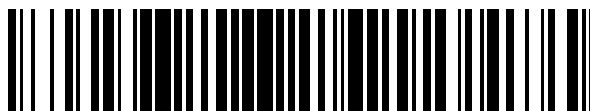


19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 391 296**

51 Int. Cl.:

<b>C07D 303/48</b>	(2006.01)	<b>A01N 45/00</b>	(2006.01)
<b>C07D 303/14</b>	(2006.01)	<b>A61P 33/00</b>	(2006.01)
<b>C07D 493/04</b>	(2006.01)	<b>A61P 35/02</b>	(2006.01)
<b>C07D 301/32</b>	(2006.01)	<b>A61P 31/00</b>	(2006.01)
<b>C07D 303/40</b>	(2006.01)	<b>A61P 33/02</b>	(2006.01)
<b>C07D 303/02</b>	(2006.01)	<b>C07D 303/32</b>	(2006.01)
<b>C07D 493/02</b>	(2006.01)		
<b>A61K 31/336</b>	(2006.01)		
<b>A61P 31/04</b>	(2006.01)		
<b>A61P 35/00</b>	(2006.01)		

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 96 Número de solicitud europea: **06840409 .4**
- 96 Fecha de presentación: **22.12.2006**
- 97 Número de publicación de la solicitud: **1971588**
- 97 Fecha de publicación de la solicitud: **24.09.2008**

54 Título: **Derivados de tiglien-3-ona**

30 Prioridad:  
**23.12.2005 AU 2005907278**

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:  
**23.11.2012**

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:  
**23.11.2012**

73 Titular/es:  
**QBIOTICS LIMITED (100.0%)  
7 PENDA STREET  
YUNGABURRA, QLD 4884, AU**

72 Inventor/es:  
**REDDELL, PAUL WARREN y  
GORDON, VICTORIA ANNE**

74 Agente/Representante:  
**CARVAJAL Y URQUIJO, Isabel**

ES 2 391 296 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín europeo de patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre concesión de Patentes Europeas).

## DESCRIPCIÓN

Derivados de tiglien-3-ona

## 5 Campo de la invención

Esta invención se refiere a moléculas bioactivas. Más particularmente, esta invención se refiere a derivados de tiglien-3-ona de potencial beneficio terapéutico y/o de uso como productos farmacéuticos y agroquímicos.

## 10

Antecedentes de la invención

El biodescubrimiento es un campo en continuo crecimiento, que investiga y selecciona productos naturales bioactivos de los ambientes naturales, incluyendo plantas, microorganismos, corales y otras especies marinas. En la búsqueda de productos naturales bioactivos, se selecciona material biológico para moléculas que tienen propiedades que pueden ser de beneficio terapéutico para uso potencial en una amplia gama de tratamientos, por ejemplo, tratamientos para el cáncer, tratamientos antiprotozoarios, tratamientos antiparasitarios, tratamientos antibióticos y tratamientos antiinflamatorios, o para actividad pesticida.

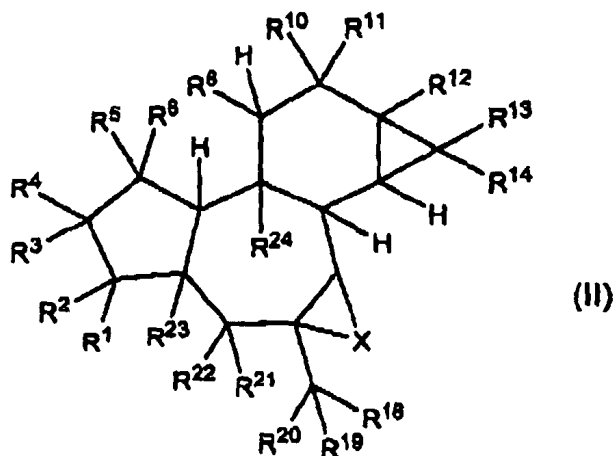
## 15

Resumen de la invención

## 20

La presente invención surge del descubrimiento de nuevos derivados de tiglien-3-ona que tienen usos terapéuticos potencialmente nuevos como agentes citotóxicos, agentes antiprotozoarios, agentes antiparasitarios y agentes antibióticos o potencial como agentes pesticidas para uso agrícola.

Un aspecto de la invención proporciona compuestos de la fórmula (II)



## 25

en donde:

X se selecciona de -O-, -S- y -NR<sup>25</sup>-;

## 30

R<sup>1</sup> y R<sup>2</sup> se seleccionan independientemente de hidrógeno, -OH, -O-alquilo C<sub>1</sub> - C<sub>10</sub>, -O-alqueno C<sub>2</sub> - C<sub>10</sub>, -O-alquino C<sub>2</sub> - C<sub>10</sub>, -O-cicloalquilo, -OC(O)alquilo C<sub>1</sub> - C<sub>10</sub>, -OC(O)alqueno C<sub>1</sub> - C<sub>10</sub>, -OC(O)alquino C<sub>2</sub> - C<sub>10</sub>, -OC(O)cicloalquilo, -OC(O)heterociclilo, -OC(O)heteroarilo, -OC(O)NH-alquilo C<sub>1</sub> - C<sub>10</sub>, -OC(O)NH-alqueno C<sub>2</sub> - C<sub>10</sub>, -OC(O)NH-alquino C<sub>2</sub> - C<sub>10</sub>, -OC(O)NH-cicloalquilo, -OC(O)NH-arilo, -OC(O)NH-heterociclilo, -OC(O)NH-heteroarilo, -OC(S)NH-alquilo C<sub>1</sub> - C<sub>10</sub>, -OC(S)NH-alqueno C<sub>2</sub> - C<sub>10</sub>, -OC(S)NH-alquino C<sub>1</sub> - C<sub>10</sub>, -OC(S)NH-cicloalquilo, -OC(S)NH-arilo, -OC(S)NH-heterociclilo, -OC(S)NH-heteroarilo o R<sup>1</sup> y R<sup>2</sup> tomados juntos son =O, =S, =NH o =N(alquilo C<sub>1</sub> - C<sub>6</sub>);

## 35

R<sup>3</sup> es hidrógeno, -alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>, -alqueno C<sub>2</sub> - C<sub>10</sub> o -alquino C<sub>2</sub> - C<sub>10</sub>;  
R<sup>4</sup> y R<sup>5</sup> son cada uno hidrógeno, -alquilo C<sub>1</sub> - C<sub>10</sub>, -alqueno C<sub>1</sub> - C<sub>10</sub>, -alquino C<sub>2</sub> - C<sub>10</sub>, -OH, -O-alquilo C<sub>1</sub> - C<sub>10</sub>, -O-alqueno C<sub>2</sub> - C<sub>10</sub>, -O-alquino C<sub>2</sub> - C<sub>10</sub>, -O-cicloalquilo, -O-alquilo C(O)C<sub>1</sub> - C<sub>10</sub>, -OC(O)-alqueno C<sub>2</sub> - C<sub>10</sub>, -OC(O)-alquino C<sub>2</sub> - C<sub>10</sub>, -OC(O)cicloalquilo, -OC(O)arilo, -OC(O)heterociclilo, -OC(O)heteroarilo, -OC(O)NH-alquilo C<sub>1</sub> - C<sub>10</sub>, -OC(O)NH-alqueno C<sub>2</sub> - C<sub>10</sub>, -OC(O)NH-alquino C<sub>2</sub> - C<sub>10</sub>, -OC(O)NH-cicloalquilo, -OC(O)NH-arilo, -OC(O)NH-heterociclilo, -OC(O)NH-heteroarilo, -OC(S)NH-alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>, -OC(S)NH-alqueno C<sub>2</sub> - C<sub>10</sub>, -OC(S)NH-alquino C<sub>2</sub> - C<sub>10</sub>, -OC(S)NH-cicloalquilo, -OC(S)NH-arilo, -OC(S)NH-heterociclilo, -OC(S)NH-heteroarilo, F, Cl, Br, I, -CN, -NO<sub>2</sub> o N(R<sup>25</sup>)<sub>2</sub>, o R<sup>4</sup> y R<sup>5</sup> tomados juntos forman un doble enlace o son -O-, -S-, -NR<sup>25</sup>- o -CR<sup>26</sup>R<sup>27</sup>-;

## 40

R<sup>6</sup> se selecciona de hidrógeno, -alquilo C<sub>1</sub> - C<sub>10</sub>, -alqueno C<sub>2</sub> - C<sub>10</sub> y -alquino C<sub>2</sub> - C<sub>10</sub>;

## 45

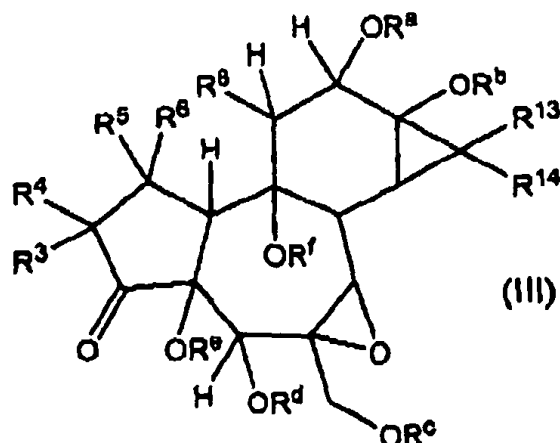
R<sup>8</sup> se selecciona de hidrógeno, -alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>, -alqueno C<sub>2</sub> - C<sub>10</sub> y -alquino C<sub>2</sub> - C<sub>10</sub>;

R<sup>10</sup> se selecciona de hidrógeno, -alquilo C<sub>1</sub> - C<sub>10</sub>, -alqueno C<sub>2</sub> - C<sub>10</sub> y -alquino C<sub>1</sub> - C<sub>10</sub>;

R<sup>11</sup> se selecciona de -OH, -O- alquilo C<sub>1</sub> - C<sub>20</sub>, -O-alqueno C<sub>2</sub> - C<sub>20</sub>, -O-alquino C<sub>2</sub> - C<sub>20</sub>, -O-cicloalquilo, -OC(O)

