Vírus da Imunodeficiência, tal como o Vírus da Imunodeficiência Humana.

Antecedentes do Invento

Existe presentemente um esforço intenso nos sectores privado e público para descobrir agentes farmacêuticos úteis no tratamento e prevenção da SIDA e distúrbios imunológicos correlacionados. O agente etiológico da SIDA é o Vírus da Imunodeficiência Humana (HIV). Têm sido descritos vários isolados e estirpes de HIV. Ver, p.ex., Barre-Sinoussi, Science (1983); Vilmer et al., Lancet i: 753 (1984); Gallo et al., U.S. Patente 4.652.599; Levy et al., U.S. Patent 4.716.102; e Vahne et al., U.S. Patent 4.812.566. Além destes, vários outros vírus do tipo HIV, referidos colectivamente como Vírus da Imunodeficiência, têm sido identificados como agentes etiológicos em disfunções imunológicas em outros animais. Estes incluem o Vírus da Imunodeficiência do Símio (SIV). Ver, p.ex. Hirsh et al., Cell 49: 307 (1987) e Kestler et al., Nature 331: 619 (1988). Estes vírus foram classificados na família Retroviridae. São vírus icosaédricos, com envelope, contendo ARN, de cerca de 150 nm de diâmetro e têm na estrutura do núcleo uma nucleocápside em espiral.

Na pesquisa de agentes anti-HIV, grande parte do esforço tem sido devotado à avaliação da actividade anti-HIV de produtos naturais e de outros compostos que se sabe terem actividade tumoricida, viricida, bactericida ou outra actividade citocídica. Muitos destes agentes parecem prometedores, muitos não. Em qualquer dos casos está ainda por desenvolver um agente farmacêutico eficaz no tratamento de distúrbios imunofísicos associados à infecção pelo HIV.

Os floroglicinóis são uma classe de fenóis tri-hidroxílicos que foram identificados como produtos naturais com actividade anti-helmíntica. Os membros desta classe que ocorrem naturalmente



podem ser extraídos de plantas das espécies Medicosma sessiliflora (anteriormente, Melicope sessiliflora) da família Rustacea, que são indígenas da Austrália.

Bowden et al., Brit. J. Pharmacol. 24: 714 (1965), referem a actividade relativa anti-helmíntica (Hymenolepis nana) de vários floroglucinóis e de compostos correlacionados.

Bowden et al., J. Pharm. Pharmacol. 17: 239 (1965), referem a actividade relativa antibacteriana (Staphylococcus aureus) de vários floroglucinóis e de compostos correlacionados. Os autores referem que "ainda que a actividade antibacteriana seja por vezes acompanhada por elevada actividade anti-helmíntica in vitro, isto não é sempre assim".

Chan et al., J. Org. Chem. 54: 2098 (1989), referem actividade anti-vírus Herpes de floroglucinóis recentemente isolados da M. sessiliflora.

Broadbent et al., U.S. Patents 3.467.715 e 3.377.241, revelam a actividade anti-helmíntica de derivados do diacilfloroglucinol.

Mizobuchi et al., Agric. Biol. Chem. 49(3):719 (1985), referem a actividade anti-fúngica das 2,4,6-tri-hidroxiacilfenonas e de compostos correlacionados.

Hartley, Aust. J. Bot. 33: 27 (1985), tratam da reclassificação de Medicosma e descrevem o género e as suas espécies, incluindo a M. sessiliflora.

Sumário do Invento

Este invento é um processo para tratar a infecção, num animal, pelo Vírus da Imunodeficiência, especialmente os distúrbios imunológicos humanos associados à infecção pelo HIV e por vírus relacionados com a imunodeficiência humana, por administração interna ao animal de uma quantidade efectiva de floroglucinol ou de um derivado de floroglucinol que tenha no núcleo a estrutura tri-hidroxílica do floroglucinol mas que tenha substituídos um ou mais prótons dos grupos hidroxilo ou das posições não substi-



tuídas.

Este invento refere-se também ao processo de preparação de determinados novos floroglucinóis e ao uso desses novos floroglucinóis para tratar a infecção pelo Vírus da Imunodeficiência.

Por este invento prepara-se uma composição farmacêutica, para tratamento da infecção, num animal pelo Vírus da Imunodeficiência, que compreende floroglucinol ou um seu derivado como abaixo e acima se descreve.

Descrição Detalhada do Invento

O presente invento é útil para aliviar distúrbios imunológicos associados à infecção pelos Vírus da Imunodeficiência, alguns dos quais foram agora isolados. Estes incluem vários isolados identificados como HIV, HTLV-III, HIV-1, HIV-2, LAV e ARV, colectivamente referidos como HIV. Ver as referências acima citadas. Postula-se que o alívio dos distúrbios imunológicos se consegue por inibição da infecção directa das células, especialmente dos linfócitos, e por inibição da formação de sincícios. O alívio dos distúrbios imunológicos manifesta-se pela normalização das contagens dos linfócitos T4 e T8 e da relação de linfócitos T4:T8.

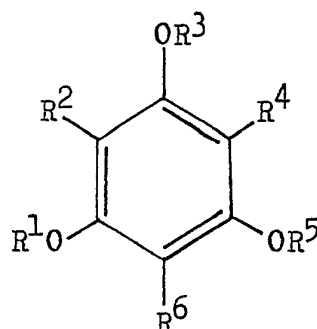
Os compostos que são úteis no processo do presente invento são o floroglucinol e os derivados de floroglicinol que tenham a estrutura de núcleo tri-hidroxil-fenólica do floroglucinol ou nos quais o protão, de um ou mais dos três grupos hidroxilo, está substituído de preferência por um substituinte lipofílico, isto é, um grupo não polar não carregado, como os grupos alquilo, alcenilo, alquilarilo ou acenilarilo, com 1 a 6 átomos de carbono em cadeia, e um ou mais dos protões das posições não substituídas estão substituídos por outros radicais, de preferência radicais lipofílicos como o alquilo, alcenilo, alquilarilo, alcenilarilo, acilo ou acilarilo, com 1 a 18 átomos de carbono em cadeia.

São exemplos destes compostos os ilustrados pela Fórmula I, abaixo:

(SEGUE FÓRMULA)



-5-



onde:

FÓRMULA I

R^1 , R^3 e R^5 são iguais ou diferentes e são $-H$, $-R^7H$, $-R^7Ar$, $-C(O)R^7H$ ou $-C(O)R^7Ar$;

R^2 , R^4 e R^6 são iguais ou diferentes e são $-H$, halogéneo, nitro, $-R^8H$, $-R^8Ar$, $-C(O)R^8H$ ou $-C(O)R^8Ar$;

R^7 é alquileno ou alcenileno em C_1-C_6 , opcionalmente susbtituídos com um ou mais halogéneos, $-OH$ ou $=O$

R^8 é alquileno ou alcenileno em C_1-C_{18} , opcionalmente substituídos com um ou mais halogéneos, $-OH$ ou $=O$.

Ar é toluilo, naftilo, fenilo ou piridilo, opcionalmente substituídos com $-OH$, halogéneo, $-R^7H$ ou $-C(O)R^7H$; ou

quaisquer dois grupos adjacentes, entre R^1 , R^2 , R^3 , R^4 , R^5 e R^6 , formam juntos alquileno em C_2-C_4 , constituindo portanto um anel de 5, 6 ou 7 membros, fundido com o anel fenólico do núcleo, e um ou mais desses membros está opcionalmente substituído com $-R^7H$, $-R^7Ar$, $-C(O)R^7H$ ou $-C(O)R^7Ar$.

Os halogéneos podem ser $-Br$, $-F$, $-Cl$ e $-I$, dos quais $-F$ é o menos preferido.