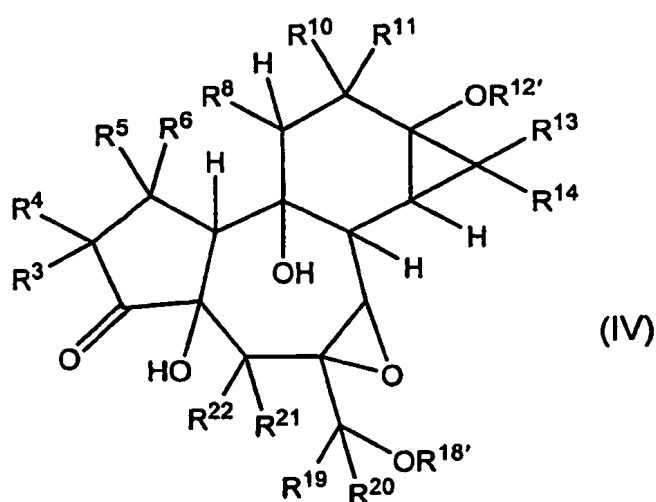
- alquilo C<sub>1</sub> - C<sub>20</sub>, -OC(O)alqueno C<sub>2</sub> - C<sub>20</sub>, -OC(O)alquino C<sub>1</sub> - C<sub>20</sub>, -OC(O)cicloalquilo, -OC(O)arilo, -OC(O)heterocicilo, -OC(O)heteroarilo, -OC(O)NH-alquilo C<sub>1</sub> - C<sub>20</sub>, -OC(O)NH-alqueno C<sub>2</sub> - C<sub>20</sub>, -OC(O)NH-alquino C<sub>1</sub> - C<sub>20</sub>, -OC(O)NH-cicloalquilo, -OC(O)NH-arilo, -OC(O)NH-heterocicilo, -OC(O)NH-heteroarilo, -OC(S)NH-alquilo C<sub>1</sub> - C<sub>20</sub>, -OC(S)NH-alqueno C<sub>2</sub> - C<sub>20</sub>, -OC(S)NH-alquino C<sub>2</sub> - C<sub>20</sub>, -OC(S)NH-cicloalquilo, -OC(S)NH-arilo, -OC(S)NH-heterocicilo, -OC(S)NH-heteroarilo o R<sup>10</sup> y R<sup>11</sup> tomados juntos forman un grupo carbonilo (=O);
- 5 R<sup>12</sup> se selecciona de -OH, -O-alquilo C<sub>1</sub> - C<sub>20</sub>, -O-alqueno C<sub>2</sub> - C<sub>20</sub>, -O-alquino C<sub>2</sub> - C<sub>20</sub>, -O-cicloalquilo, -OC(O)alquilo C<sub>1</sub> - C<sub>20</sub>, -OC(O)alqueno C<sub>2</sub> - C<sub>20</sub>, -OC(O)alquino C<sub>2</sub> - C<sub>20</sub>, -OC(O)cicloalquilo, -OC(O)arilo, -OC(O)heterocicilo, -OC(O)heteroarilo, -OC(O)NH-alquilo C<sub>1</sub> - C<sub>20</sub>, -OC(O)NH-alqueno C<sub>2</sub> - C<sub>10</sub>, -OC(O)NH-alquino C<sub>2</sub> - C<sub>20</sub>, -OC(O)NH-cicloalquilo, -OC(O)NH-arilo, -OC(O)NH-heterocicilo, -OC(O)NH-heteroarilo, -OC(S)NH-alquilo C<sub>1</sub> - C<sub>20</sub>, -OC(S)NH-alqueno C<sub>2</sub> - C<sub>20</sub>, -OC(S)NH-alquino C<sub>2</sub> - C<sub>20</sub>, -OC(S)NH-cicloalquilo, -OC(S)NH-arilo, -OC(S)NH-heterocicilo, -OC(S)NH-heteroarilo;
- 10 R<sup>13</sup> y R<sup>14</sup> se seleccionan independientemente de hidrógeno y -alquilo C<sub>1</sub> - C<sub>10</sub>;
- R<sup>18</sup> se selecciona de -alquilo C<sub>1</sub> - C<sub>20</sub>, -alqueno C<sub>2</sub> - C<sub>20</sub>, -alquino C<sub>2</sub> - C<sub>20</sub>, -OH, -O-alquilo C<sub>1</sub> - C<sub>10</sub>, -O-alqueno C<sub>1</sub> - C<sub>10</sub>, -O-alquino C<sub>2</sub> - C<sub>20</sub>, -O-cicloalquilo, -OC(O)alquilo C<sub>1</sub> - C<sub>20</sub>, -OC(O)alqueno C<sub>2</sub> - C<sub>20</sub>, -OC(O)alquino C<sub>2</sub> - C<sub>20</sub>, -OC(O)cicloalquilo, -OC(O)arilo, -OC(O)heterocicilo, -OC(O)heteroarilo, -NH-alquilo C<sub>1</sub> - C<sub>20</sub>, -NH-alqueno C<sub>1</sub> - C<sub>20</sub>, -NH-alquino C<sub>2</sub> - C<sub>20</sub>, -NH-cicloalquilo, -NH-arilo, -NH-heterocicilo, -NH-heteroarilo, -OC(O)NH-alquilo C<sub>1</sub> - C<sub>20</sub>, -OC(O)NH-alqueno C<sub>2</sub> - C<sub>20</sub>, -OC(O)NH-alquino C<sub>2</sub> - C<sub>20</sub>, -OC(O)NH-cicloalquilo, -OC(O)NH-arilo, -OC(O)NH-heterocicilo, -OC(O)NH-heteroarilo, -OC(S)NH-alquilo C<sub>1</sub> - C<sub>10</sub>, -OC(S)NH-alqueno C<sub>2</sub> - C<sub>20</sub>, -OC(S)NH-alquino C<sub>2</sub> - C<sub>20</sub>, -OC(S)NH-cicloalquilo, -OC(S)NH-arilo, -OC(S)NH-heterocicilo, -OC(S)NH-heteroarilo;
- 15 R<sup>19</sup> y R<sup>20</sup> se seleccionan independientemente de hidrógeno, -alquilo C<sub>1</sub> - C<sub>6</sub>, -alqueno C<sub>2</sub> - C<sub>6</sub>, -alquino C<sub>2</sub> - C<sub>6</sub>, -OH, -O-alquilo C<sub>1</sub> - C<sub>6</sub>, -O-alqueno C<sub>2</sub> - C<sub>6</sub>, -O-alquino C<sub>2</sub> - C<sub>6</sub>, -O-cicloalquilo, -OC(O)alquilo C<sub>1</sub> - C<sub>4</sub>, -OC(O)alqueno C<sub>2</sub> - C<sub>6</sub>, -OC(O)alquino C<sub>2</sub> - C<sub>6</sub>, OC(O)cicloalquilo, -OC(O)arilo, -OC(O)heterocicilo, -OC(O)heteroarilo o R<sup>19</sup> y R<sup>20</sup> tomados juntos forman un grupo carbonilo o tiocarbonilo;
- 20 R<sup>21</sup> se selecciona de hidrógeno, -alquilo C<sub>1</sub> - C<sub>10</sub>, -alqueno C<sub>2</sub> - C<sub>10</sub> y -alquino C<sub>2</sub> - C<sub>10</sub>;
- R<sup>22</sup> se selecciona de -OH, -O-alquilo C<sub>1</sub> - C<sub>20</sub>, -O-alqueno C<sub>2</sub> - C<sub>20</sub>, -O-alquino C<sub>1</sub> - C<sub>20</sub>, -O-cicloalquilo, -OC(O)alquilo C<sub>1</sub> - C<sub>20</sub>, -OC(O)alqueno C<sub>2</sub> - C<sub>20</sub>, -OC(O)alquino C<sub>2</sub> - C<sub>20</sub>, -OC(O)cicloalquilo, -OC(O)arilo, -OC(O)heterocicilo, -OC(O)heteroarilo, -OC(O)NH-alquilo C<sub>1</sub> - C<sub>20</sub>, -OC(O)NH-alqueno C<sub>2</sub> - C<sub>20</sub>, -OC(O)NH-alquino C<sub>2</sub> - C<sub>20</sub>, -OC(O)NH-cicloalquilo, -OC(O)NH-arilo, -OC(O)NH-heterocicilo, -OC(O)NH-heteroarilo, -OC(S)NH-alquilo C<sub>1</sub> - C<sub>20</sub>, -OC(S)NH-alqueno C<sub>2</sub> - C<sub>20</sub>, -OC(S)NH-alquino C<sub>2</sub> - C<sub>20</sub>, -OC(S)NH-cicloalquilo, -OC(S)NH-arilo, -OC(S)NH-heterocicilo, -OC(S)NH-heteroarilo o R<sup>21</sup> y R<sup>22</sup> tomados juntos forman un grupo carbonilo;
- 25 R<sup>23</sup> se selecciona de hidrógeno, -OH, -O-alquilo C<sub>1</sub> - C<sub>20</sub>, -O-alqueno C<sub>2</sub> - C<sub>20</sub>, -O-alquino C<sub>2</sub> - C<sub>20</sub>, -O-cicloalquilo, -OC(O)alquilo C<sub>1</sub> - C<sub>20</sub>, -OC(O)alqueno C<sub>2</sub> - C<sub>20</sub>, -OC(O)alquino C<sub>2</sub> - C<sub>20</sub>, -OC(O)cicloalquilo, -OC(O)arilo, -OC(O)heterocicilo, -OC(O)heteroarilo, -OC(O)NH-alquilo C<sub>1</sub> - C<sub>20</sub>, -OC(O)NH-alqueno C<sub>2</sub> - C<sub>20</sub>, -OC(O)NH-alquino C<sub>2</sub> - C<sub>20</sub>, -OC(O)NH-cicloalquilo, -OC(O)NH-arilo, -OC(O)NH-heterocicilo, -OC(O)NH-heteroarilo, -OC(S)NH-alquilo C<sub>1</sub> - C<sub>20</sub>, -OC(S)NH-alqueno C<sub>2</sub> - C<sub>20</sub>, -OC(S)NH-alquino C<sub>2</sub> - C<sub>10</sub>, -OC(S)NH-cicloalquilo, -OC(S)NH-arilo, -OC(S)NH-heterocicilo, -OC(S)NH-heteroarilo;
- 30 R<sup>24</sup> se selecciona de hidrógeno, -OH, -O-alquilo C<sub>1</sub> - C<sub>20</sub>, -O-alqueno C<sub>2</sub> - C<sub>20</sub>, -O-alquino C<sub>1</sub> - C<sub>20</sub>, -O-cicloalquilo, -OC(O)alquilo C<sub>1</sub> - C<sub>20</sub>, -OC(O)alqueno C<sub>2</sub> - C<sub>20</sub>, -OC(O)alquino C<sub>2</sub> - C<sub>20</sub>, -OC(O)cicloalquilo, -OC(O)arilo, -OC(O)heterocicilo, -OC(O)heteroarilo, -OC(O)NH-alquilo C<sub>1</sub> - C<sub>20</sub>, -OC(O)NH-alqueno C<sub>2</sub> - C<sub>20</sub>, -OC(O)NH-alquino C<sub>2</sub> - C<sub>20</sub>, -OC(O)NH-cicloalquilo, -OC(O)NH-arilo, -OC(O)NH-heterocicilo, -OC(O)NH-heteroarilo, -OC(S)NH-alquilo C<sub>1</sub> - C<sub>20</sub>, -OC(S)NH-alqueno C<sub>2</sub> - C<sub>20</sub>, -OC(S)NH-alquino C<sub>2</sub> - C<sub>20</sub>, -OC(S)NH-cicloalquilo, -OC(S)NH-arilo, -OC(S)NH-heterocicilo, -OC(S)NH-heteroarilo;
- 35 R<sup>25</sup> se selecciona de hidrógeno y -alquilo C<sub>1</sub> - C<sub>10</sub>;
- R<sup>26</sup> y R<sup>27</sup> se seleccionan independientemente de hidrógeno, -alquilo C<sub>1</sub> - C<sub>10</sub>, -OH, -O-alquilo C<sub>1</sub> - C<sub>10</sub>;
- 40 en donde cada alquilo, alqueno, alquino, cicloalquilo, arilo, heterocicilo y heteroarilo está opcionalmente sustituido; e isómeros geométricos o estereoisómeros de los mismos y sales farmacéuticamente aceptables, aceptables para uso agrícola o como plaguicidas de los mismos;
- 45 con la advertencia de que el compuesto en el cual X es O, R<sup>1</sup> y R<sup>2</sup> son ambos =O, R<sup>3</sup> es metilo, R<sup>4</sup> y R<sup>5</sup> forman un doble enlace, R<sup>6</sup> es hidrógeno, R<sup>8</sup> es metilo, R<sup>10</sup> es hidrógeno, R<sup>11</sup> es OC(O)CH<sub>3</sub>, R<sup>12</sup> es OC(O)CH<sub>3</sub>, R<sup>13</sup> y R<sup>14</sup> son ambos metilo, R<sup>18</sup> es OC(O)CH<sub>3</sub>, R<sup>19</sup> y R<sup>20</sup> son ambos hidrógeno, R<sup>21</sup> es hidrógeno, R<sup>22</sup> es OH y R<sup>23</sup> es OH está excluido.
- 50

En una realización, el derivado de taglienona de fórmula (II) es un compuesto de fórmula (III)



en donde:

- 5  $R^3$  es hidrógeno, -alquilo  $C_1 - C_6$  o -alqueno  $C_2 - C_6$ ;
- $R^4$  y  $R^5$  son cada uno independientemente hidrógeno, -alquilo  $C_1 - C_6$ , -alqueno  $C_2 - C_6$ , -OH, -O-alquilo  $C_1 - C_6$ , -O-alqueno  $C_2 - C_6$ , -OC(O)alquilo  $C_1 - C_6$ , -OC(O)alqueno  $C_2 - C_6$ , -OC(O)arilo, -OC(O)heterociclilo, -OC(O)heteroarilo, F, Cl, Br o I, o  $R^4$  y  $R^5$  tomados juntos forman un doble enlace o son -O-;
- $R^6$  es hidrógeno, -alquilo  $C_1 - C_6$  o -alqueno  $C_2 - C_6$ ;
- $R^8$  es hidrógeno, -alquilo  $C_1 - C_6$  o -alqueno  $C_2 - C_6$ ;
- 10  $R^{13}$  y  $R^{14}$  son cada uno independientemente hidrógeno o -alquilo  $C_1 - C_6$ ;
- $R^a, R^b, R^c, R^d, R^e$  y  $R^f$  son cada uno independientemente seleccionados de hidrógeno, -alquilo  $C_1 - C_{20}$ , -alqueno  $C_2 - C_{20}$ , -alquino  $C_2 - C_{20}$ , -C(O)alquilo  $C_1 - C_{20}$ , -C(O)alqueno  $C_2 - C_{20}$ , -C(O)alquino  $C_2 - C_{20}$ , -C(O)cicloalquilo, -C(O)arilo, -C(O)heterociclilo, -C(O)heteroarilo, -C(O)NH-alquilo  $C_1 - C_{20}$ , -C(O)NH-alqueno  $C_2 - C_{20}$ , -C(O)NH-alquino  $C_2 - C_{20}$ , -C(O)NH-cicloalquilo, -C(O)NH-arilo, -C(O)NH-heterociclilo, -C(O)NH-heteroarilo, -C(S)NH-alquilo  $C_1 - C_{20}$ , -C(S)NH-alqueno  $C_2 - C_{20}$ , -C(S)NH-alquino  $C_2 - C_{20}$ , -C(S)NH-cicloalquilo, -C(S)NH-arilo, -C(S)NH-heterociclilo y -C(S)NH-heteroarilo;
- 15 en donde cada grupo alquilo, alqueno, arilo, heterociclilo y heteroarilo está opcionalmente sustituido; o isómeros geométricos o estereoisómeros y sales farmacéuticamente aceptables, aceptables para uso agrícola o como plaguicidas de los mismos.
- 20 En una realización preferida, el compuesto de fórmula (II) es un compuesto de fórmula IV



en donde:

- 25  $R^3$  es hidrógeno, -alquilo  $C_1 - C_6$  o -alqueno  $C_2 - C_6$ ;
- $R^4$  y  $R^5$  son cada uno independientemente hidrógeno, -alquilo  $C_1 - C_6$ , -alqueno  $C_2 - C_6$ , -OH, -O-alquilo  $C_1 - C_6$ , -O-alqueno  $C_2 - C_6$ , -O-C(O)alquilo  $C_1 - C_6$ , -OC(O)alqueno  $C_2 - C_6$ , -OC(O)arilo, -OC(O)heterociclilo, -

OC(O)heteroarilo, F, Cl, Br o I, o R<sup>4</sup> y R<sup>5</sup> tomados juntos forman un doble enlace o son -O-;

R<sup>6</sup> es hidrógeno, -alquilo C<sub>1</sub> - C<sub>6</sub> o -alqueno C<sub>2</sub> - C<sub>6</sub>;

R<sup>8</sup> es hidrógeno, -alquilo C<sub>1</sub> - C<sub>6</sub> o -alqueno C<sub>2</sub> - C<sub>6</sub>;

R<sup>10</sup> es hidrógeno;

5 R<sup>11</sup> es hidróxi, -O-alquilo C<sub>1</sub> - C<sub>20</sub>, -O-alqueno C<sub>2</sub> - C<sub>20</sub>, -OC(O)alquilo C<sub>1</sub> - C<sub>20</sub>, -OC(O)alqueno C<sub>2</sub> - C<sub>20</sub>, -OC(O)arilo, -OC(O)heterociclilo, -OC(O)heteroarilo; o R<sup>10</sup> y R<sup>11</sup> tomados juntos forman un grupo carbonilo;  
R<sup>12</sup> es hidrógeno, -alquilo C<sub>1</sub> - C<sub>20</sub>, -alqueno C<sub>2</sub> - C<sub>20</sub>, -C(O)alquilo C<sub>1</sub> - C<sub>20</sub>, -C(O)alqueno C<sub>2</sub> - C<sub>20</sub>, -C(O)arilo, -C(O)heterociclilo o -C(O)heteroarilo;

10 R<sup>13</sup> y R<sup>14</sup> son cada uno independientemente hidrógeno o -alquilo C<sub>1</sub> - C<sub>6</sub>;  
R<sup>18</sup> es hidrógeno, -alquilo C<sub>1</sub> - C<sub>6</sub>, -alqueno C<sub>2</sub> - C<sub>6</sub>, -C(O)alquilo C<sub>1</sub> - C<sub>6</sub>, -C(O)alqueno C<sub>2</sub> - C<sub>6</sub>, -C(O)arilo, -C(O)heterociclilo o -C(O)heteroarilo;

R<sup>19</sup> y R<sup>20</sup> se seleccionan independientemente de hidrógeno, -OH, -O-alquilo C<sub>1</sub> - C<sub>6</sub>, -O-alqueno C<sub>2</sub> - C<sub>6</sub> o R<sup>19</sup> y R<sup>20</sup> tomados juntos forman un grupo carbonilo;

15 R<sup>21</sup> es hidrógeno;  
R<sup>22</sup> es hidróxi, -O-alquilo C<sub>1</sub> - C<sub>6</sub>, -O-alqueno C<sub>2</sub> - C<sub>6</sub>, -OC(O)alquilo C<sub>1</sub> - C<sub>6</sub>, -OC(O)alqueno C<sub>2</sub> - C<sub>6</sub>, -OC(O)arilo, -OC(O)heterociclilo, -OC(O)heteroarilo o R<sup>21</sup> y R<sup>22</sup> tomados juntos forman un grupo carbonilo;

en donde cada alquilo, alqueno, arilo, heterociclilo o heteroarilo está opcionalmente sustituido;

20 e isómeros geométricos o estereoisómeros de los mismos y sales farmacéuticamente aceptables, aceptables para agricultura o como pesticidas de los mismos.

En realizaciones preferidas de fórmula II aplica al menos uno de lo siguiente:

25 R<sup>1</sup> y R<sup>2</sup> se seleccionan independientemente de hidrógeno o -OH o tomados juntos forman un grupo carbonilo;

R<sup>3</sup> es hidrógeno o -alquilo C<sub>1</sub> - C<sub>3</sub>, especialmente hidrógeno o metilo;

R<sup>4</sup> y R<sup>5</sup> son cada uno hidrógeno o R<sup>4</sup> y R<sup>5</sup> forman un doble enlace o son -O-;

R<sup>6</sup> es hidrógeno o -alquilo C<sub>1</sub> - C<sub>3</sub>, especialmente hidrógeno;

R<sup>8</sup> es hidrógeno o -alquilo C<sub>1</sub> - C<sub>3</sub>, especialmente hidrógeno o metilo;

R<sup>10</sup> es hidrógeno;

30 R<sup>11</sup> es -OH, -O-alquilo C<sub>1</sub> - C<sub>20</sub>, -O-alqueno C<sub>2</sub> - C<sub>20</sub>, -OC(O)alquilo C<sub>1</sub> - C<sub>20</sub>, -OC(O)alqueno C<sub>2</sub> - C<sub>20</sub>, especialmente -OC(O)alquilo C<sub>1</sub> - C<sub>15</sub> o -OC(O)alqueno C<sub>2</sub> - C<sub>15</sub>, donde cada grupo alqueno tiene uno o más dobles enlaces en donde los dobles enlaces pueden estar aislados o conjugados;

R<sup>12</sup> es -OH, -O-alquilo C<sub>1</sub> - C<sub>20</sub>, -O-alqueno C<sub>2</sub> - C<sub>20</sub>, -OC(O)alquilo C<sub>1</sub> - C<sub>20</sub> o -OC(O)alqueno C<sub>2</sub> - C<sub>20</sub>, especialmente -OC(O)alquilo C<sub>1</sub> - C<sub>10</sub>, -OC(O)alqueno C<sub>2</sub> - C<sub>10</sub>;

35 R<sup>13</sup> y R<sup>14</sup> son cada uno independientemente hidrógeno o -alquilo C<sub>1</sub> - C<sub>3</sub>, especialmente hidrógeno o metilo, más especialmente donde ambos R<sup>13</sup> y R<sup>14</sup> son metilo;

R<sup>18</sup> es -OH, -O-alquilo C<sub>1</sub> - C<sub>6</sub>, -O-alqueno C<sub>2</sub> - C<sub>6</sub>, -OC(O)alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> o -OC(O)alqueno C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>, especialmente -OH o -OC(O)alquilo C<sub>1</sub> - C<sub>3</sub>;

40 R<sup>19</sup> y R<sup>20</sup> se seleccionan independientemente de hidrógeno, -OH, -O-alquilo C<sub>1</sub> - C<sub>3</sub>, -O-alqueno C<sub>2</sub> - C<sub>3</sub> o R<sup>19</sup> y R<sup>20</sup> tomados juntos forman un grupo carbonilo, especialmente hidrógeno, hidróxi o juntos un grupo carbonilo;

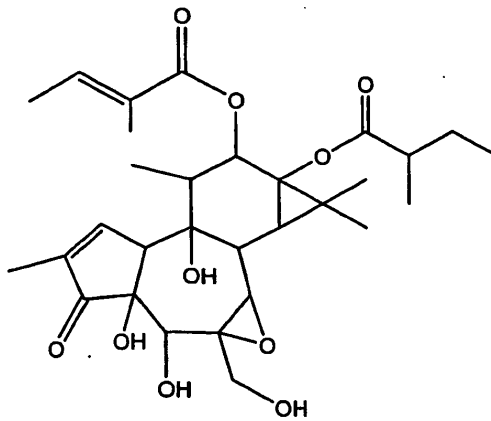
R<sup>21</sup> es hidrógeno;

R<sup>22</sup> es -OH, -O-alquilo C<sub>1</sub> - C<sub>6</sub>, -O-alqueno C<sub>2</sub> - C<sub>6</sub>, -OC(O)alquilo C<sub>1</sub> - C<sub>6</sub> o -OC(O)alqueno C<sub>2</sub> - C<sub>6</sub>, especialmente -OH o -OC(O)alquilo C<sub>1</sub> - C<sub>3</sub>;

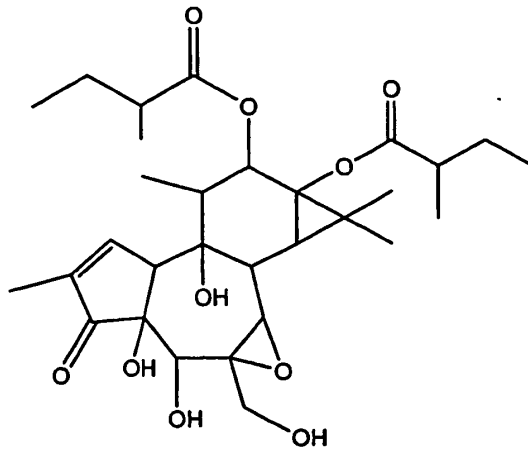
R<sup>23</sup> es -OH o -O-alquilo C<sub>1</sub> - C<sub>3</sub>, especialmente -OH;

45 R<sup>24</sup> es -OH o -O-alquilo C<sub>1</sub> - C<sub>3</sub>, especialmente -OH.

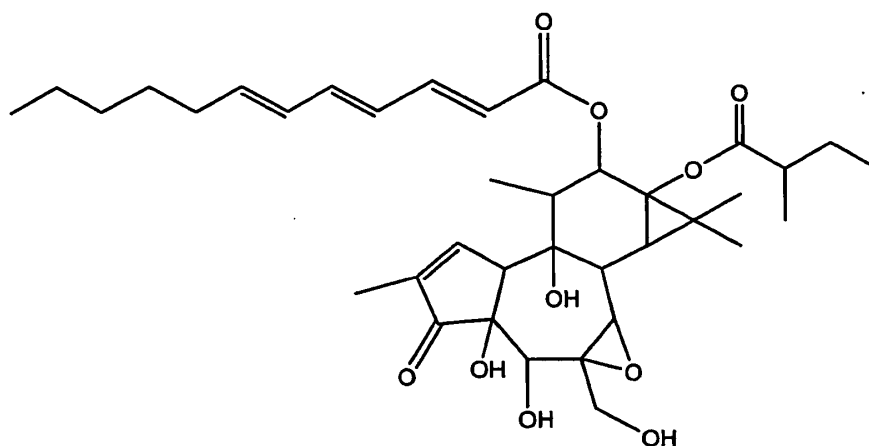
En una realización particular, el compuesto es un compuesto de fórmula II es 12-tigloil-13-(2-metilbutanoil)-6,7-epoxi-4,5,9,12,13,20-hexahidroxi-1-tiglicen-3-ona (EBI-46):



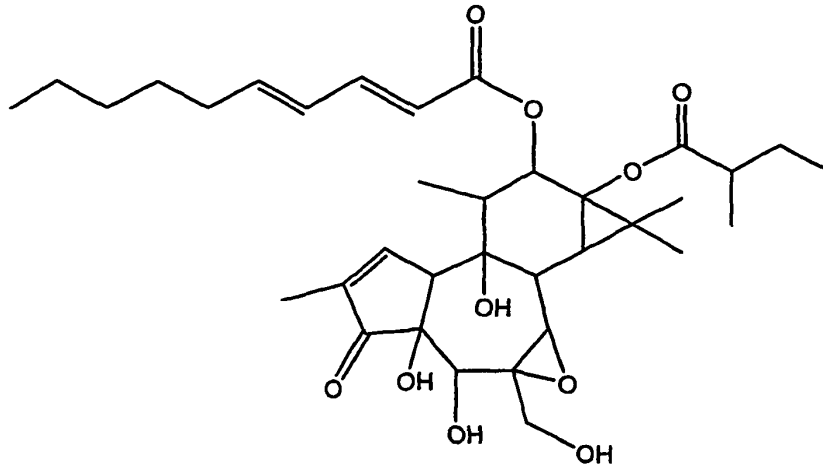
En otra realización el compuesto es 12,13-di-(2-metilbutanoil)-6,7-epoxi-4,5,9,12,13,20-hexahidroxitiglien-3-ona (EBI-47):



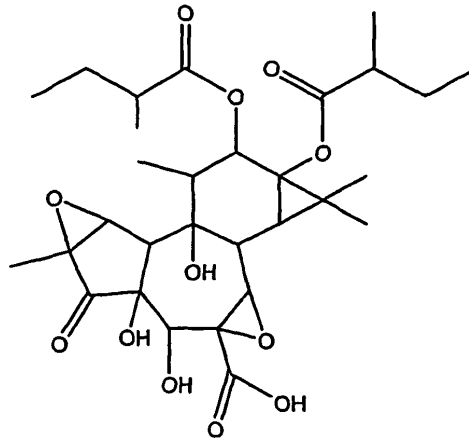
5 En aún otra realización particular, el compuesto es 12-(dodeca-2,4,6-trienoil)-13-(2-metilbutanoil)-6,7-epoxi-4,5,9,12,13,20-hexahidroxi-1-tiglien-3-ona (EBI-59):



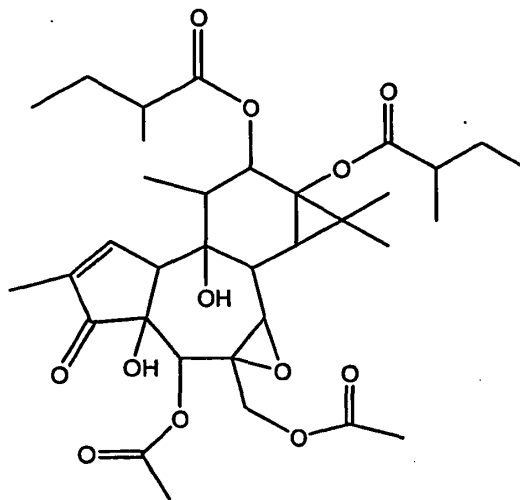
En incluso aún otra realización particular, el compuesto es 12-(deca-2,4-dienoil)-6,7-epoxi-4,5,9,12,13,20-hexahidroxi-1-tiglien-3-ona (EBI-61):



En aún otra realización, el compuesto es 12,13-di-(2-metilbutanoil)-1,2-2H-1,2,6,7-diepoxi-6-carboxi-4,5,9,12,13-pentahidroxi-tiglien-3-ona:



5 En aún otra realización, el compuesto es 12,13-di-(2-metilbutanoil)-5,20-di-acetoil-4,5,9,12,13,20-hexahidroxi-tiglien-3-ona:



10 El término "alquilo" se refiere a grupos hidrocarbonados lineales y ramificados opcionalmente sustituidos que tienen de 1 a 20 átomos de carbono. Cuando proceda, el grupo alquilo puede tener un número especificado de átomos de carbono, por ejemplo, alquilo C<sub>1</sub> - C<sub>6</sub> que incluye grupos alquilo que tienen 1, 2, 3, 4, 5 o 6 átomos de carbono en disposición lineal o ramificada. Los ejemplos no limitantes de grupos alquilo incluyen metilo, etilo, propilo, isopropilo, butilo, s y t-butilo, pentilo, 2-metilbutilo, 3-metilbutilo, hexilo, 2 - metilpentilo, 3-metilpentilo, 4-metilpentilo, 2 -etilbutilo,

3-etilbutilo, heptilo, octilo, nonilo, decilo, undecilo, dodecilo, tridecilo, tetradecilo, pentadecilo.

El término "alqueno" se refiere a hidrocarburos insaturados, lineales o ramificados, opcionalmente sustituidos, que tienen 2 a 20 átomos de carbono y que tienen al menos un doble enlace. Cuando sea apropiado, el grupo alqueno puede tener un número especificado de átomos de carbono, por ejemplo, alqueno C<sub>2</sub> - C<sub>6</sub> que incluye grupos alqueno que tienen 2, 3, 4, 5 o 6 átomos de carbono en disposiciones lineal o ramificada. Los ejemplos no limitantes de grupos alqueno incluyen, etenilo, propenilo, isopropenilo, butenilo, s y t-butenilo, pentenilo, hexenilo, hepta-1,3-dieno, hexa-1,3-dieno, nona-1,3,5-trieno y similares.

El término "alquino" se refiere a hidrocarburos no saturados, lineales o ramificados, opcionalmente sustituidos, que tienen 2 a 20 átomos de carbono, que tienen al menos un triple enlace. Cuando sea apropiado, el grupo alquino que puede tener un número especificado de átomos de carbono, por ejemplo, alquino C<sub>2</sub> - C<sub>6</sub> que incluye grupos alquino que tienen 2, 3, 4, 5 o 6 átomos de carbono en disposiciones lineal o ramificada. Los ejemplos no limitantes incluyen etinilo, propinilo, butinilo, pentinilo y hexinilo.