No processo preferido do invento, os compostos que se empregam são os de Fórmula I em que

R^1 , R^3 e R^5 são, independentemente uns dos outros, escolhidos entre $-H$ e $-CH_3$;

R^2 é $-R^8H$;

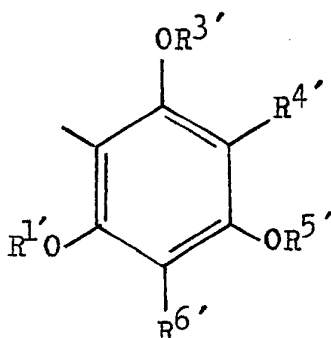
R^8 é alquileno ou alcenileno em C_1-C_{18} , opcionalmente mono- ou di-substituídos com $-OH$ ou $=O$;

R^4 e R^6 são $-C(O)R^8H$ ou $-C(O)R^8Ar$; e

Ar é fenilo;

ou

R^1 e R^2 ou R^2 e R^3 são alquilenos C_2 formando portanto um anel de 5 membros fundido com o anel fenólico do núcleo e um dos dois átomos de carbono está ligado por covalência à posição de R^2 de um segundo composto, segundo composto este que tem por outro lado, a estrutura de Fórmula I, isto é, tem a estrutura de fórmula I':



FÓRMULA I'

onde R^1 , R^3 , R^4 , R^5 e R^6 são como acima se definiu para R^1 , R^3 , R^4 , R^5 e R^6 respectivamente.

Ao longo desta descrição e reivindicações, os termos como "alquilo", "alcenilo", "alquilenos", "alcenilenos", "alcanol", "acilo" e outros termos semelhantes, abrangem tanto as cadeias de carbono lineares como as ramificadas.

O floroglucinol e os derivados de floroglucinol que podem ser usados no processo do invento são sintetizados por técnicas já conhecidas. Por exemplo, a preparação do floroglucinol a partir do trinitrobenzeno ou do ácido trinitrobenzóico está descrita por Pascoe, Chem. Products 18: 454 (1955). Resumidamente, o trinitrobenzeno ou o ácido trinitrobenzóico, é reduzido na presença de estanho e de ácido clorídrico, a solução é neutralizada e fervida durante 15 a 20 h. Ver, The Merck Index of Chemicals and Drugs, Merck & Co., Inc., Rahway, New Jersey.

A síntese de derivados do floroglucinol está descrita por Bowden et al., Brit. J. Pharmacol. 24: 714 (1965); Broadbent et al., U.S. Patent 3.467.715; e Broadbent et al., U.S. Patent 3.377.241, todas elas aqui incorporadas apenas para referência,



ainda que completamente descritas.

Exemplos de compostos que podem ser preparados pelos métodos descritos por Broadbent et al., U.S. 3.467.715 e 3.377.241 e que se demonstram agora terem actividade anti-HIV, são os compostos diacilados de Fórmula I, como os compostos de Fórmula I em que:

R^1 , R^3 e R^5 são iguais e são $-H$ ou $-CH_3$;

R^4 e R^6 são iguais e são $-C(O)R^8H$

R^2 é $-H$ ou $-CH_3$; e

R^8 é alquilenos em C_1-C_{18} .

São exemplos específicos destes compostos, os listados no Quadro I.

QUADRO I

<u>Composto #</u>	<u>Nome do Composto</u>
90569	2,4-diisobutirilfloroglucinol
90578	2,4-dipropionil-6-metilfloroglucinol
90592	2,4-divaleril-6-metilfloroglucinol
90616	2,4-di-hexanoilfloroglucinol
90620	2,4-di-heptanoilfloroglucinol
90621	2,4-di-(4-metilvaleril)floroglucinol
90625	2,4-di-hexanoil-6-metilfloroglucinol
90629	2,4-di-heptanoil-6-metilfloroglucinol
90649	2,4-diisovaleril-6-metilfloroglucinol
90655	2,4-dioctanoil-6-metilfloroglucinol
90656	2,4-dioctanoilfloroglucinol
90666	2,4-dinonanoil-6-metilfloroglucinol
90770	2,4-di(4-metilvaleril)-6-metilfloroglu- cinol

Entre estes compostos diacilicos, os compostos que são preferidos pelo processo do invento são os compostos de Fórmula I em que:

R^1 , R^3 e R^5 são $-H$;

R^2 é $-H$ ou $-CH_3$; e

R^8 é alquilenos em C_4-C_8

São especialmente preferidos entre estes compostos, os



compostos 90592, 90621, 90649, 90655, 90666 e 90770.

Os compostos de Fórmula I que podem ser preparados pelos métodos descritos por Bowden et al., Brit. J. Pharmacol. 24: 714 (1965), incluem os compostos listados no Quadro II.

QUADRO II

<u>Composto #</u>	<u>Nome do Composto</u>
90574	2,4-dibutiril-6-metilfloroglucinol
90531	acetilfloroglucinol
90532	triacetato de floroglucinol
90525	2,4-diacetilfloroglucinol
90533	triacetilfloroglucinol
90548	éter 2,4-diacetilfloroglucinol-1-metílico
90543	éter 2,4-diacetilfloroglucinol-1,5-dimetílico
90547	éter 2,4-diacetilfloroglucinol-1,3,5-trimetílico
90651	triacetato de 2,4-diacetilfloroglucinol
90673	1,3,5-tribenzoato de 2,4-diacetilfloroglucinol
90540	éter florobutirofenona-4-metílico
90681	2-(4-metilvaleril)floroglucinol
90774	monovalerilfloroglucinol
90524	éter florobutirofenona-2,4-dimetílico
90536	2,4-diacetil-6-metilfloroglucinol
90552	éter 2,4-diacetil-6-metilfloroglucinol-1-metílico
90546	éter 2,4-diacetil-6-metilfloroglucinol-trimetílico
90545	2,4,6-tributirilfloroglucinol
90700	triacetato de 2,4-dipropionilfloroglucinol
90590	2,4-divalerilfloroglucinol
90575	éter 2,4-dipropionilfloroglucinol-1,3,5-trimetílico
90568	éter 2,4-dibutirilfloroglucinol-1,3,5-trimetílico
90597	éter 2,4-diisobutirilfloroglucinol-1,3,5-trimetílico
90644	2-acetil-4-valerilfloroglucinol
90717	2-bromo-4,6-dibutirilfloroglucinol
90771	2-bromo-4,6-divalerilfloroglucinol
90694	2-fenacetil-6-metilfloroglucinol

90530 éter 5,5'-metileno-bis-florobutirofenona-2,4-dimetílico

Em alternativa, os derivados do floroglucinol podem ser isolados a partir de extractos de plantas do género Medicosma, especialmente a M. sessiliflora. Pode-se encontrar esta planta no nordeste de Queensland, Austrália, do sul de Gap Creek até à área de corte de madeiras de Boonjie e do nível do mar até 750 m acima do nível do mar. A planta e o seu habitat estão descritos por Hartley, Austral. J. Bot. **33**: 27 (1985), aqui citado para referência. A planta é descrita do modo seguinte:

Arbusto ou pequena árvore até 10 m de altura. Ramagem sub-persistentemente puberulenta a glabra, de 2-4 mm de largura entre-nós, não corticiforme; botões terminais pubescentes a glabros. Folhas (sub)alternas a) opostas ou (sub)opostas e (sub)verticiladas nas árvores, de 6 a 27 cm de comprimento; pecíolo subpersistentemente puberulento a glabro, convexo a canaliculado adaxialmente, aumentado apicalmente e por vezes articulado com a lâmina, de 5 a 45 mm de comprimento, 1-2 mm de largura no meio; lâmina subcoriácea, de escarsa e subpersistentemente puberulenta na mesma central abaixo de glabra, mais ou menos conspicuamente salpicada de óleo, de elíptica ou elíptica - oblonga até oblanceolada, de 5,5-22,5 cm de comprimento, 2-8,5 cm de largura, cerca de 2 a 4 vezes mais longa do que larga, de base cuneada a arredondada ou estreita e superficialmente cordiforme, de (9-)12-16 veios principais de cada lado da nervura central, divergindo num ângulo de 70-80°, de ápice obtuso a acuminado, frequentemente retuso. Inflorescências axilares, de uma ou algumas flores, em ramos sub-sésseis mais jovens ou com eixos herbáceos até 1,5 mm de comprimento, em ramos mais velhos outras flores frequentemente produzidas em processos lenhosos até 2 mm de altura; pedicelo(s) obsoleto(s) até 0,5(-1) mm de comprimento. Flores bissexuais, 6-8 mm de comprimento, tetragonalmente ovóides no botão; sépalas densamente pubescentes a glabras, imbricadas em cerca de metade do seu comprimento, ovadas ou sub-orbiculares, 1-2 mm de comprimento; pétalas de distintas a coesas num tubo em cerca de 1/6 do seu comprimento, de cor branca ou creme, densamente pubescentes