Los términos "cicloalquilo" y "carbocíclico" se refieren a grupos hidrocarbonados monocíclicos, bicíclicos o tricíclicos saturados o insaturados opcionalmente sustituidos. Cuando sea apropiado, el grupo cicloalquilo puede tener un número especificado de átomos de carbono, por ejemplo, cicloalquilo C<sub>3</sub> - C<sub>6</sub> es un grupo carbocíclico que tiene 3, 4, 5 o 6 átomos de carbono. Los ejemplos no limitantes pueden incluir ciclopropilo, ciclobutilo, ciclopentilo, ciclopentenilo, ciclohexilo, ciclohexenilo, ciclohexadienilo y similares.

"Ariolo" significa un sistema anular carbocíclico monocíclico, bicíclico o tricíclico de C<sub>6</sub> - C<sub>14</sub> miembros que tiene hasta 7 átomos en cada anillo, en donde al menos un anillo es aromático. Los ejemplos de grupos ariolo incluyen, pero no se limitan a, fenilo, naftilo, tetrahidronaftilo, indanilo y bifenilo. El ariolo puede incluir 1 - 3 anillos bencénicos. Si dos o más anillos aromáticos están presentes, entonces los anillos pueden estar fusionados entre sí, de manera que los anillos adyacentes comparten un enlace común.

"Heterocíclico" o "heterociclilo" se refieren a un anillo no aromático que tiene de 3 a 8 átomos en el anillo y de esos átomos de 1 a 4 son heteroátomos, estando dicho anillo aislado o fusionado a un segundo anillo seleccionado de un anillo alicíclico de 3 a 7 miembros que contiene de 0 a 4 heteroátomos, en donde dichos heteroátomos se seleccionan independientemente entre O, N y S. Heterocíclico incluye grupos heterocíclicos parcial y totalmente saturados. Los sistemas heterocíclicos pueden estar unidos a otra estructura funcional a través de cualquier número de átomos de carbono o heteroátomos del radical y pueden ser tanto saturados como insaturados, que incluyen todas las formas de estructuras funcionales de carbohidratos. Los ejemplos no limitantes de heterocíclico incluyen pirrolidinilo, pirrolinilo, piranilo, piperidinilo, piperazinilo, morfolinilo, tetrahidrofuranilo, tetrahidrotiofenilo, pirazolinilo, ditiolilo, oxatiolilo, dioxanilo, dioxinilo, oxazinilo, azepinilo, diazepinilo, tiazepinilo, oxepinilo y tiapinilo, imidazolinilo, tiomorfolinilo, y similares.

El término "heteroarilo", como se usa aquí significa un anillo monocíclico o bicíclico de hasta 7 átomos en cada anillo, en donde al menos un anillo es aromático y al menos un anillo contiene de 1 - 4 heteroátomos, seleccionados entre azufre, oxígeno y nitrógeno. Heteroarilo incluye, pero no se limitan a, oxazolilo, tiazolilo, tienilo, furilo, 1-isobenzofuranilo, pirrolilo, imidazolilo, pirazolilo, isotiazolilo, isoxazolilo, piridilo, pirazinilo, pirimidinilo, piradazinilo, indolizínilo, isoindolilo, indolilo, purinilo, ftalazinilo, 1,2,3-triazolilo, 1,2,4-triazolilo, 1,2,3-oxadiazolilo, 1,2,4-oxadiazolilo, 1,2,5-oxadiazolilo, 1,3,4-oxadiazolilo, 1,2,3,4-oxatriazolilo, 1,2,3,5-oxatriazolilo, 1,3,5-triazinilo, 1,2,4-triazinilo, 1,2,3-triazinilo, benzofuranilo, isobenzofuranilo, tionaftenilo, isotionaftenilo, indolinilo, 2-isobenzazoliol, 1,5-pirindinilo, pirano[3,4-b]pirrolilo, isoindazolilo, indoxazinilo, benzoxazolilo, quinolinilo, isoquinolinilo, cinolinilo, quinazolinilo, naftiridinilo, pirido[3,4-b]piridinilo, pirido[3, 2-b]piridinilo, pirido[4,3-b]piridinilo, acridinilo, carbazolilo, quinaoxalinilo, pirazolilo, benzotriazolilo, tiofenilo, isoquinolinilo, piridinilo, tetrahidroquinolinilo, benzazepinilo, benzodioxanilo, benzoxepinilo, benzodiazepinilo, benzotiazepinilo y benzotiepinilo y similares.

Cada grupo alquilo, alqueno, alquino, cicloalquilo, ariolo, heterociclilo y heteroarilo están opcionalmente sustituidos con uno o más sustituyentes seleccionados independientemente entre -F, -Cl, -Br, -I, -CN, -CF<sub>3</sub>, -CO<sub>2</sub>R<sup>28</sup>, -COR<sup>28</sup>, -OR<sup>28</sup>, -SR<sup>28</sup>, -N(R<sup>28</sup>)<sub>2</sub>, -NO<sub>2</sub>, -NR<sup>28</sup>OR<sup>28</sup>, -ON(R<sup>28</sup>)<sub>2</sub>, -SOR<sup>28</sup>, -SO<sub>2</sub>R<sup>28</sup>, -SO<sub>3</sub>R<sup>28</sup>, -SON(R<sup>28</sup>)<sub>2</sub>, -SON(R<sup>28</sup>)<sub>2</sub>, -SO<sub>3</sub>N(R<sup>28</sup>)<sub>2</sub>, -P(R<sup>28</sup>)<sub>3</sub>, -P(=O)(R<sup>28</sup>)<sub>3</sub>, -OSi(R<sup>28</sup>)<sub>3</sub>, -OB(R<sup>28</sup>)<sub>2</sub> en donde R<sup>28</sup> es como se definió anteriormente.

De acuerdo con algunas realizaciones, la invención proporciona una sal farmacéuticamente aceptable, aceptable para uso agrícola o como plaguicida de un compuesto de fórmula (II).

Los términos "sales farmacéuticamente aceptables", "sales aceptables para uso agrícola" y "sales aceptables como plaguicidas" como se usa aquí, se refieren a sales que son toxicológicamente seguras para administración sistémica o tópica a un ser humano o animal o aquellas que se pueden aplicar en forma segura a una planta o medio ambiente. Las sales farmacéuticamente aceptables, aceptables para uso agrícola o como plaguicidas se pueden seleccionar del grupo que incluye, pero no se limita a sales alcalinas y alcalinotérricas, de amonio, de aluminio, de hierro, de amino, de glucosamina, de cloruro, de sulfato, de sulfonato, de bisulfato, de nitrato, de citrato, de tartrato, de bitartrato, de fosfato, de carbonato, de bicarbonato, de malato, de maleato, de napsilato, de fumarato, de



succinato, de acetato, de benzoato, de tereftalato, de pamoato, de pectinato y de s-metil metionina, de piperazina y similares.

5 También se reconocerá que los compuestos de la invención pueden poseer centros asimétricos y son por lo tanto capaces de existir en más de una forma estereoisomérica. La invención también se refiere por lo tanto a compuestos en forma isomérica sustancialmente pura en uno o más centros asimétricos por ejemplo, aproximadamente mayor al 90% de exceso enantiomérico (ee), tal como aproximadamente 95% o 97% de ee o mayor al 99% de ee, así como mezclas, incluyendo mezclas racémicas de los mismos. Tales isómeros pueden obtenerse por aislamiento de  
10 fuentes naturales, por síntesis asimétrica, por ejemplo usando intermediarios quirales, o por resolución quiral. Los compuestos de la invención pueden existir como isómeros geométricos. La invención también se refiere a compuestos en formas cis (Z) o trans (E) sustancialmente puras o mezclas de los mismos.

15 Los compuestos de la presente invención pueden obtenerse por aislamiento a partir de una planta o parte de la planta, o por formación de derivados del compuesto aislado, o por formación de derivados de un compuesto relacionado.

Preferiblemente, la planta es del género *Fontainea* o *Hylandia*.

20 Preferiblemente, la especie es *Fontainea pancheri*, *Fontainea australis*, *Fontainea borealis*, *Fontainea fugax*, *Fontainea oraria*, *Fontainea picrosperma*, *Fontainea rostrata*, *Fontainea subpapuana*, *Fontainea venosa* o *Hylandia dockrillii*, especialmente *Fontainea picrosperma* *Fontainea venosa* o *Hylandia dockrillii*.

Las partes de la planta pueden incluir frutos, semillas, corteza, hojas, flores, raíces y madera.

25 Preferiblemente, el extracto se obtiene de la semilla, la corteza y/o las flores.

30 Por ejemplo, la biomasa obtenida a partir de semillas, hojas, flores y la corteza de la planta es sometida a extracción inicial con disolvente, por ejemplo con un disolvente polar tal como metanol. La extracción inicial se concentra luego y se diluye con agua y se somete a extracción con un segundo disolvente, por ejemplo, acetato de etilo. El disolvente y las muestras de la segunda extracción se reúnen y someten a separación por medio de fraccionamiento con HPLC preparativa. Las fracciones se analizan mediante HPLC analítica y se agruparon de acuerdo con el tiempo de retención de los compuestos encontrados en las muestras. Las fracciones reunidas se pesan, se bioensayan y se analizan por HPLC analítica. Se lleva a cabo un fraccionamiento adicional mediante el uso de una o más HPLC preparativas para aislar compuestos específicos. Cada compuesto se bioensaya y se identifica su  
35 estructura por medio de técnicas de UV, RMN y espectrometría de masas.

40 Otros compuestos de la invención se pueden obtener por derivación de compuestos aislados de plantas o partes de plantas, especialmente del género *Fontainea*, especialmente de la especie *Fontainea picrosperma*, especialmente de las semillas, de la corteza y/o de las flores de *Fontainea picrosperma*.

45 Los derivados de los compuestos naturales se pueden obtener por medio de técnicas conocidas en la técnica. Por ejemplo, los grupos hidroxilo pueden ser oxidados, a cetonas, aldehídos o ácidos carboxílicos por la exposición a agentes oxidantes tales como ácido crómico, reactivo de Jones,  $\text{KMnO}_4$ , perácidos tales como mCPBA (ácido metacloroperbenzoico) o dioxiranos tales como dimetildioxirano (DMDO) y metil(trifluorometil)dioxirano (TFDO). Los agentes oxidantes se pueden elegir de tal manera que otros grupos funcionales en la molécula sean o no oxidados también. Por ejemplo, un alcohol primario puede ser selectivamente oxidado a un aldehído o ácido carboxílico en presencia de alcoholes secundarios usando reactivos tales como  $\text{RuCl}_2(\text{PPh}_3)_3$ -benceno. Los alcoholes secundarios pueden ser selectivamente oxidados a cetonas en presencia de un alcohol primario usando  $\text{Cl}_2$ -piridina o nitrato amónico cérico -  $\text{NaBrO}_3$ . Los alcoholes pueden ser oxidados en presencia de enlaces dobles y triples y sin epimerización en estereocentros adyacentes usando el reactivo de Jones con o sin Celita (o cloruro de amonio). Alternativamente, los reactivos elegidos pueden ser menos selectivos lo que resulta en la oxidación de más de un grupo funcional.

50 Los grupos hidroxilo también se pueden derivar por eterificación o acilación. Por ejemplo, se pueden preparar éteres por formación de un ión alcóxido en presencia de una base y hacer reaccionar el alcóxido con un haluro de alquilo apropiado, haluro de alqueno, haluro de alquino o haluro de arilo. Del mismo modo, se puede lograr la acilación mediante la formación de un ión alcóxido y reacción con un ácido carboxílico apropiado o ácido carboxílico activado (tal como un anhídrido).

60 Se pueden formar derivados de los grupos hidroxilo para proporcionar carbamatos o tiocarbamatos por reacción con isocianatos o isotiocianatos.

Los ácidos carboxílicos se pueden convertir a tioésteres o tioamidas utilizando reactivo de Lawesson.

Los grupos acilo se pueden hidrolizar para proporcionar alcoholes por medio de hidrólisis ácida o básica como se conoce en la técnica y se pueden formar adicionalmente derivados de los alcoholes como anteriormente.

5 Las cetonas pueden ser reducidas a alcoholes secundarios mediante agentes reductores tales como hidruro de litio y aluminio y otros hidruros metálicos sin reducir los dobles enlaces, incluyendo cetonas insaturadas en  $\alpha$ .

10 Los enlaces dobles y los enlaces triples se puede reducir a enlaces sencillos utilizando reducción catalítica, por ejemplo,  $H_2/Pd$ . Los dobles enlaces también pueden oxidarse a epóxidos utilizando agentes oxidantes tales como perácidos, por ejemplo mCPBA o dioxiranos, tales como DMDO y TFDO. Los dobles enlaces también pueden ser sometidos a reacciones de adición para introducir sustituyentes tales como grupos halo, grupos hidroxilo o alcoxi y aminas.

15 Una persona capacitada en la técnica estaría en capacidad de determinar las condiciones adecuadas para la obtención de derivados de compuestos aislados, por ejemplo, por referencia a textos relacionados con la metodología de síntesis, ejemplos de los cuales son Smith M. B. y March J., March's Advanced Organic Chemistry, Quinta Edición, John Wiley & Sons Inc., 2001 y Larock R. C., Comprehensive Organic Transformations, VCH Publishers Ltd., 1989. Además, la manipulación selectiva de los grupos funcionales pueden requerir de la protección de otros grupos funcionales. Los grupos protectores adecuados para evitar reacciones secundarias no deseadas se suministran en Green y Wuts, Protective Groups in Organic Synthesis, John Wiley & Sons Inc., 3<sup>era</sup> Edición, 1999.

20 Aún otro aspecto de la invención proporciona una composición farmacéutica o plaguicida como se define en la reivindicación 15. Las composiciones farmacéuticas son adecuadas para el tratamiento o profilaxis de una enfermedad o afección que comprende una cantidad eficaz de uno o más compuestos de fórmula (II), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, y un vehículo farmacéuticamente aceptable, diluyente y / o excipiente.

25 La forma y las proporciones de las dosis para uso farmacéutico y las composiciones pueden ser determinadas fácilmente por una persona capacitada en la técnica.

30 Las formas de dosificación incluyen comprimidos, dispersiones, suspensiones, inyecciones, soluciones, jarabes, pastillas, cápsulas, supositorios, aerosoles, parches transdérmicos, cremas, geles y similares. Estas formas de dosificación pueden incluir también dispositivos para inyectar o implantar diseñados específicamente para, o modificados para, liberación controlada de la composición farmacéutica. La liberación controlada del agente terapéutico puede efectuarse mediante el recubrimiento del mismo, por ejemplo, con polímeros hidrófobos que incluyen resinas acrílicas, ceras, alcoholes alifáticos superiores, y ácidos poliláctico y poliglicólico y ciertos derivados de celulosa tales como hidroxipropil metilcelulosa. Además, la liberación controlada puede verse afectada mediante el uso de otras matrices poliméricas, liposomas y/o microesferas.

35 Los vehículos farmacéuticamente aceptables y los excipientes aceptables para administración sistémica también pueden ser incorporados en las composiciones de esta invención.

40 Convenientemente, la composición farmacéutica incluye un excipiente farmacéuticamente aceptable o un excipiente aceptable. Por "excipiente farmacéuticamente aceptable" se entiende un relleno sólido o líquido, diluyente o sustancia de encapsulación que puede utilizarse de manera segura. Dependiendo de la vía particular de administración, pueden usarse una variedad de vehículos, bien conocidos en la técnica. Estos vehículos o excipientes pueden seleccionarse de un grupo que incluye azúcares, almidones, celulosa y sus derivados, malta, gelatina, talco, sulfato de calcio, aceites vegetales, aceites sintéticos, polioles, ácido algínico, soluciones amortiguadas de fosfato, emulsionantes, solución salina isotónica y agua libre de pirógenos.

50 Cualquier ruta de administración adecuada puede ser empleada para suministrarle a un paciente humano o no humano la composición farmacéutica de la invención. Por ejemplo, se pueden emplear por vía oral, rectal, parenteral, sublingual, bucal, intravenosa, intraarticular, intramuscular, intradérmica, subcutánea, por inhalación, intraocular, intraperitoneal, intracerebroventricular, transdérmica y similares.

55 Las composiciones farmacéuticas de la presente invención adecuadas para administración pueden presentarse en forma de unidades discretas tales como viales, cápsulas, sobres o comprimidos conteniendo cada una cantidad predeterminada de uno o más compuestos farmacéuticamente activos de la invención, tales como un polvo o gránulos o como una solución o una suspensión en un líquido acuoso, un líquido no acuoso, una emulsión de aceite en agua o una emulsión de agua en aceite o como una solución o suspensión en una crema o gel. Tales composiciones pueden prepararse por medio de cualquiera de los métodos farmacéuticos, pero todos los métodos incluyen la etapa de poner en contacto uno o más compuestos farmacéuticamente activos de la invención con el vehículo que constituye uno o más ingredientes necesarios. En general, las composiciones se preparan mezclando uniforme e íntimamente los agentes de la invención con vehículos líquidos o vehículos sólidos finamente divididos o ambos, y luego, si es necesario, dando forma al producto en la presentación deseada.

60 En polvos, el vehículo es un sólido finamente dividido que está en una mezcla con el componente activo finamente dividido.

65

En los comprimidos, el componente activo se mezcla con el vehículo que tiene la capacidad necesaria de enlazamiento en proporciones adecuadas y se compacta en la forma y tamaño deseados.

5 Los polvos y comprimidos contienen preferiblemente de cinco o diez hasta aproximadamente setenta por ciento del compuesto activo. Los vehículos adecuados son carbonato de magnesio, estearato de magnesio, talco, azúcar, lactosa, pectina, dextrina, almidón, gelatina, tragacanto, metilcelulosa, carboximetilcelulosa sódica, una cera de bajo punto de fusión, manteca de cacao, y similares. El término "preparación" pretende incluir la formulación del compuesto activo con material para encapsulación como vehículo que proporciona una cápsula en la que el componente activo, con o sin portadores, está rodeado por un vehículo, que está así en asociación con él. De forma similar, están incluidos tabletas y grageas. Los comprimidos, polvos, cápsulas, píldoras, tabletas y grageas pueden utilizarse como formas sólidas adecuadas para administración oral.

10 Para la preparación de supositorios, una cera de bajo punto de fusión, tal como una mezcla de glicéridos de ácidos grasos o manteca de cacao, se funde primero y el componente activo se dispersa homogéneamente en ella, por medio de agitación. La mezcla homogénea fundida se vierte entonces en moldes de tamaño conveniente, se deja enfriar, y de ese modo solidificar.

15 Las formulaciones adecuadas para administración vaginal pueden presentarse como pesarios, tampones, cremas, geles, pastas, espumas o atomizadores que contienen, además del ingrediente activo vehículos que se consideran apropiados tales como los conocidos en la técnica.

20 Preparaciones en forma líquida incluyen soluciones, suspensiones y emulsiones, por ejemplo agua, o soluciones de propilenglicol en agua. Por ejemplo, las preparaciones líquidas para inyección parenteral pueden formularse como disoluciones en solución acuosa de polietilenglicol.

25 Los compuestos de acuerdo con la presente invención pueden por lo tanto formularse para la administración parenteral (por ejemplo, por inyección, por ejemplo inyección de bolo o infusión continua) y pueden presentarse en forma de dosis unitaria en ampollas, jeringas precargadas, infusión de pequeño volumen o en contenedores para múltiples dosis con un conservante añadido. Las composiciones pueden tomar formas tales como suspensiones, soluciones o emulsiones en vehículos oleosos o acuosos, y pueden contener agentes de formulación tales como agentes de suspensión, estabilizantes y/o dispersantes. Alternativamente, el ingrediente activo puede estar en forma de polvo, obtenido por aislamiento aséptico de un sólido estéril o por liofilización de una solución, para su reconstitución con un vehículo adecuado, por ejemplo agua estéril, libre de pirógenos, antes de utilizarlo.

30 Las soluciones acuosas adecuadas para uso oral pueden prepararse disolviendo el componente activo en agua y añadiendo colorantes, aromatizantes, estabilizantes y espesantes adecuados, según se desee.

35 Las suspensiones acuosas adecuadas para uso oral se pueden preparar dispersando el componente activo finamente dividido en agua con un material viscoso, tal como gomas naturales o sintéticas, resinas, metilcelulosa, carboximetilcelulosa de sodio, u otros agentes de suspensión bien conocidos.

40 También se incluyen preparaciones en forma sólida que están destinadas a convertirse, poco antes de ser usadas, en preparaciones en forma líquida para administración oral. Tales formas líquidas incluyen soluciones, suspensiones y emulsiones. Estas preparaciones pueden contener, además del componente activo, agentes colorantes, aromatizantes, estabilizantes, amortiguadores, edulcorantes artificiales y naturales, dispersantes, espesantes, solubilizantes, y similares.

45 Para administración tópica a la epidermis, los compuestos de acuerdo con la invención se pueden formular como ungüentos, cremas o lociones, o como un parche transdérmico. Los ungüentos y cremas pueden, por ejemplo, formularse con una base acuosa u oleosa con la adición de agentes espesantes y/o gelificantes. Las lociones pueden formularse con una base acuosa u oleosa y en general también contendrán uno o más agentes emulsionantes, agentes estabilizantes, agentes dispersantes, agentes de suspensión, agentes espesantes, o agentes colorantes.

50 Las formulaciones adecuadas para administración tópica en la boca incluyen grageas que contienen el agente activo en una base aromatizada, normalmente sacarosa y acacia o tragacanto; las pastillas que contienen el ingrediente activo en una base inerte tal como gelatina y glicerina o sacarosa y acacia; y enjuagues bucales que contienen el ingrediente activo en un vehículo líquido adecuado.

55 Las soluciones o suspensiones se aplican directamente a la cavidad nasal por medios convencionales, por ejemplo con un cuentagotas, pipeta o atomizador. Las formulaciones pueden proporcionarse en forma individual o para múltiples dosis. En el último caso de un cuentagotas o pipeta, esto puede lograrse mediante la administración al paciente de un volumen predeterminado apropiado de la solución o suspensión. En el caso de un atomizador, esto puede lograrse por ejemplo por medio de una bomba dosificadora que rocía el compuesto en forma atomizada. Para mejorar la administración nasal y la retención, se pueden encapsular los compuestos de acuerdo con la invención

60

65

con ciclodextrinas, o formularlos con agentes que se espera que mejoren el suministro y la retención en la mucosa nasal.

5 La administración al tracto respiratorio también puede conseguirse por medio de una formulación en aerosol en la cual se suministra el ingrediente activo en un envase presurizado con un propulsor adecuado tal como un clorofluorocarbono (CFC), por ejemplo, diclorodifluorometano, triclorofluorometano o diclorotetrafluoroetano, dióxido de carbono, u otro gas adecuado. El aerosol puede convenientemente contener también un surfactante tal como lecitina. La dosis de fármaco puede controlarse mediante la provisión de una válvula dosificadora.

10 Alternativamente, los ingredientes activos pueden proporcionarse en forma de un polvo seco, por ejemplo una mezcla de polvo del compuesto en una base en polvo adecuada tal como lactosa, almidón, derivados de almidón tales como hidroxipropilmetil celulosa y polivinilpirrolidona (PVP).

15 Convenientemente, el vehículo en polvo formará un gel en la cavidad nasal. La composición en polvo puede presentarse en forma de dosis unitarias por ejemplo en cápsulas o cartuchos, por ejemplo, de gelatina o envases tipo blíster a partir de los cuales puede administrarse el polvo por medio de un inhalador.

20 En formulaciones destinadas a ser administradas al tracto respiratorio, incluyendo formulaciones intranasales, el compuesto tendrá generalmente un tamaño de partícula pequeño, por ejemplo del orden de 1 a 10 micrómetros o menos. Tal tamaño de partícula puede obtenerse por medios conocidos en la técnica, por ejemplo por micronización.

25 Los compuestos activos de fórmula (II) y de las composiciones de esta invención están presentes en una cantidad suficiente para prevenir, inhibir o mejorar una enfermedad o condición. Las dosis adecuadas de los compuestos de fórmula (II) y las composiciones farmacéuticas que los contienen pueden ser determinadas fácilmente por aquellos capacitados en la técnica.

30 En un aspecto aún adicional de la invención, se proporciona un compuesto de fórmula (II) como se define en la reivindicación 14, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para uso en un método de tratamiento o profilaxis de una enfermedad o condición. El método puede comprender la administración a un individuo que requiera de tal tratamiento de una cantidad efectiva de uno o más compuestos de acuerdo con la fórmula (II) o de una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos.

35 En aún otro aspecto de la invención, se provee el uso del compuesto de fórmula (II) como se define en la reivindicación 16, o de una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en la fabricación de un medicamento para uso en un método como el definido en la reivindicación 16 o en la reivindicación 24; o el uso de un compuesto de fórmula (II) como se define ya sea en la reivindicación 17 o en la reivindicación 23, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en la fabricación de un medicamento para uso en un método como se define en cualquiera de las reivindicaciones 17 a 23. El uso puede ser de uno o más de los compuestos de acuerdo con la fórmula (II), o de un sal farmacéuticamente aceptable de los mismos.

40 Los ejemplos no limitantes de una enfermedad o condición son una infección bacteriana, una infestación por parásitos y un trastorno proliferativo celular. En realizaciones no limitantes, los compuestos de fórmula (II) tienen una o más actividades seleccionadas entre actividad antiparasitaria (por ejemplo, contra un endoparásito y/o ectoparásito, tal como, *Haemonchus contortus*), actividad antibiótica (por ejemplo, contra *Bacillus subtilis*), actividad contra protozoarios (por ejemplo, contra *Giardia* sp. Portland) actividad citotóxica (por ejemplo, contra un carcinoma de células basales y/o un carcinoma de células escamosas y/o un melanoma y/o actividad antitumoral (por ejemplo, contra una leucemia, un melanoma, un cáncer de próstata, un cáncer de mama, un cáncer de ovario y/o otros cánceres de tumor sólido).

50 En un aspecto de la invención, se proporciona un compuesto de fórmula (II) como se define en la reivindicación 16, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para uso en un método de tratamiento o prevención de una infección bacteriana, parasitaria o por protozoarios.

55 En algunas realizaciones, la infección es una infección bacteriana o parasitaria en un individuo.

En realización preferidas, el compuesto de fórmula (II) es 12-tigloil-13-(2-metilbutanoil)-6,7-epoxi-4,5,9,12,13,20-hexahidroxi-1-tiglien-3-ona (EBI-46).

60 La infección bacteriana puede ser causada por bacterias Gram positivas o Gram negativas, en particular por bacterias Gram positivas. Los ejemplos no limitantes de bacterias que son controladas por los compuestos de la invención incluyen bacterias del género *Bacillus*, tales como *B. subtilis*, *B. anthracis*, *B. cereus*, *B. firmis*, *B. licheniformis*, *B. megaterium*, *B. pumilus*, *B. coagulans*, *B. pantothenicus*, *B. alvei*, *B. brevis*, *B. circubins*, *B. laterosporus*, *B. macerans*, *B. polymyxa*, *B. stearothermophilus*, *B. thuringiensis* y *B. sphaericus*; Estafilococos tales como *S. aureus*, *S. epidermidis*, *S. haemolyticus*, *S. saprophyticus*; Estreptococos, por ejemplo, *S. pyrogenes*, *S. pneumoniae*, *S. alagactiae*, *S. dysgalactiae*, *S. equisimilis*, *S. equi*, *S. zooepidemicus*, *S. anginosus*, *S. salwarius*, *S.*

65

*milleri*, *S. sanguis*, *S. mitior*, *S. mutans*, *S. faecalis*, *S. faecium*, *S. bovis*, *S. equinus*, *S. uberus* y *S. avium*; *Aerococcus* spp., *Gemella* spp., *Corynebacterium* spp., *Listeria* spp., *Kurthia* spp., *Lactobacillus* spp., *Erysipelothrix* spp., *Arachnia* spp., *Actinomyces* spp., *Propionibacterium* spp., *Rothia* spp., *Bifidobacterium* spp., *Clostridium* spp., *Eubacterium* spp., *Nocardia* spp. y *Mycobacterium* spp.