abaxialmente, de forma elíptica estreita, de 5-6,5 mm de comprimento; filetes dos estames distintos ou conatos num tubo, até cerca de 1/5 dos seus comprimentos, lanosos na margem, os ante-sépalos são glandularmuricados perto do ápice, os ante-pétalos são eglandulares; as anteras são transitoriamente pilosas no ápice, 0,6-1 mm de comprimento; disco cupular com 8 lobos com seios alternadamente profundos e superfícies glabros, de 0,8-1,5 mm de altura; ovário pubescente no sentido do ápice, de 0,8-1 mm de altura; estilete piloso na base 1/3-1/2; estigma subclavado, de 4 fendas, numa posição aproximadamente ao nível das anteras ante-sépalos. Folículos escassamente pubescentes no sentido do ápice ou glabros, de 6-10 mm de comprimento; endocarpo placentário subcarnudo; semente(s) preta(s) acastanhada(s), escassamente tuberculosas e minuscualmente papiladas.

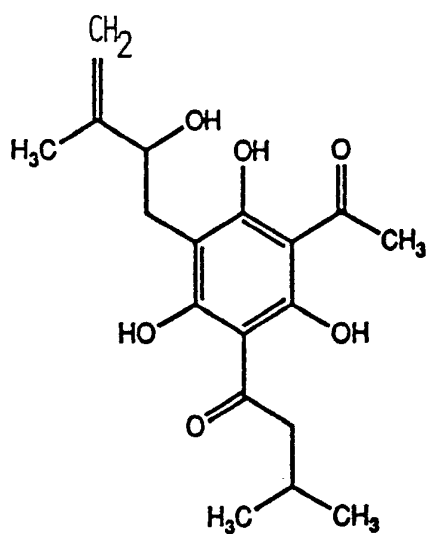
Ver também Berti et al., "Constituents of Ferns", in Progress in Phytochemistry; Tomas-Lorente et al., Phytochemistry 28: 1613 (1989); Arisawa et al., J. Natural Products 48: 455 (1985); Arisawa et al., J. Natural Products 49: 298 (1986); e Fujita et al., J. Natural Products 51: 708 (1988), todos eles se referem a floroglucinois de plantas e são aqui citados apenas para referência.

Um procedimento de extracção típico compreende embeber, folhas secas pulverizadas num solvente orgânico, fraccionar o extracto, por exemplo numa coluna hidrofóbica e/ou hidrofílica, e eluir^{com}/solventes orgânicos como os descritos nos Exemplos abaixo.

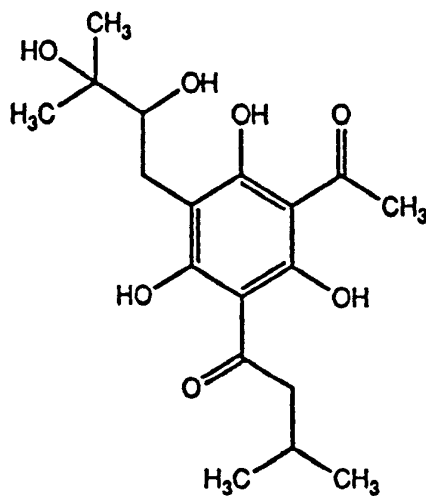
Chan et al., J. Org. Chem. 54: 2098 (1989), descreve a análise de determinados derivados novos do floroglucinol, a partir da M. sessiliflora, aqui citado para referência ainda que na íntegra.

São exemplos de derivados do floroglucinol que podem ser isolados de extractos, pelo hexano ou pela metiletilcetona, da M. sessiliflora, os compostos ilustrados no Quadro III.