5 En otro aspecto de la invención, se proporciona un método de tratamiento o prevención de una infección parasitaria en una planta que comprende la administración a la planta de un compuesto de fórmula (II) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

10 En realizaciones preferidas, el parásito es un helminto (gusano), especialmente nematodos, trematodos, cestodos, tales como *Haemonchus contortus*, *Trichinella spiralis*, *H. placei*, *Bursaphelenchus xylophilus*, *Ostertagia circumcincta*, *O. ostertagi*, *Mecistocirrus digitatus*, *Trychostrongylus axei*, *Trichuris trichiura*, *T. vulpis*, *T. campanula*, *T. suis*, *T. ovis*, *Bunostomum trigonocephalum*, *B. phlebotomum*, *Oesophagostomum columbianum*, *O. radiatum*,  
15 *Cooperia curticei*, *C. punctata*, *C. oncophora*, *C. pectinata*, *Strongyloides papillosus*, *Chabertia ovina*, *Ancylostoma duodenale*, *A. brasiliense*, *A. tubaeforme*, *A. caninum*, *Ascaris lumbricoides*, *Enterobius vermicularis*, *E. gregorii*, *Ascaris lumbricoides*, *Paragonimus westermani*, *Clonorchis sinensis*, *Fasciola hepatica*, *Taenia solium*, *T. saginata*, *Capillaria aerophila*, *Necator americanus*, especies del género *Trichuris*, *Baylisascaris*, *Aphelenchoides*, *Melioidogyne*, *Heterodera*, *Globodera*, *Nacobbus*, *Pratylenchus*, *Ditylenchus*, *Xiphinema*, *Longidorus*, *Trichodorus*, *Nematodirus*.

20 En esta forma de realización, los compuestos preferidos incluyen 12-tigloil-13-(2-metilbutanoil)-6,7-epoxi-4,5,9,12,13,20-hexahidroxi-1-tiglien-3-ona (EBI-46), 12,13-di-(2-metilbutanoil)-6,7-epoxi-4,5,9,12,13,20-hexahidroxi-1-tiglien-3-ona (EBI-47) y 12-(deca-2,4-dienoil)-6,7-epoxi-4,5,9,12,13,20-hexahidroxi-1-tiglien-3-ona (EBI-61).

25 En aún otras realizaciones, la infección es una infección causada por protozoarios en un individuo.

En una realización preferida, la infección causada por protozoarios se selecciona entre *Giardia* spp., *Trichomonas* spp., tripanosomiasis africana, disentería amebiana, babesiosis, disentería balantidial, enfermedad de Chagas, coccidiosis, malaria y toxoplasmosis, especialmente infecciones por *Giardia* spp. y *Trichomonas* spp..

30 En esta realización, un compuesto preferido es 12,13-di-(2-metilbutanoil)-6,7-epoxi-4,5,9,12,13,20-hexahidroxi-1-tiglien-3-ona (EBI-47).

En aún otro aspecto de la invención, se provee un compuesto de fórmula (II) como se define en la reivindicación 15, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para el tratamiento o la prevención de un trastorno celular proliferativo en un individuo.

35 En una realización preferida, el trastorno celular proliferativo es un cáncer, especialmente donde el cáncer se selecciona entre leucemia, melanoma, cáncer de próstata, cáncer de mama, cáncer de ovario, carcinoma de células basales, carcinoma de células escamosas, fibrosarcoma, cáncer de colon, cáncer de pulmón, neoplasias y otros cánceres de tumores sólidos. En una realización, el trastorno celular proliferativo es una neoplasia dermatológica, particularmente sarcoide equino.

40 En otras realizaciones, el trastorno celular proliferativo es un trastorno proliferativo no canceroso. Los ejemplos de tales trastornos proliferativos no cancerosos incluyen trastornos dermatológicos tales como las verrugas, queloides, soriasis, trastornos de tejido granulado y también reducción en tejido cicatrizal y remodelación cosmética.

45 En realizaciones preferidas del tratamiento o prevención de trastornos celulares proliferativos dermatológicos, la terapia es preferiblemente tópica o administrada dentro de la lesión para proporcionar un efecto localizado.

50 Sin desear estar limitado por la teoría, se cree que los compuestos de la invención que se unen a la región C<sub>1</sub> de las rutas de señalización que activan PKC, tales como la ruta de la MAP quinasa resultan en la liberación de citoquinas (Challacombe et al., J. Immunol., 2006, 177: 8123 - 32; Cozzi et al., Cancer Res., 2006, 66: 10083 - 91). Esta estimulación localizada de la respuesta inflamatoria previene, reduce o elimina las células no deseadas tratando así o previniendo los trastornos celulares proliferativos. Por consiguiente, en otro aspecto de la invención, se proporciona un compuesto de fórmula (II) como se define en la reivindicación 16 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para un método de estimulación de una respuesta inflamatoria localizada.

55 Si el compuesto de la invención se administra localmente para tratar un trastorno celular proliferativo, puede ser administrado a un nivel de dosis más alto que si se administra sistémicamente. Para la administración sistémica para tratar el subconjunto de tumores y neoplasias linfoides que son altamente sensibles a la inhibición de crecimiento en cultivo, se administra una dosis más baja del compuesto, por ejemplo, en dosis de µg/kg. Mientras tanto, la administración localizada puede ser hasta 1000 veces superior, por ejemplo a nivel de mg/kg. Para la clase de fármacos de los activadores de PKC, el mecanismo de acción a bajas dosis sistémicas es probable que implique una acción directa sobre las células tumorales productoras de senescencia (Cozzi et al., 2006) o apoptosis (Hampson et  
60



al., Blood, 2005, 106: 1362 - 8 ), mientras que con dosis localizadas altas, la respuesta del huésped, asociada con una respuesta inflamatoria local, también es importante (Challacombe et al., 2006).

En algunos casos, es ventajoso administrar los compuestos de la invención junto con un agente antiinflamatorio para reducir las respuestas inflamatorias no deseadas. Los ejemplos de agentes antiinflamatorios adecuados tales como ibuprofeno, aspirina, pentoxifilina, dexametasona, prednisolona, prednisona, cortisona, beclametasona, fluticasona, hidrocortisona, metil-prednisolona, triamcinolona, budesonida, betametasona, naproxeno, nabumetona e inhibidores de Cox-2 tales como celecoxib , rofecoxib y valdecoxib. Los compuestos de la invención pueden administrarse simultáneamente, separadamente o secuencialmente con el agente antiinflamatorio.

En esta realización, los compuestos preferidos incluyen 12-tigloil-13-(2-metilbutanoil)-6,7-epoxi-4,5,9,12,13,20-hexahidroxi-1-tiglicen-3-ona (EB146), 12,13-di-(2-metilbutanoil)-6,7-epoxi-4,5,9,12,13,20-hexahidroxi-1-tiglicen-3-ona (EBI-47), 12-(deca-2,4-dienoil)-6,7-epoxi-4,5,9,12,13,20-hexahidroxi-1-tiglicen-3-ona (EBI-61) y 12-(dodeca-2,4,6-trienoil)-13-(2-metilbutanoil)-6,7-epoxi-4,5,9,12,13,20-hexahidroxi-1-tiglicen-3-ona (EBI-59).

El término "individuo" tal como se utiliza en este documento incluye a los humanos, primates, ganado (por ejemplo, ovejas, cerdos, vacas, caballos, burros), animales de ensayo de laboratorio (por ejemplo ratones, conejos, ratas, conejillos de Indias), animales de compañía (por ejemplo perros, gatos), aves (por ejemplo pollos, patos, gansos, loros, cacatúas, pinzones, palomas, aves rapaces, aves corredoras, codornices, canarios), animales salvajes en cautiverio (por ejemplo, zorros, canguros, ciervos) y reptiles (por ejemplo, lagartos y serpientes). Preferiblemente, el mamífero es un humano, un animal del ganado, un animal de compañía o un animal para pruebas de laboratorio. Incluso más preferiblemente, el mamífero es un ser humano, un animal del ganado o un animal de compañía.

Una "cantidad efectiva" significa una cantidad necesaria al menos en parte para lograr la respuesta deseada, o para retrasar la aparición o inhibir el progreso o detener del todo, la aparición o el progreso de una condición particular que se está siendo tratada. La cantidad varía dependiendo de la condición física y de salud del individuo a tratar, del grupo taxonómico del individuo a tratar, del grado de protección deseado, de la formulación de la composición, la evaluación de la situación médica, y otros factores relevantes. Se espera que la cantidad caerá en un intervalo relativamente amplio que puede determinarse mediante ensayos de rutina. Una cantidad efectiva en relación con un paciente humano, por ejemplo, puede estar en el intervalo de aproximadamente 0,1 ng por kg de peso corporal hasta 1 g por kg de peso corporal por dosis. La dosificación está preferiblemente en el intervalo de 1 µg a 1 g por kg de peso corporal por dosis, tal como es en el intervalo de 1 mg a 1 g por kg de peso corporal por dosis. En una realización, la dosis está en el intervalo de 1 mg a 500 mg por kg de peso corporal por dosis. En otra realización, la dosis está en el intervalo de 1 mg a 250 mg por kg de peso corporal por dosis. En aún otra realización, la dosis está en el intervalo de 1 mg a 100 mg por kg de peso corporal por dosis, tal como hasta 50 mg por kg de peso corporal por dosis. En aún otra realización, la dosis está en el intervalo de 1 µg a 1 mg por kg de peso corporal por dosis. Los regímenes de dosificación pueden ajustarse para proporcionar la respuesta terapéutica óptima. Por ejemplo, se pueden administrar diferentes dosis divididas en forma diaria, semanal, mensual u otros intervalos de tiempo adecuados, o la dosis puede reducirse proporcionalmente de acuerdo a lo indicado por las exigencias de la situación.

La referencia aquí a "tratamiento" y "profilaxis" debe considerarse en su contexto más amplio. El término "tratamiento" no implica necesariamente que un individuo es tratado hasta su recuperación total. Del mismo modo, "profilaxis" no significa necesariamente que el individuo no contraerá eventualmente una condición de enfermedad. En consecuencia, el tratamiento y profilaxis incluyen la mejoría de los síntomas de una condición particular o prevención o bien la reducción del riesgo de desarrollar una enfermedad particular. El término "profilaxis" se puede considerar como la reducción de la severidad o la aparición de una condición particular. El "tratamiento" también puede reducir la gravedad de una condición existente.

En ciertas realizaciones de la invención, los compuestos de la invención son adecuados para su uso como plaguicida. De acuerdo con estas realizaciones, la invención provee adicionalmente por lo tanto una composición plaguicida que comprende un compuesto de fórmula (II) o una sal del mismo aceptable para uso agrícola o como plaguicida y un vehículo aceptable para el plaguicida.

Por lo tanto, el compuesto de fórmula (II) puede ser formulado en una forma apropiada para ser suministrado a los individuos, cultivos, pastos, bosques y otros ambientes agrícolas, o ambientes domésticos o industriales, preferiblemente para el alivio y/o la erradicación de una o más plagas de insectos.

La composición pesticida es preferiblemente una composición insecticida y pueden estar en la forma de un concentrado emulsionable, un polvo que puede ser reconstituido, que puede fluir, un polvo soluble, una solución, un aerosol, un polvo, un gránulo o un cebo. Una persona capacitada en la formulación de composiciones pesticidas sería capaz de preparar tales formulaciones.

Los portadores adecuados para composiciones pesticidas incluyen, pero no se limitan a, aceites, especialmente aceites de petróleo, emulsionantes, disolventes tales como agua o hidrocarburos, surfactantes, componentes que pueden ser rociados en aerosol tales como los CFC, talco o arcilla.

En aún otro aspecto de la invención, se provee un método para controlar plagas agrícolas que comprende la aplicación de una cantidad efectiva como plaguicida de un compuesto de fórmula (II), como se define en la reivindicación 16, o una sal del mismo aceptable como plaguicida, a un ambiente agrícola, doméstico o industrial infestado con una plaga.

- 5 En un aspecto adicional, se provee un compuesto de fórmula (II) como se define en la reivindicación 16, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo; para controlar plagas en un individuo.

La plaga agrícola es preferiblemente un insecto, especialmente moscas, escarabajos, saltamontes, langostas, mariposas y polillas y sus larvas o ninfas, especialmente las moscas (*Diptera*), tales como moscas verdaderas, pulgas, garrapatas, piojos, mosquitos y jejenes.

10 En algunas realizaciones, la plaga infesta plantas. Los ejemplos de tales plagas incluyen, pero no se limitan a, *Acyrtosiphon kondot* (áfido azul-verde), *Acyrtosiphon pisum* (pulgón del guisante), *Agrotis* spp. (gusano cortador), *Agrypnus variabilis* (gusano de alambre de la caña de azúcar), *Anoplognathus* spp. (escarabajos de la navidad), *Aphodius tasmaniae* (abejorro de los pastos de cabeza negra), *Austroasca alfalfae* (saltamontes de la hoja de la alfalfa), *Bathytricha truncate* (barrenador del tallo de la caña de azúcar y del maíz), *Bemisia tabaci* (mosca blanca), *Brachycaudus helichrysi* (áfido del ciruelo del rizo de la hoja), *Brevicoryne brassicae* (pulgón de la col), *Bruchophagus Roddi* (avispa de la semilla de la alfalfa), *Bruchus pisorum* (gorgojo del guisante), *Bryobia* spp. (arañuela parda), *Ciampa arietaria* (oruga marrón de los pastos), *Chortoicetes terminifera* (plaga de langosta australiana), *Chrysodeitis argentifera* (oruga del tabaco), *Chrysodeitis eriosoma* (oruga verde), *Contarinia sorghicola* (mosquito del sorgo), *Deroceras* spp. (babosas), *Diachrysa oricalcea* (oruga de la soja), *Etiella behrii* (polilla de la telaraña de la semilla de la alfalfa), *Frankliniella schultzei* (trips del tomate), *Graphognathus leucoloma* (gorgojos de fleco blanco), *Halotydeus destructor* (ácaro de tierra de patas rojas), *Hednota pedionoma* (gusano tejedor de los pastos), *Helicoverpa armigera* (gusano de la mazorca de maíz), *Helicoverpa punctigera* (gusano nativo de las yemas), *Helix* spp. (caracoles), *Heteronychus arator* (escarabajo negro africano), *Leucemia convecta* (gusano cogollero común), *Lipaphis erysimi* (áfido del nabo), *Listroderes difficilis* (gorgojo de los vegetales), *Melanacanthus scutellaris* (chinche marrón del frijol), *Merophyas divulsana* (enrollador de la hoja de la alfalfa), *Myzus persicae* (pulgón verde del melocotonero), *Nala lividipes* (tijereta negra del campo), *Mythimna convector* (gusano cogollero común), *Nezara viridula* (chinche de los vegetales verdes), *Nysius vinitor* (chinche de Rutherglen), *Nysius clevelandensis* (chinche gris de racimos), *Oncopera rufobrunnea* (gusano subterráneo del pasto), *Orondina* spp. (gusano falso de alambre), *Othnonius batesi* (escarabajos negros del suelo), *Penthaleus major* (ácaro de la avena azul), *Persectania ewingii* (gusano cogollero sureño), *Petrobia lateens* (ácaro del trigo marrón), *Pieris rapae* (mariposa blanca de la col), *Piezodorus hybneri* (chinche blindado de banda roja), *Plutella xylostella* (polilla de la col / polilla de espalda de diamante), *Rhopalosiphum maidis* (pulgón del maíz), *Sericesthis* spp. (abejorros parduscos pequeños), *Sitona discoideus* (gorgojo Sitona), *Sminthurus viridis* (pulga de la alfalfa), *Spodoptera exigua* (gusano cogollero menor), *Spodoptera letura* (oruga de racimo), *Spodoptera mauritia* (gusano cogollero del césped), *Stomopteryx simplexella* (polilla de la soja), *Tetranychus ludeni* (ácaro araña del haba), *Tetranychus urticae* (ácaro de doble mancha), *Therioaphis trifolii f. maculata* (pulgón manchado de la alfalfa), *Thrips tabaci* (trips de la cebolla), *Thrips imaginis* (trips plaga), *Zizina labradus* (mariposa azul de la hierba), *Zygrita diva* (barrenador de la corona de la alfalfa).

40 En otras realizaciones, las plagas infestan individuos y/o los ambientes distintos de las plantas. Los ejemplos de tales plagas incluyen, pero no se limitan a, piojos, hormigas incluyendo *Camponotus* spp., *Lasius alienus*, *Acanthomyops interjectus*, *Monomorium pharaonis*, *Solenopsis molesta*, *Tetramorium caepitum*, *Monomorium minimum*, *Prenolepis imparis*, *Formica exsectoides*, *Iridomyrmex pruinosus*, *Cremastogaster lineolata*, *Tapinoma sessile*, *Paratrechina longicornis*, cucarachas, mosquitos, chinches de cama, incluyendo *Leptoglossus occidentalis*, *Acrosternum hiare*, *Chlorochroa sayi*, *Podius maculiventris*, *Murgantia histrionica*, *Oncopeltus fasciatus*, *Nabis alternatus*, *Leptopterna dolabrata*, *Lygus lineolaris*, *Adelpocoris rapidus*, *Poecillocapsus lineatus*, *Orius insidiosus*, *Corythucha ciliata*, abejas, avispas, araña viuda negro, piojos de los libros, chinche del arce, araña reclusa parda, polillas de la ropa incluyendo *Tineola* spp., *Tinea* spp., *Trichophaga* spp., escarabajos de alfombra, ciempiés, ácaros del trébol, moscas de la cara y de racimo, escarabajos del cigarrillo y de farmacia, grillos, incluyendo *Acheta* spp., *Gryllus* spp., *Gryllus* spp., *Nemobius* spp., *Oecanthus* spp., *Ceuthophilus* spp., *Neocurtilla* spp., papaíto piernas largas, moscas domésticas, moscas de drenaje, tijeretas, avispon europeo, pulgas incluyendo *Ctenocephalides felis*, *Ctenocephalides canis*, *Ctenocephalides* spp., *Nosopsyllus fasciatus*, *Nosopsyllus* spp., *Xenopsylla cheopis*, *Xenopsylla* spp., *Cediopsylla simplex*, *Cediopsylla* spp., mosquitos del hongo, escarabajos de tierra, escarabajos de despensa y de escondites, moscas del caballo / ganado / venado / cerdo, ácaros del polvo doméstico incluyendo *Dermatophagoides farinae*, *Dermatophagoides pteronyssinus*, *Dermatophagoides* spp., ácaros incluyendo *Ornithonyssus sylviarum*, *Dermanyssus gallinae*, *Ornithonyssus bacoti*, *Liponyssoides sanuineus*, *Demodex folliculorum*, *Sarcoptes scabiei hominis*, *Pyemotes tritici*, *Acarus siro*, *Tyrophagus putrescentiae*, *Dermatophagoides* sp., piojo de los humanos, moscas jorobadas, polilla india de la harina, milpiés, avispas embadurnadoras del barro, mariquita asiática multicolor barrenador doméstico, mosquitos y moscas grúa, cigarras periódicas y "perro-día", escarabajos pulverizadores, barrenadores cabeza redonda y cabeza plana, pseudoescorpiones, pulgones psílidos o saltadores, escarabajos araña, arañas de saco, escarabajos de la savia, termitas, pececillos de plata e insectos de fuego, cochinillas de la humedad y de tierra, colémbolos, orugas urticantes del pelo, tarántulas, moscas del vinagre,

avispas y avispones, barrenador de muelle, cucarachas de bosque, avispas chaqueta amarilla, escarabajos del hongo, gorgojos de la semilla, escarabajo dentado y del comerciante de granos, escarabajos confusos y de la harina roja, gorgojo del arroz y de granero, polilla india de la harina, gusanos de la harina, moscas de desagüe, garrapatas, incluyendo *Dermacentar spp.*, *Ixodes spp.*, *Rhipicenphalus spp.*, abejas de alfombra, pulgas, chinches asesinos, piojos humanos, niguas, chinches misterio, avispon europeo, orugas urticantes del pelo, garrapatas de patas negras, moscas de mayo, moscas negras, gusanos de la crin del caballo, grillos, polillas gitanas, saltamontes, moscas, jejenes, mosquitos, langostas, mosquitos incluyendo *Aedes albopictus*, *Aedes Canadensis*, *Aedes triseriatus*, *Aedes tivittatus*, *Aedes vexans*, *Aedes spp.*, *Anopheles quadrimaculatus*, *Anopheles spp.*, *Coquillettidia perturbans*, *Coquillettidia spp.*, *Culex pipiens*, *Culex spp.*

Una cantidad efectiva en agricultura puede ser determinada por aquellos capacitados en la técnica usando métodos conocidos y típicamente estarían en el rango entre 5 g a 500 g por hectárea.

Los compuestos de la invención se puede aplicar a cualquier entorno en el que están presentes las plagas. Por ejemplo, un entorno en el que se realizan labores agrícolas, por ejemplo, el crecimiento de cultivos, árboles, y otras plantas de importancia comercial. El medio agrícola incluye no sólo la propia planta, sino también del suelo y la zona alrededor de las plantas a medida que estas crecen y también las áreas en las que las partes de plantas, por ejemplo, semillas, granos, hojas o frutos, pueden ser almacenados. El entorno puede ser también un entorno doméstico o un entorno industrial.

Un "ambiente doméstico" incluye ambientes que están habitados por seres humanos o por animales y pueden incluir ambientes interiores como alfombras, cortinas, armarios, ropa de cama y el aire en el interior de una casa. Un "entorno industrial" incluye entornos que se utilizan para fines industriales tales como la fabricación, almacenamiento o expendio de productos. Los ambientes industriales incluyen bodegas, fábricas, tiendas, almacenes y similares.

En este aspecto, los compuestos preferidos de fórmula (I) y fórmula (II) incluyen 12,13-di-(2-metilbutanoil) -6,7-epoxi-4, 5,9,12,13,20-hexahidroxi-1-tiglien-3-ona (EBI-47), 12-(deca-2,4-dienoil)-6,7-epoxi-4,5,9,12,13,20-hexahidroxi-1-tiglien-3-ona (EBI-61) y 12-(dodeca-2,4,6-trienoil)-13-(2-metilbutanoil)-6,7-epoxi-4,5,9,12,13,20-hexahidroxi-1-tiglien-3-ona (EBI-59).

Breve descripción de los dibujos

- FIG. 1: Diagrama de flujo para la extracción inicial con disolvente de los compuestos de fórmula (I);
- FIG. 2A: Diagrama de flujo que muestra la repartición en el disolvente para el concentrado acuoso obtenido de la extracción que se muestra en la Fig. 1;
- FIG. 2B: Diagrama de flujo que muestra la repartición en el disolvente para el residuo de acetato de etilo obtenido de la extracción que se muestra en la Fig. 1;
- FIG. 3: Diagrama de flujo que muestra las etapas de cromatografía preparativa HPLC;
- FIG. 4: Representa gráficamente la inhibición selectiva del crecimiento de células en cultivo por EBI-46;
- FIG. 5: Representa gráficamente los resultados del tratamiento tópico de tumores B16 en ratones C57B6 con EBI-46 (aplicación una vez al día durante tres días a partir del día 5);
- FIG. 6: Representa gráficamente los resultados del tratamiento tópico del SCC de ratón LK2 en ratones desnudos;
- FIG. 7: Representa gráficamente la inhibición del crecimiento de tumores SSC LK2 por medio de la aplicación tópica de EBI-46; y
- FIG. 8: Representa gráficamente el efecto de EBI-46 inyectado en tumores SCC de LK-2.

Descripción detallada

Detección de actividad

Se analizó una muestra de la extracción con disolvente de *Fontainea picrosperma* que contiene compuestos de fórmula (I) y de fórmula (II) para determinar la actividad terapéutica por cribado en (A) una gama de bioensayos de Tecnologías de Detección Microbianas (MST), en particular NemaTOX, proTOX, MycoTOX, y CyTOX y DipteraTOX, y (B) una serie de ensayos contra el cáncer. Para facilitar la descripción, se describirán brevemente estos bioensayos antes de las metodologías de extracción y elucidación de la estructura química.

Los bioensayos de MST incluyeron:

NemaTOX (alternativamente denominado aquí como Ne) es un bioensayo antihelmíntico, aplicable a todos los nematodos parásitos con etapas de ciclo de vida libre, y puede ser utilizado como un diagnóstico para detectar la actividad y definir el espectro de especies de compuestos contra nematodos parásitos y examinar el impacto de la resistencia preexistente para otras clases de antihelmínticos en potencia. Se utilizó *Haemonchus contortus* para este ensayo.



Se determinó el efecto sobre el desarrollo larvario en este ensayo por medio del método descrito por Gill et al. (1995) Int. J. Parasitol. 25: 463 - 470. En resumen, en este ensayo se aplicaron huevos de nematodos a la superficie de una matriz de agar que contiene la muestra del ensayo y se permitió que se desarrollara hasta la etapa infectiva L3, (6 días). En este momento se alcanzó la etapa de desarrollo de las larvas y se observó cualquier característica inusual (deformidad, parálisis, toxicidad) mediante examen microscópico.

ProTOX, (alternativamente denominado aquí como Bs) es un bioensayo antibacteriano, ampliamente aplicable a la mayoría de las bacterias aeróbicas y anaeróbicas. El bioensayo consta de una base de agar en fase sólida en la que se ha incorporado el compuesto de prueba junto con un cromógeno. A medida que las bacterias se multiplican en el pozo, se metaboliza el cromógeno de azul en un proceso de dos pasos hasta un compuesto incoloro. Los compuestos con potente actividad bactericida inhiben el metabolismo bacteriano del cromógeno mientras que los compuestos bacteriostáticos inducen un metabolismo limitado como se indica por medio de un color rosado intermedio. ProTOX es aplicable a una amplia gama de bacterias Gram positivas y Gram negativas bajo condiciones aeróbicas y microaerófilas. Los ensayos con proTOX se llevaron a cabo utilizando *Bacillus subtilis*.

En resumen, en proTOX, se aplicaron las bacterias (caldo de 24 horas) a la superficie de una matriz de agar que contiene la muestra de ensayo y se permite que crezcan durante 48 horas. Se monitoreó el ensayo a las 24 y 48 horas y se anotaron los pozos activos. Los antibióticos conocidos produjeron transiciones de color consistentes que dependen de la concentración y del tiempo. Estos patrones proporcionan una guía importante para el reconocimiento temprano de las características interesantes. Se evaluaron los bactericidas activos por no presentar cambio de color a las 24 y 48 horas mientras que los bacteriostáticos activos se evaluaron como activos a las 24 horas, pero menos potentes o inactivos a las 48 horas.

MycotoX (alternativamente denominado aquí como Tr) es un bioensayo no cromogénico utilizado para detectar la actividad contra hongos patógenos filamentosos de plantas y animales. El bioensayo consta de una base de agar en fase sólida en la que se ha incorporado el compuesto de ensayo. A medida que crecen, se hacen fácilmente evidentes los hongos filamentosos en la superficie del agar y se miden el grado de crecimiento del micelio, la esporulación (si es relevante para las especies estudiadas) y los cambios de color con la maduración. Los compuestos con potente actividad contra los hongos inhiben la germinación de las esporas de los hongos y proporcionar un marcado contraste con los pozos que contienen compuestos inactivos con el crecimiento excesivo de los hongos. Las concentraciones más bajas de estos compuestos, o de los compuestos que presentan un modo de acción más fungistático, muestran reducciones en el crecimiento del micelio, el grado de esporulación o reducciones de otros patrones característicos de maduración de la colonia.

MycotoX, implica un hongo (suspensión de esporas o fragmentos de micelio) que se aplica a la superficie de una matriz de agar que contiene la sustancia química de prueba y se permite que crezca durante un período de hasta una semana (dependiendo de la especie). Se monitorea el ensayo en dos momentos particulares para identificar las fases clave de desarrollo en el ciclo de vida (por ejemplo, el crecimiento del micelio y el grado de esporulación) y se observan los pozos activos. Los tiempos de vigilancia dependen de las especies de hongos objeto de investigación.

Los ensayos MycoTOX se llevaron a cabo utilizando *Trichophyton rubrum*. El ensayo MycoTOX se denomina alternativamente como Tr para indicar el uso de *Trichophyton rubrum*.