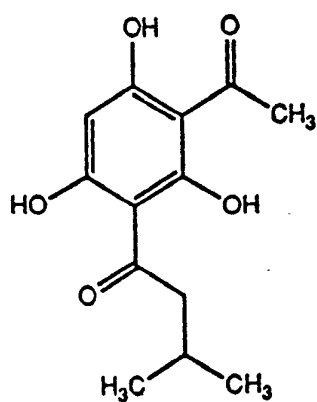
QUADRO III



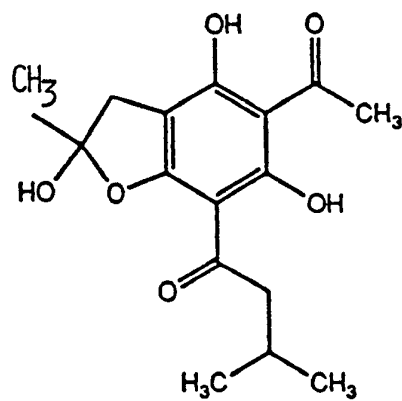
104402



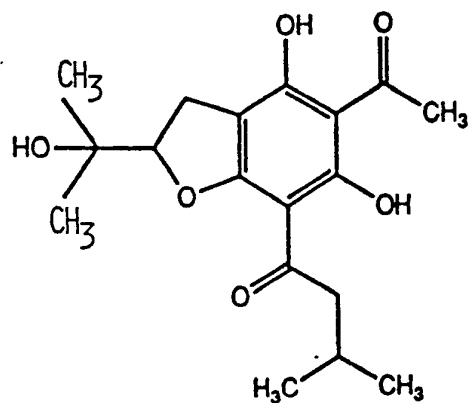
108189



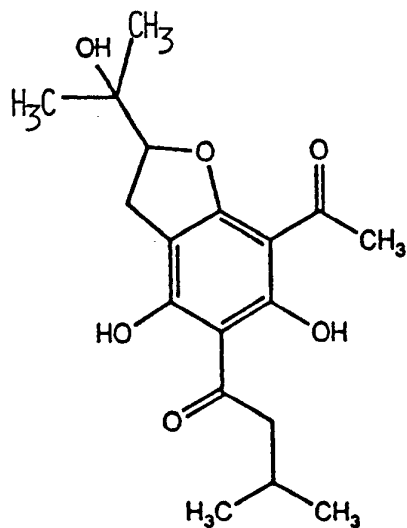
107925



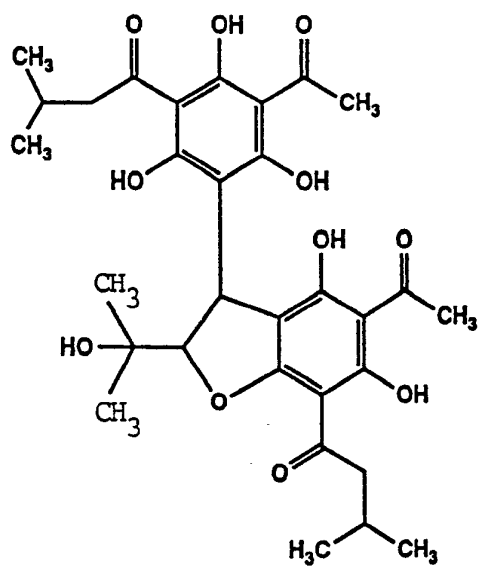
107924



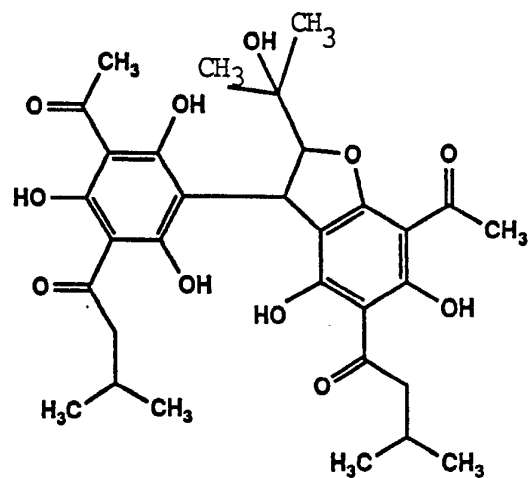
104553



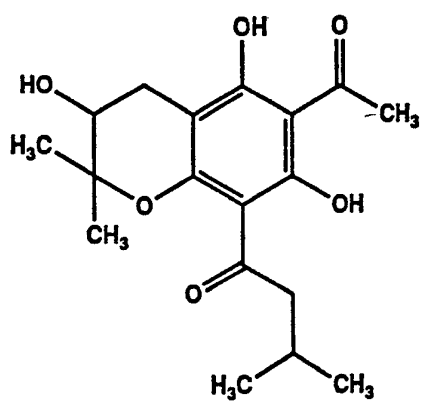
104552



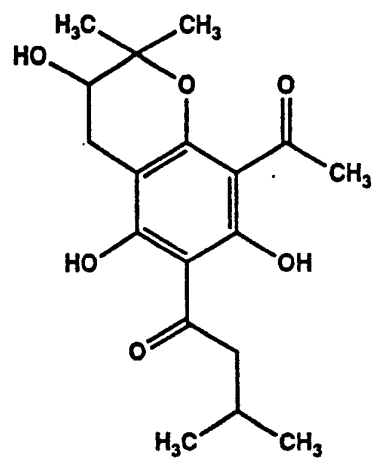
107923



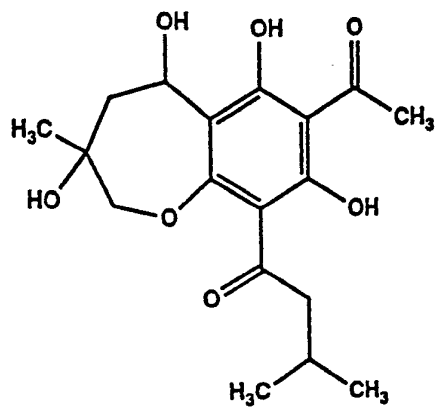
107921



108191



107922



108190



Como se indica nos Exemplos abaixo, nem todos os derivados naturais do floroglucinol demonstraram possuir actividade em ensaios de inibição da infecção pelo HIV, ainda que todos tenham mostrado inibir a formação de sincícios. Com base nos resultados destes ensaios, entre os compostos de um só anel, derivados de produtos naturais, o mais preferido é o composto 104402; entre os compostos de anéis fundidos, os compostos que se preferem para o processo do invento são o 107923 e o 107921. Podem ser preparados outros derivados do floroglucinol a partir de derivados naturais do floroglucinol por métodos químicos clássicos. Ao preparar estes derivados parece ser desejável reter os grupos hidroxilo ou alcoxilo inferior, especialmente o metoxilo, nas posições hidroxilo do floroglucinol, isto é, nas posições $-OR^1$, $-OR^3$ e $-OR^5$; substituir os hidrogénios nas posições R^4 e R^6 por grupos acilo, p.ex., $-C(O)R^8H$ ou $-C(O)R^8Ar$; e substituir o hidrogénio na posição R^2 por um grupo alquilo ou alcenilo, p.ex., $-R^8H$; ou, quando se preparam derivados de anéis fundidos, é desejável ter o anel formado entre as posições R^1 e R^2 ou entre R^2 e R^3 , e ter este anel substituído com um floroglucinol ou com um derivado de floroglucinol, p.ex., um composto de Fórmula I'.

Note-se que se pretende que as fórmulas aqui apresentadas, anteriormente e adiante, englobem os tautómeros e isómeros. Além disso, os compostos de Fórmula I podem formar sais com catiões inorgânicos ou orgânicos, sais estes que são não tóxicos e farmacologicamente aceitáveis que estão incluídos no âmbito do invento. São exemplos destes catiões o magnésio, cálcio, sódio, potássio e piperazina. Estão também abrangidas pelo âmbito do invento as pró-drogas do floroglucinol ou de derivados do floroglucinol, isto é, o floroglucinol e derivados do floroglucinol ligados, usualmente por covalência, a outro grupo químico que pode conferir maior estabilidade, toxicidade reduzida ou acção controlada e que podem ou não ser activos na forma de pró-droga e que são cindidos no corpo do animal tratado produzindo floroglucinol ou derivados de floroglucinol activos.

No processo do invento, os compostos de Fórmula I são administrados internamente, p.ex., por via parentérica como injeção



ou infusão endovenosa, subcutânea ou intramuscular, via oral, rectal, bucal, transdérmica ou por inalação. Os compostos são normalmente administrados num veículo ou diluente farmacêuticamente aceitáveis, escolhidos com base na via de administração. Para as formulações sólidas como pílulas, pós, comprimidos, cápsulas e drageias, são veículos úteis, entre outros, a lactose, terra alba, sacarose, talco, gelatina, ágar, pectina, goma arábica, estearato de magnésio e ácido esteárico. O veículo pode também incluir um material de acção retardada como o monoestearato de glicerilo ou o diestearato de glicerilo, sozinhos ou com uma cera.

Os veículos líquidos para administração oral, intranasal ou parentérica incluem, entre outros, a glicerina, xarope, óleo de amendoim, azeite, solução salina, dextrose e água, opcionalmente tamponada com sais orgânicos ou inorgânicos, p.ex., acetatos, adipatos, succinatos ou citratos de amónio, potássio ou sódio. Podem juntar-se outros excipientes para ajustar a tonicidade ou, especialmente no caso da formulação a ser liofilizada, estabilizadores como, p.ex., gelatina, polivinilpirrolidina, celulose, goma arábica, polietilenoglicol, pirrolidona ou manitol.

Para administração rectal ou vaginal, os compostos podem ser combinados, sob a forma de pó, com excipientes como a manteiga de cacau, glicerina, gelatina ou polietilenoglicol, e moldados em forma de supositório. Para administração transdérmica, os compostos podem ser combinados com uma preparação oleosa, gel, creme ou emulsão e administrados por um penso transdérmico.

No processo do invento, os compostos de Fórmula I são administrados a um animal, especialmente o homem, que tenha sido ou de que haja suspeita de ter sido infectado por um Vírus de Imunodeficiência, especialmente pelo HIV, numa quantidade efectiva para inibir a progressão da disfunção imunológica e de preferência para estabilizar ou melhorar a disfunção imunológica. A quantidade administrada variará dependendo de uma diversidade de factores que incluem a fase de progressão da disfunção imunológica e a idade, peso e estado geral de saúde do animal a ser tratado.



Em geral pensa-se que o processo do invento é realizado pela administração de cerca de 1 a 500 mg/kg/dia, ainda que em casos particulares o médico possa decidir administrar doses ainda mais elevadas. Os efeitos do processo do invento sobre os distúrbios imunes associados à infecção por um Vírus de Imunodeficiência podem ser controlados por avaliação das contagens de células T4 e T8 e pela relação T4/T8, e assim a frequência de dosagem e a dose podem ser modificadas. Em alternativa, a presença de vírus nos fluidos do corpo do animal pode ser controlada pela avaliação da presença de antígenos de vírus ou de anticorpos dos antígenos dos vírus, no soro. Pensa-se que o processo do invento deverá ser conduzido ao longo de um demorado período de tempo, p.ex., de várias semanas a meses, ou que o tratamento deva ser repetido periodicamente, devido à capacidade dos Vírus da Imunodeficiência permanecerem latentes no animal infectado.

Abrangida pelo processo do invento está a co-administração ou administração simultânea de floroglucinol ou de derivados do floroglucinol com outros agentes farmacologicamente activos, p.ex., outros agentes que sejam também efectivos na inibição da réplica do vírus e da formação de sincícios, como outros análogos de nucleósidos, p.ex., AZT e ddC, inibidores da protease do HIV e sCD4 e suas partes truncadas.

Os Exemplos que se seguem ilustram e não limitam o invento. Todos os compostos são referidos pelos Números dos Compostos atribuídos nos Quadros I e III, acima. "EtOAc" significa acetato de etilo e "HOAc" significa ácido acético.

EXEMPLOS

Exemplo 1. Derivados do diacilfloroglucinol

Os compostos listados no Quadro IV, abaixo, foram verificados por um Ensaio de Avaliação da Inibição do Poder Infecioso do HIV, do modo seguinte. 100 µl de um "stock" de linfócitos T4+ (células AA3 ou MOLT4), contendo cerca de 3×10^5 células por ml, foram semeados numa placa de 24 ou de 96 poços. Depois, a cada poço juntaram-se 100 µl de um "stock" contendo cerca de 10^5

72 011

14476

-16-

Unidades Infecciosas (aproximadamente equivalente a TCID₅₀ unidades). Deixou-se o vírus absorver às células durante 1 h a 37°C num incubador a CO₂. Depois juntaram-se a cada poço diluições apropriadas de um derivado de floroglucinol. Prepararam-se poços de controlo da mesma maneira mas sem juntar o derivado de floroglucinol.

Depois de incubar as células durante 7 a 10 dias, o HIV do meio condicionado foi concentrado por precipitação com polietilenoglicol. As quantidades relativas de vírus nos poços experimentais e de controlo foram determinadas por avaliação da actividade da transcriptase inversa em lisados virais e por ELISA para o antigénio p24. Os resultados estão indicados no Quadro IV onde IC₅₀ significa a concentração do derivado de floroglucinol que tem como resultado a redução em 50% da actividade da transcriptase inversa e da concentração de p24 em relação aos controlos. "N.A." significa que nas concentrações ensaiadas não se observou inibição significativa do poder infeccioso. Os resultados indicados entre parêntesis são os resultados de uma segunda experiência.

QUADRO IV

<u>Composto</u>	<u>IC₅₀ (µg/ml)</u>
90666	5,0
90770	3,0
104402	0,8 (6,6)
107924	3,9
107922	N.A.
108189	N.A.
104553	N.A.
108191	N.A.
104552	N.A.
90649	1,0
90575	8,5
90678	9,5

Os compostos indicados no Quadro V, abaixo, foram verifica-

dos num Ensaio de Avaliação de Inibição de Sincícios pelo HIV substancialmente como se descreveu em Putney et al., Science 234: 1392 (1986) e Matthews et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 84: 5424 (1987). Resumidamente, juntaram-se a placas de 96 poços várias diluições de derivados de floroglucinol. Depois misturaram-se linfócitos, CEM T4+ estavelmente infectados com HIV, com células CEM ou MOLT4 não infectadas, e semearam-se em poços, em quantidades de cerca de 70.000 células não infectadas e 5.000 células infectadas por poço. As placas foram incubadas durante cerca de 20 a 24 h a 37°C num incubador a CO₂. As células gigantes, isto é, células de diâmetro pelo menos 5 vezes maior do que o das células normais, foram contadas usando um microscópio de ampliação 40X. Os poços de controlo tinham em média cerca de 60 a 70 células gigantes por poço. Os resultados estão indicados no Quadro V, onde IC₅₀ é a concentração de cada derivado de floroglucinol de que resultou uma redução de 50% do número de células gigantes ou sincícios, por poço.

"N.A." indica actividade não detectável, "AZT" é a 5-azido-timidina e "ddC" é a didesoxicitosina.

72 011
14476

-18-



QUADRO V

<u>Composto</u>	<u>IC₅₀(ug/ml)</u>
90569	7,5
90575	N.A.
90578	10,4
90582	N.A.
90592	1,5
90616	10,0
90620	5,8
90621	4,5
90625	10,1
90629	9,5
90649	1,5
90655	4,5
90656	6,7
90666	2,1
90770	1,4
90574	2,4
104402	5,6
107921	2,9
107923	5,0
107925	9,2
107924	17,0
107922	24,0
108189	24,0
104553	24,4
108191	41,2
104552	45,0
AZT	18,0
ddC	1,0



Exemplo 2. Derivados naturais do floroqlucinol

Colheu-se Medicosma sessiliflora na Austrália em Setembro de 1979; espécimen comprovante VKM 2666 está conservado no National Herbarium, Washington, D.C. Folhas secas pulverizadas de M. sessiflora (100 g) foram maceradas em n-hexano durante pelo menos 24 h. Removeu-se o n-hexano por filtração e as folhas foram então agitadas em metiletilcetona durante pelo menos 24 h. A filtração e concentração do filtrado sob vácuo produziram 38 g de extracto em bruto.

O extracto da metiletilcetona (20 g) foi cromatografado sobre sílica-gel 60 (230-400 mesh) numa coluna de aço inoxidável Whatman Magnum 40 (4,7 x 47 cm) (Whatman Chemical Separations, Inc., Clifton, New Jersey) em dois lotes de 10 g. A coluna foi eluída sequencialmente primeiro com CH_2Cl_2 (Solvente A), depois com 0,2% H_2O /1% CH_3OH / CH_2Cl_2 (Solvente B), finalmente com 0,2% H_2O /2% CH_3OH / CH_2Cl_2 (Solvente C) a um caudal de 50 ml/min enquanto se controlava a 254 nm.

A primeira fracção bioactiva contendo o composto 104.402 (1,25 g) foi obtida a partir do eluato com o Solvente A. Por recristalização em éter dietílico (Et_2O)/ CH_2Cl_2 obtiveram-se 730 mg do composto cristalino branco, 104.402.

Uma segunda fracção (183 mg) foi eluída da coluna de sílica com o Solvente B e cristalizada em Et_2O / CH_2Cl_2 obtendo-se 38 mg do composto 107.924. O licor-mãe foi separado por injecções múltiplas numa coluna Merck Lichrosorb de sílica-gel 60 (7 μm , 10 x x 250 mm) (EM Science, Cherry Hill, New Jersey) eluindo com 0,1% HOAc /30% EtOAc /n-hexano a 4 ml/min (800 psi), controlando a 335 nm. O composto 107.922 (50 mg) eluiu aos 7,5 min.

Uma terceira fracção principal (6,3 g), eluída da coluna inicial de sílica-gel com Solvente B, foi fraccionada sobre um Whatman ODS-3 (40 μm) numa coluna de aço inoxidável Whatman Magnum 40 (4,7x47 cm) (80 ml/min) enquanto se controlava a 340 nm. O composto 107925 (860 mg) eluiu com 70% CH_3OH / H_2O e cristalizou em CH_2Cl_2 . O pico principal eluiu com 70 a 75% CH_3OH / H_2O e deu 2 g

72 011

14476

-20-

de mistura em bruto. Destes 2 g de mistura, fraccionou-se uma amostra de 100 mg por injeções múltiplas numa coluna de sílica-gel (7 μ m, 10x250 mm) Merck Lichrosorb eluiu-se com 0,1% H₂OAc/20% EtOAc/n-hexano, a 4 ml/min, (800 psi) enquanto se controlava a 335 nm. O composto 108191 (6,8 mg) eluiu aos 10,2 min. O composto 104553 (43 mg) eluiu aos 10,7 min. e o composto 104552 (47 mg) eluiu aos 16 minutos.

A eluição com Solvente C na coluna de sílica gel deu pelo menos três outras fracções bioactivas. A primeira fracção, 220 mg, que após trituração com 30% EtOAc/n-hexano deu 55 mg de material insolúvel que era o composto 107.921. A fracção principal seguinte era uma mistura, 480 mg, que deu 84 mg de 107923 após cristalização em éter etílico. O fraccionamento do licor-mãe num Bond-Elut (3x4 cm) de 60 ml sílica (Analytichem International, Harbor City, California com 0,1% H₂OAc/30%EtOAc/n-hexano deu primeiro uma fracção que era rica no composto 107923 e depois uma mistura, 63 mg, que foi depois purificada usando injeções múltiplas numa coluna de sílica-gel Merck Lichrosorb (7 μ m, 10x250 mm) com 0,1%H₂OAc/30%EtOAc/n-hexano a 4 ml/min (800 psi) enquanto se controlava a 335 nm, obtendo-se o composto 108189 (26 mg). A terceira fracção bioactiva principal, eluída da coluna de sílica-gel com solvente C, consistiu em 225 mg de uma mistura em bruto. O fraccionamento da mistura em bruto sobre Bond-Elut de sílica (60 ml) com 0,1% H₂OAc/30%EtOAc/n-hexano deu uma mistura contendo os compostos 107923 e 108189. Uma segunda eluição com 0,1% H₂OAc/70%EtOAc/n-hexano deu uma outra mistura que foi ainda purificada numa coluna de sílica-gel Merck Lichrosorb 60 (10x250 mm) eluindo com 0,1% H₂OAc/70% EtOAc/n-hexano, obtendo-se o composto 108190 (7 mg).

Abaixo são fornecidos elementos analíticos dos referidos compostos.

104402: filme I.V. (CH₂Cl₂) 3600-3100(OH), 3300-2400(hidroxilo ligado por hidrogénio), 1615 cm⁻¹ (carbonilo ligado por hidrogénio); UV (MeOH) λ max (ϵ) 274

(CH₃)₂CHCH₂, 25,2 (d, (CH₃)₂CHCH₂), 32,7 (q, CH₃CO), 95,4(d, C-H

aromático), 105,0 (bs, C aromático), 172,0 (bs, C=O aromático), 204,0 206,6 ppm (2xs, C=O).

107921: Calc. para $C_{31}H_{38}O_{11}$ 586,2414 obteve-se M^+ m/z 586,2407. 1H RMN($CDCl_3$) δ 0,94, 0,97 (4x3H, 2xd, $J=6,7$ Hz, $(CH_3)_2-CHCH_2$), 1,37, 1,49 (4x3H, 2xs, $(CH_3)_2CHOH$), 2,20 (2x1H, m, $(CH_3)_2-CHCH_2$), 2,66, 2,70 (2x3H, s, bs, CH_3CO), 3,06, 3,10 (2x2H, 2xdd, $J=7,1$, 16,8Hz, $(CH_3)_2CHCH_2$), 4,80 (1H, d $J=5,6$ Hz, $CHOH$), 5,10 (1H, d, $J=5,7$ Hz, $CHCH$), 16,6, 15,9, 15,6 ppm (s, OH fenólico). ^{13}C NMR($CDCl_3$) δ , 22,8, 22,9 (q, $(CH_3)_2CHCH_2$), 26,0 (d, $(CH_3)_2CHCH_2$), 32,6, 35,6 (q, CH_3CO), 33,1 (d, $CHCH$), 52,7, 53,2 (t, $(CH_3)_2CHCH_2$), 73,4 (s, $(CH_3)_2C$), 96,9 (d, $CHOH$), 100,2, 104,6, 105,1, 105,8, (s, C aromático), 165,3, 167,6, 170,4, 170,8, (s, C=O aromático), 202,2, 204,8, 207,2, 207,5, ppm (s, C=O).

107923: 1H RMN($CDCl_3$) δ 0,98, 1,04 (4x3H, d, bd, $(CH_3)_2CHCH_2$), 1,38, 1,51 (4x3H, 2xs, $(CH_3)_2CHOH$), 2,20 (2xH, m, $(CH_3)_2CHCH_2$), 2,60, 2,70 (2x3H, s, bs, CH_3CO), 2,70, 3,10 (2x2H, 2xdd, $J=6,4$, 15,0 Hz, $(CH_3)_2CHCH_2$), 4,80 (1H, d, $J=5,7$ Hz, $CHCH$), 5,05 (1H, d, $J=5,7$ Hz, $CHOH$), 15,6, 15,9, 16,6 ppm (s, OH fenólico). ^{13}C RMN($CDCl_3$) δ , 22,7, 22,8, 22,9 (q, $(CH_3)_2CHCH_2$), 24,5, 25,5 (d, $(CH_3)_2CHCH_2$), 32,6, 35,1 (q, CH_3CO), 33,1 (d, $CHCH$), 51,5 (t, $(CH_3)_2CHCH_2$), 73,5 (s, $(CH_3)_2C$), 96,9 (d, $CHOH$), 100,1, 104,8, 105,1, 106,0 (s, C aromático), 164,7, 167,7, 171,5 (s, C=O aromático), 204,8, 205,1, 207,1 (s, C=O).

107922: Calc. para $C_{18}H_{25}O_6$ 337,1561, obteve-se $M+H$ m/z 337,1643. 1H RMN($CDCl_3$) δ 0,97 (2x3H, d, $J=6,8$ Hz, $(CH_3)_2CHCH_2$), 1,45, 1,42 (2x3H, s, $(CH_3)_2C$), 2,25 (1H, m, $(CH_3)_2CHCH_2$), 2,66 (3H, s, CH_3CO), 2,66, 2,87 (2H, dd, $J=5,3$, 11,4Hz, $(CH_3)_2CHCH_2$), 2,89 (2H, AMX, $J_x=5,0$ Hz, CH_2OH), 3,86 (1H, t, $J=5,4$ Hz, $CHOH$), 15,3, 16,1 ppm (2x1H, s, OH fenólico), ^{13}C RMN($CDCl_3$) δ 22,0 (d, $(CH_3)_2CHCH_2$), 22,7 (q, $(CH_3)_2CHCH_2$), 25,1 (q, $(CH_3)_2C$), 25,3 (t, CH_2CHOH), 33,1 (q, CH_3CO), 52,9 (t, $(CH_3)_2CHCH_2$), 68,3 (d, $CHOH$), 79,9 (s, $(CH_3)_2C$), 97,9, 104,1, 104,6 (s, C aromático), 160,3, 170,0, 170,1 (s, C=O aromático), 203,3, 206,8 ppm (s, C=O).

108191: Calc. para $C_{18}H_{25}O_6$ 337,1651, obteve-se $M+H$ m/z 337,1644. ^{13}C RMN($CDCl_3$) δ 22,0 (d, $(CH_3)_2CHCH_2$), 22,7 (q,

72 011

14476

-22-

(CH₃)₂CHCH₂) 25,1, 25,6 (q, (CH₃)₂C), 25,3 (t, CH₂CHOH), 33,0 (q, CH₃CO), 53,2 (t, (CH₃)₂CHCH₂), 68,4 (d, CHOH, 80,1 (s, (CH₃)₂C), 169,7, 170,7 ppm (s, C-O aromático), C aromático e picos de carbonilo não detectáveis.

108189: Calc. para C₁₈H₂₀O₇ 354,1673, obteve-se M⁺ m/z 354,1679, ¹H RMN(CDCl₃ + várias gotas de CD₃OH), δ 0,97 (2x3H, d, J=6,60Hz, (CH₃)₂CHCH₂), 1,25, 1,30 (2x3H, s, (CH₃)₂COH), 2,24 (1H, m, (CH₃)₂CHCH₂), 2,35, 3,15 (2H, AMX, J=9,6, 15,0Hz, CH₂CHOH), 2,70 (3H, s, CH₃CO), 3,00 (2H, d, J=6,8Hz, (CH₃)₂CHCH₂), 3,53 ppm (1H, bd, J=9,5Hz, CH₂CHOH), ¹³C RMN(CDCl₃ + várias gotas de CD₃OH), δ, 22,2, 22,6 (q, (CH₃)₂CHCH₂), 25,1 (t, CH₂CHOH), 25,2 (q, (CH₃)₂COH), 25,7 (d, (CH₃)₂CHCH₂), 32,9 (q, CH₃CO), 53,0 (t, (CH₃)₂CHCH₂), 72,8 (s, (CH₃)₂COH), 80,3 (d, CH₂CHOH), 104,3, 104,4, 105,1 (s, C aromático), 169,6, 170,1 (s, C-O aromático), 204,5, 207,0 ppm (s, C=O).

107924: Calc. para C₁₅H₁₈O₆ 295,1181, obteve-se M+H m/z 295,1184. Mistura de 2 isômeros. ¹H RMN(CDCl₃), δ, 0,94, 0,95 (2x6H, d, (CH₃)₂CHCH₂), 2,20 (2x1H, m, (CH₃)₂CHCH₂), 2,62, 2,67 (2x3H, s, CH₃CO), 2,90, 2,94 (2x2H, AMX, J=6,8Hz, (CH₃)₂CHCH₂), 3,18, 3,20, 3,44 (2x2H, AMX, J=6,80, 17,8Hz, CH₂CHOH, 6,23, 6,24 ppm (2x1H, d, CHOH), ¹³C RMN(CDCl₃) δ 22,6, 22,7 (q, (CH₃)₂CHCH₂), 24,9, 25,3 (d, (CH₃)₂CHCH₂), 31,2 (q, CH₃CO), 32,9, 33,1 (t, CH₂CHOH), 51,3, 53,1 (t, (CH₃)₂CHCH₂), 100,6, 102,7, 102,8 (s, C aromático), 104,4, 104,5 (d, CHOH), 165,2, 169,9 (s, C-O aromático), 202,4, 204,4, 204,9, 206,8 ppm (s, C=O).

108190: Peso molecular = 352; ¹H RMN(CDCl₃): δ, 0,94, 0,95 (2x3H, d, J=6,7Hz, (CH₃)₂CH), 1,27 (3H, s, CH₃(OH)C), 2,10 (1H, m, (CH₃)₂CH), 2,64 (3H, s, CH₃CO), 2,75 (2H, d, CH₂CHOH), 2,96 (2H, d, COCH₂CH), 3,87, 4,01 (37,529), 375 (4941); UV (MeOH-O,1N NaOH) 295 (39,059), 375 nm (infl): calc. para C₁₈H₂₄O₆ 336,1572, obteve-se M⁺ m/z 336,1557; mp 117-120°C. An. Cal. para C₁₈H₂₄O₆: C, 64,47; H, 7,19. Obteve-se: C, 64,52; H, 7,33; ¹H RMN(CDCl₃) δ 0,98 (6H, d, J=6,7Hz, (CH₃)₂CH), 1,86 (3H, s, CH₃C=CH₂), 2,25 (1H, m, j=6,7Hz, CH₂CH(CH₃)₂), 2,72 (3H, s, br, CH₃C=O), 2,75 (1H, dd, J=15,5, 7,3Hz, CH₂CHOH), 3,05 (2H, AMX, COCH₂CH), 3,11 (1H, dd,

72 011

14476

-23-

$J=15,5\text{Hz}$, CH_2CHOH), 4,37 (1H, d, $J=7,3\text{Hz}$ CHOH), 4,90, 5,00 (2x1H, s, br, CH_2 =), 10,1, 15,3, 16,2 ppm (3x1H, s, OH fenolico). ^{13}C RMN (CDCl_3) δ 18,5(q, $\text{CH}_3\text{C}=\text{CH}_2$), 22,8(q, $(\text{CH}_3)_2\text{CH}$), 25,3 (d, $\text{CH}-(\text{CH}_3)_2$), 28,4(t, CH_2CHOH), 33,0(q, CH_3CO), 53,0(t, CH_2CH), 77,7(d, CHOH), 104,3 (s, C aromático), 112,9(t, $=\text{CH}_2$), 145,3(s, $\text{C}=\text{CH}_2$), 165,5, 169,6, 170,5 (s, C-O aromático), 204,4, 206,9 ppm (s, C=O).

104522: Filme I.V. (CH_2Cl_2) 3600-3100 (OH), 3300-2400 (hidroxilo ligado por hidrogénio), 1633 cm^{-1} (carbonilo ligado por hidrogénio); UV (MeOH) (ϵ) 273 (65,999), 341 nm (8148); $\lambda_{\text{max}}(\epsilon)$ UV (MeOH-0,1 N NaOH) 294 (48,451), 320 nm (inf1); calc. para $\text{C}_{18}\text{H}_{24}\text{O}_6$ 336,1572, obteve-se M^+ m/z 336,1571; ^1H RMN(CDCl_3) δ 0,97 (2x3H, d, $J=6,7\text{Hz}$, $(\text{CH}_3)_2\text{CH}$), 1,27, 1,38 (2x3H, s, $\text{HOC}-(\text{CH}_3)_2$), 2,25 (1H, m, $J=6,6\text{Hz}$, $\text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)_2$), 2,64 (3H, s, CH_3CO), 2,97 (2H, AMX, $J=6,9$, 21,1Hz, COCH_2CH), 3,07 (2H, AMX, $J=9,3$, 15,1Hz, CH_2CHOH), 4,84 (1H, t, $J=9,3\text{Hz}$, CHOHCH_2), 14,9, 15,6 ppm (2x1H, s, OH fenolico). ^{13}C RMN(CDCl_3) δ 22,7 (q, $(\text{CH}_3)_2\text{CH}$), 24,7, 24,9 (q, $(\text{CH}_3)_2\text{C}$), 26,0 (d, $(\text{CH}_3)_2\text{CH}$), 26,3 (t, CH_2CHOH), 31,1 (q, CH_3CO), 51,4 (t, CH_2CO), 71,7 (s, $\text{C}(\text{CH}_3)_2$), 92,9(d, CH_2CHOH), 100,4, 104,6, 105,2 (3xs, C aromático), 166,8, 170,0, 170,7 (3xs, C-O aromático), 202,0, 207,0 ppm (2xs, C=O).

104523: Filme I.V. (CH_2Cl_2) 3600-3100(OH), 3300-2400(hidroxilo ligado por hidrogénio), 1636 cm^{-1} (carbonilo ligado por H); UV(MeOH) $\lambda_{\text{max}}(\epsilon)$ 273(39,969), 341(3737); UV(MeOH-0,1 N NaOH) 293 (36,969), 320 nm (Inf1); calc. para $\text{C}_{18}\text{H}_{24}\text{O}_6$ 336,1572, obteve-se M^+ m/z 336,1564; p.f. 105-107°C; ^1H RMN(CDCl_3) δ 0,99 (2x3H, d, $J=6,7\text{Hz}$, $(\text{CH}_3)_2\text{CH}$), 1,27, 1,39 (2x3H, s, $\text{HOC}(\text{CH}_3)_2$), 2,20 (1H, m, $J=6,6\text{Hz}$, $\text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)_2$), 2,70(3H, s, CH_3CO), 2,81, 2,93 (2x1H, dd, $J=6,9$, 14,5 Hz, COCH_2CH), 3,08 (2H, AMX, $J=9,0$, 14,1Hz, CH_2CHOH), 4,83 (1H, t, $J=9,0\text{Hz}$, CHOHCH_2), 14,7, 15,8, ppm (2x1H, s, OH fenolico). ^{13}C RMN (CDCl_3) δ 22,7 (q, $(\text{CH}_3)_2\text{CH}$), 24,7, 25,5 (q, $(\text{CH}_3)_2\text{C}$), 26,1 (d, $(\text{CH}_3)_2\text{CH}$), 26,2 (t, CH_2CHOH), 33,0 (q, CH_3CO), 52,9 (t, CH_2CO), 71,5 (s, $\text{C}(\text{CH}_3)_2$), 92,8 (d, CH_2CHOH), 100,3, 104,4, 105,3 (3xs, C aromático), 166,3, 166,7, 171,3 (3xs, C-O aromático), 204,4, 204,5 (2xs, C=O).



A análise por difracção de Raios X de cristal único foi realizada a partir de dados tridimensionais de intensidade obtida com um difractómetro Enraf-Nonius CAD-4 [$\text{MoK}\alpha$) = 0,71073 Å] equipado com monocromador de grafite. Os dados foram obtidos por uma técnica de pesquisa 2 de velocidade variável, a 248 K. Foram obtidos 5583 resultados ($\pm h$, $\pm k$, $\pm l$) ($2 \leq 60^\circ$) dos quais 3623 foram considerados ($I \geq 3\sigma(I)$) após correcção de Lorentz, dos efeitos de polarização e determinação de médias das reflexões equivalentes de simetria ($R_{\text{int}} = 0,013$). A molécula cristaliza, como um hidrato, em MeOH. Elementos de cristalização: triclinico, $P 1$, $Z=2$, $a=9,852(2)$, $b=11,563(2)$, e $c=8,931(2)$ Å, $\alpha=107,51(2)^\circ$, $\beta=110,54(2)^\circ$ $\gamma = 73,36(2)^\circ$. A estrutura foi determinada por métodos directos. Átomos que não hidrogénios foram "refinados" com parâmetros vibracionais anisotrópicos; todos os hidrogénios foram localizados por síntese de diferença de Fourier e foram "refinados" com factores isotrópicos de temperatura. A matriz completa de mínimos quadrados de "refinação" (em F) convergiu para valores dos resíduos cristalográficos clássicos. $R=0,043$ e $R_w=0,055$. Um coeficiente de extinção "refinou" a $1,24(1) \times 10^{-6}$. O mapa de diferenças finais de Fourier foi incaracterístico.

107925: IV (KBr) 3600-3100 (OH), 3100-2800 (OH ligado por hidrogénio), 1626 cm^{-1} (carbonilo ligado por hidrogénio); Calc. para $\text{C}_{13}\text{H}_{17}\text{O}_5$ 253,1076, obteve-se $M+H$ m/z 253,1083; ^1H RMN (CDCl_3) δ 0,91 (2x3H, d, $J=6,4\text{Hz}$ (CH_3) $_2\text{CHCH}_2$), 2,20 (1H, m, (CH_3) $_2\text{CHCH}_2$), 2,60 (3H, s, CH_3CO), 2,90 (2H, bd, $J=6,3\text{Hz}$, CHCH_2), 5,80 (1H, s, H aromático), 16,2 ppm (3xH, bs, OH fenólico). ^{13}C RMN (CDCl_3) δ 22,7 (q, (2H, dd, $J=11\text{Hz}$, CH_2O), 4,16 ppm (1H, m, CH_2CHOH). ^{13}C RMN (CDCl_3): δ 22,7 (q, (CH_3) $_2\text{CHCH}_2$), 25,0 (d, (CH_3) $_2\text{CHCH}_2$), 33,2 (q, CH_3CO), 52,3 (t, (CH_3) $_2\text{CHCH}_2$), 67,2 (d, CHOH), 67,8 (t, CH_2O), 79,8 (s, $\text{CH}_3(\text{OH})\text{C}(\text{CH}_2)_2$), 97,5, 104,0, 104,7 (s, C aromático), 160,0, 170,0, 170,3 (s, C-O aromático), 203,2, 206,9 ppm (s, C=O).

Exemplo 3. Floroglucinóis Semi-sintéticos.

Aqueceu-se o composto 104.402 (40 mg) com ácido p-tolueno-sulfónico (40 mg) em tolueno (6 ml) a 90-100° sob atmosfera de



azoto. Após 2,5 h, concentrou-se a mistura, tomou-se em éter (25 ml) e lavou-se com carbonato de sódio aquoso (1% p/v; 4 x 20 ml). Lavou-se a camada etérea com carbonato de sódio aquoso (1% p/v; 4 x 20 ml) e secou-se sobre sulfato de magnésio. Por evaporação do solvente sob pressão reduzida obteve-se uma mistura (40 mg). Separou-se esta mistura por injeções múltiplas (4 mg cada) numa coluna de fase inversa, à escala semi-preparativa de HPLC, (Magnum 9, 250 mm x 4,6 mm, Partisil 10 μ m, ODS-3) com 0,1% ácido trifluoroacético /10% água/metanol como eluente, a 5 ml/min (3,4 Kpsi). Aos 6,6 min eluiu como pico principal, uma mistura (6,4 mg) de 107922 e 108191. A separação de 107922 e 108191 foi realizada na mesma coluna Magnum 9 (acima) eluindo com 0,1% ácido trifluoroacético/35% H₂O/metanol, a 5 ml/min. (3,3 kpsi). O 107922 (1,9 mg) eluiu a cerca de 32 min e o 108191 (2,8 mg) eluir a cerca de 36 min.

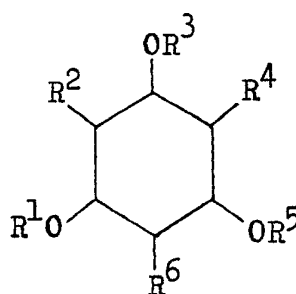
A descrição precedente e os exemplos ilustram arranjos particulares do invento, incluindo os seus arranjos preferidos. Contudo, o invento não está limitado a estes arranjos precisos aqui descritos mas, pelo contrário, incluem todas as variações e modificações abrangidas pelo âmbito das reivindicações seguintes.



REIVINDICAÇÕES

1 - Processo de preparação de uma composição farmacêutica para tratar a disfunção imune associada a infecção, num animal, por um vírus de imunodeficiência, caracterizado por compreender associar floroglucinol ou um derivado de floroglucinol que tenha a estrutura tri-hidroxílica do núcleo do floroglucinol mas que tenha substituídos um ou mais prótons dos grupos hidroxilo ou das posições não substituídas com um veículo farmaceuticamente aceitável.

2 - Processo de acordo com a reivindicação 1, caracterizado por o derivado do floroglucinol ser um composto de fórmula I



FÓRMULA I

onde

R^1 , R^3 e R^5 são iguais ou diferentes e são $-H$, $-R^7H$, $-R^7Ar$, $-C(O)R^7H$ ou $-C(O)R^7Ar$;

R^2 , R^4 e R^6 são iguais ou diferentes e são $-H$, halogéneo, nitro, $-R^8H$, $-R^8Ar$, $-C(O)R^8H$ ou $-C(O)R^8Ar$;

R^7 é alquileno ou alcenileno em C_1-C_6 , opcionalmente substituído por um ou mais grupos halogéneo, $=O$ ou $-OH$;

R^8 é alquileno ou alcenileno em C_1-C_{18} , opcionalmente substituído por um ou mais grupos halogéneo, $=O$ ou $-OH$; e

Ar é $-toluílo$, $-naftilo$, $-fenilo$ ou $-piridilo$, opcionalmente substituído por $-OH$, halogéneo, $-R^7H$ ou $-C(O)R^7H$; ou

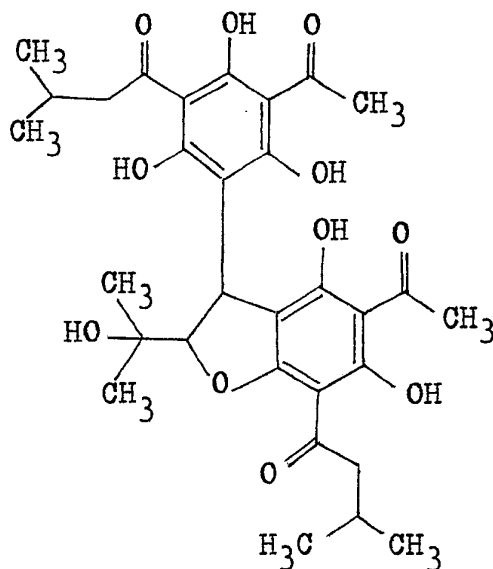
quaisquer dois grupos R^1 , R^2 , R^3 , R^4 , R^5 e R^6 adjacentes constituem juntos alquileno em C_2-C_4 , formando portanto um anel de 5, 6 ou 7 membros, fundido ao anel fenólico do núcleo, e um ou mais desses membros estão substituídos com $-R^7H$, $-R^7Ar$, $-C(O)R^7H$ ou $-C(O)R^7Ar$.

72 011

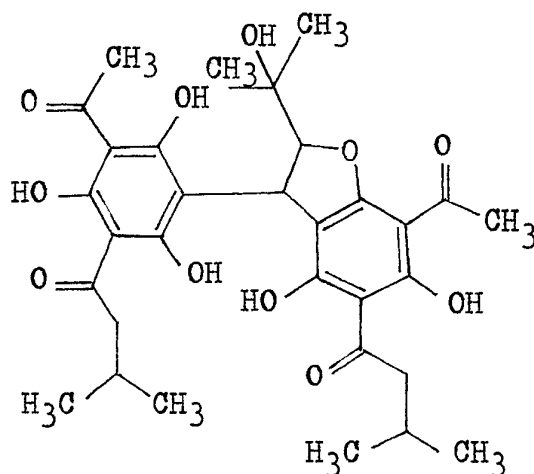
14476

-27-

3 - Processo de acordo com a reivindicação 2, caracterizado por o composto de fórmula I ser 107923



ou 107921



Lisboa,

21. DEZ. 1990

Por SMITHKLINE BEECHAM CORPORATION

- O AGENTE OFICIAL -

O ADJUNTO

António Pissarra