CytoX (alternativamente denominado aquí como Cy) es un bioensayo en una placa de microtitulación para identificar actividades antitumorales potenciales. CyTOX es un bioensayo cromogénico con una amplia aplicación a una amplia gama de líneas celulares tumorales y no tumorales. Las transiciones de color en CyTOX son proporcionales al metabolismo y la renovación de la célula y por lo tanto ofrecen pautas útiles de reconocimiento para apoyar la clasificación diagnóstica de los activos dentro de un marco de actividades citotóxicas y antitumorales conocidas.

CytoX consta de un medio líquido en el que se ha incorporado el compuesto de prueba junto con un cromógeno nuevo. A medida que las células crecen y se dividen se metaboliza el cromógeno desde un color púrpura en un proceso de un solo paso hasta un metabolito incoloro. CyTOX se llevó a cabo mediante el uso de la línea celular de mieloma de murino NS1 como guía para la toxicidad de células de mamífero.

En resumen, en CyTOX se aplicaron las células a los medios que contienen la sustancia química de prueba y se les permitió que crecieran durante 72 horas. Se monitoreó el ensayo a las 24, 48 y 72 horas y se identificaron los pozos activos.

DipteraTOX

DipteraTOX se denomina aquí como DipG, DipP y DipH. DipG representa sin raspado de larvas. DipP representa sin formación de pupas y DipH representa sin eclosión de moscas. Un valor de A en DipG, DipP o DipH representa muy activa y un valor de P representa activa. En DipteraTOX se aplicaron los huevos de mosca a la superficie de una matriz de agar que contiene 250 µg por mL de la sustancia química de ensayo y se dejó que eclosionaran, se

desarrollaran y puparan durante un período de dos semanas. Se monitoreó el ensayo en dos momentos distintos para determinar el grado de raspado de la matriz de agar en la Semana 1 y la presencia de moscas adultas en la Semana 2. El nivel de actividad se obtuvo cualitativamente como activa o inactiva en los Días 7 y 14 para indicar la falta de alimento y la falta de desarrollo hasta la etapa adulta, respectivamente.

5 TriTOX (alternativamente denominado aquí como Gi) es un ensayo cromogénico con base en una placa de microtitulación para la detección de actividad antiprotozoaria de protozoarios anaerobios/microaerófilos patógenos, por ejemplo, *Giardia spp.* y *Trichomonas spp.* Los bioensayos se realizan bajo condiciones anaeróbicas y constan de especies específicas de cromógenos. Las concentraciones inhibitorias mínimas (LD99 aproximado) se determinan por medio del siguiente método: las soluciones madre de las incógnitas se diluyen en forma serial a la 1/2 para dar 12 concentraciones en un rango de 2048 veces. Se aplican las alícuotas de cada concentración(es) a los pozos de las placas de microtitulación de 96 pozos y se diluye con medio. Las sustancias de ensayo se consideran como activas o inactivas con base en el cambio de color del cromógeno. La concentración más baja a la que el compuesto es activo se denota como la concentración inhibitoria mínima (MIC). Además, se lleva a cabo una inspección microscópica para identificar cualquier patrón de cambio morfológico que pueda ser consistente con un tipo de toxicidad y por lo tanto con el modo de acción. Se utilizó *Giardia spp.* para este ensayo.

15 Los ensayos contra el cáncer incluyen:

20 Ensayo SRB para la inhibición del crecimiento de las células cultivadas como monocapas

25 En resumen, se sembraron una variedad de células tumorales, incluyendo de melanoma de ratón, melanoma humano, carcinoma de células escamosas de ratón, de mama humana, colon humano, de leucemia humana y células de pulmón humano y humanas normales incluyendo fibroblastos humanos normales a razón de 2-5.000 por pozo de la placa de microtitulación (placa de 96 pozos) en medio de cultivo FCS-RPMI 1640 al 10%, tratado, y se dejaron crecer hasta que los controles eran casi confluyente (5 - 6 días). Se lavaron luego los pozos dos veces con PBS, se fijó con etanol durante un mínimo de 5 minutos y se lavó con agua. Se añadió solución SRB (50 µL del 0,4% en ácido acético al 1%) y se dejó a temperatura ambiente durante un mínimo de 15 minutos. Se lavó rápidamente la placa con agua corriente y luego dos veces con ácido acético al 1%. Después de la adición de 100 µL / pozo de base Tris 10 mM (no amortiguada, pH > 9), se dejaron las placas durante un mínimo de 5 minutos, luego se leyó la absorbancia a 564 nm en el lector de ELISA, con una agitación previa de 3 segundos. Después de la resta del blanco (pozos sin células, absorbancia típicamente aproximadamente de 0,04), se calculó la inhibición del crecimiento como el % del control no tratado y se graficó contra la dosis.

35 Ensayo QIMR para la inhibición del crecimiento de células cultivadas en suspensión

40 En resumen, se sembró una suspensión de una serie de células tumorales, incluyendo melanoma de ratón, melanoma humano, carcinoma de células escamosas de ratón, de mama humana, colon humano, de leucemia humana y células de pulmón humano y humanas normales incluyendo fibroblastos humanos normales en placas de microtitulación de fondo redondo en medio de cultivo FCS-RPMI 1640 al 10%, tratadas y se dejó que crecieran durante 5 - 6 días. Para medir el crecimiento celular, se añadieron 20 µL de una solución combinada de MTS / PMS (kit de ensayo de proliferación celular Promega Cat. # G5430) a cada pozo de la placa de ensayo de 96 pozos. Después de 1 - 4 horas, se colocaron las placas en el lector de placas de ELISA y se leyó la absorbancia a 490 nm. Después de la resta del blanco (pozos sin células, absorbancia típicamente aproximadamente de 0,4), se calculó la inhibición del crecimiento como el % del control no tratado y se graficó contra la dosis.

Tratamiento tópico de los tumores en ratones

50 Se inyectaron las células tumorales por vía subcutánea (2 millones de células / sitio en 50 µL de medio de cultivo para las células LK2, 0,5 millones para B16) en 4 sitios sobre cada uno de los costados de los ratones desnudos (para células LK2) o de ratones C57BL/6 (células de melanoma de ratón B16). Cuando los tumores se hicieron visibles (2 - 4 mm de diámetro) cinco a 10 días después de la inyección de las células, se aplicaron 37 µg de EBI-46 en 25 µL de gel de isopropanol a cada sitio del tumor, cada día durante 3 días. Se midió el tamaño del tumor con calibradores a intervalos apropiados.

Inyección dentro de la lesión en el sitio del tumor en ratones

60 Se establecieron tumores de Carcinoma de Células Escamosas (SCC), por medio del mismo método que para el tratamiento tópico pero se dejaron crecer durante 15 días antes del tratamiento con fármaco. Se inyectaron 7 µg de EBI-46 en 20 µL de solución salina en cada uno de los 3 lados del tumor. Se midió el tamaño del tumor se midió con calibradores a intervalos apropiados.

65 Con el fin de que la invención pueda ser fácilmente entendida y llevada a la práctica, se describirán ahora realizaciones particulares preferidas por medio de los siguientes ejemplos no limitantes.

**Ejemplo 1**

Métodos

5 Extracción

Se recolectaron muestras de biomasa, incluyendo semillas, hojas y corteza, de *Fontainea picrosperma* y se las sometió al siguiente proceso de extracción. Estas muestras, y sus fracciones posteriores se denominan en el siguiente ejemplo como EB548.

10

Fase 1 - Extracción

Se recubre generosamente la biomasa con metanol y se agita (~ 2 L, durante la noche), seguido por filtración para obtener el primer extracto. Este proceso se repite una segunda vez (~ 2 L, ~ 5 horas) para generar el segundo extracto. Cada extracto se examina por HPLC analítica y se bioensaya (FIG. 1). Los extractos secuenciales en metanol se combinan y se remueve el disolvente por evaporación rotatoria para producir un concentrado acuoso.

15

Fase 2 - Repartición en solvente

20 El concentrado acuoso de la extracción se diluye con agua hasta 400 mL. La muestra diluida (código 'Cr') es muestreada nuevamente para HPLC y bioensayo, luego agitada con un volumen igual de acetato de etilo (EtOAc) en un embudo de separación y se recolectan las capas individuales, EtOAc1 y H<sub>2</sub>O1. Téngase en cuenta, que de vez en cuando se formaría un precipitado que era insoluble en cualquiera de las capas. Se recolectó este precipitado por filtración y se disolvió en metanol (código 'Me'). La capa acuosa inferior (H<sub>2</sub>O1) se extrajo dos veces más con acetato de etilo para producir EtOAc2 y EtOAc3 junto con la capa restante de H<sub>2</sub>O3. Se examinan las submuestras de todas las capas mediante HPLC analítica y bioensayo (FIG. 2A).

25

Los extractos secuenciales acetato de etilo se reúnen y se pesa el disolvente removido por evaporación rotatoria para producir un residuo. En ocasiones, la HPLC analítica indica las cantidades considerables contenidas en el extracto de EtOAc de material extremadamente lipofílico (RT > 9 minutos). Para remover este material se realizó una repartición 10:9:1 en 1-hexano:metanol:agua (FIG. 2B).

30

Fase 3 - Fraccionamiento por HPLC preparativa

35 El residuo de la partición con disolvente se investiga mediante HPLC analítica para encontrar las condiciones cromatográficas óptimas para la separación de los metabolitos presentes. Usando estas condiciones óptimas se fracciona el residuo (~ 2 g) se fracciona por medio de HPLC preparativa en fase inversa (C18, una sola inyección) en 100 fracciones (FIG. 3). Las submuestras de todas las 100 fracciones se examinan mediante HPLC analítica. Tras el análisis de las trazas de HPLC, las fracciones 100 se consolidan en 20 a 30 fracciones reunidas (agrupaciones), algunas de las cuales pueden ser > 80% puras. Estas fracciones reunidas se pesan, se bioensayan y se examinan mediante HPLC analítica.

40

Resumen del reparto en solvente para EB548

45 Las muestras de biomasa de *Fontainea picrosperma* se sometieron a extracción y repartición en disolvente, utilizando las fases 1 y 2 descritas anteriormente. La Tabla 1 resume las cantidades de material extraíble obtenidas después de partición del disolvente con acetato de etilo.

50

Tabla 1: Pesos después de la partición en acetato de etilo de los extractos

Muestra	Peso <sup>1</sup>	EtOAc <sup>2</sup>	% de Ext. <sup>3</sup>	Comentario de la HPLC
EB548	318	68,4	21,5%	Excelente
<sup>1</sup> Peso: Peso total de la muestra en gramos de material de la planta suministrados y usados para el estudio. <sup>2</sup> EtOAc: extraíbles en acetato de etilo. <sup>3</sup> %Ext.: extraíbles en acetato de etilo expresados como porcentaje del peso total de la muestra.				

HPLC preparativa

55 La HPLC preparativa se llevó a cabo en un sistema que consta de dos cromatógrafos líquidos preparativos Shimadzu LC-8A con mezclador estático, detector de arreglo de diodos Shimadzu SPD-M10AVP y controlador del

## ES 2 391 296 T3

sistema Shimadzu SCL-10AVP. La columna utilizada era una columna de 50 x 100 mm (diámetro x longitud) empacada con Platino EPS C18 (Alltech).

5 Se disolvieron aproximadamente 2 gramos de material extraído con acetato de etilo en dimetil sulfóxido (4 mL) y se los sometió a HPLC preparativa con condiciones típicas de 60 mL/min con un gradiente de elución de 30% a 100% de acetonitrilo / agua durante 20 minutos, seguido por acetonitrilo durante 10 minutos. Se recolectaron cien fracciones (20 ml), se evaporó bajo atmósfera de nitrógeno, y luego se combinaron con base en el análisis por HPLC.

10 **Análisis UV**

Los espectros de UV fueron adquiridos durante la HPLC con el detector de arreglo de diodos Shimadzu SPD-M10AVP como se mencionó anteriormente.

15 **Análisis de RMN**

20 Todos los espectros de RMN se adquirieron en  $d_6$ -dimetil sulfóxido y se referenciaron con las señales residuales de dimetil sulfóxido. Los espectros de RMN  $^1D$ ,  $^1H$  y  $^{13}C$  [APT], fueron adquiridos a 300 y 75 MHz respectivamente en un espectrómetro Varian Gemini 300BB (Palo Alto CA, EUA). Los espectros de RMN  $^2D$ , HSQC, HMBC, COSY y TOCSY, y un espectro de RMN  $^1H$  se adquirieron en un espectrómetro de RMN Bruker DRX600 (600 MHz).

El análisis de los datos de RMN se realizó utilizando un ACD/SpecManager y un ACD /Elucidador de Estructura, ambos versión 6.0 de Advanced Chemistry Development, Inc. (Toronto, ON, Canadá).

25 **Análisis de espectrometría de masas por electroaspersión (ES-MS)**

Todos los espectros de masas por electroaspersión positiva se realizaron en un LCMS / MS Finnigan / Mat TSQ7000 (San Jose, CA, EUA).

30 **Ejemplo 2**

EB548: Extracción y reparto en solvente

35 La extracción y el reparto en disolvente de EB548 produjo 318 g de material. Cada una de las capas de extracción y partición en disolvente se analizaron para determinar la bioactividad usando los bioensayos anteriores. Se puede ver a partir de la Tabla 2 que los extractos y las capas de acetato de etilo de la partición en disolvente contienen todas actividad alta de CyTOX y de NemaTOX.

TABLA 2: Actividad de los extractos de las reparticiones en disolvente.

Muestra	Ne		Bs		Tr		Cy	
	Título	LD <sub>99</sub> <sup>4</sup>	Título	LD <sub>99</sub> <sup>4</sup>	Título	LD <sub>99</sub> <sup>4</sup>	Título	LD <sub>99</sub> <sup>4</sup>
EB548.MG1.20-Ext1	64	120	8	990	0		256	31
EB548.MG1.20-Ext2	4	740	2	1500	1	2900	64	46
EB548.MG1.28-EtOAc1	256	110	16	1800	2	14000	1024	28
EB548.MG1.28-EtOAc2	4	180	1	730	1	730	32	23
EB548.MG1.28-EtOAc3	0		2	150	1	290	16	18
EB548.MG1.28-H2O1	2	3300	0		0		8	810
EB548.MG1.28-H2O2	2	3600	2	3600	0		32	230
EB548.MG1.28-H2O3	64	110	0		4	1800	64	110

(continuación)

	Ne		Bs		Tr		Cy	
Muestra	Título	LD <sub>99</sub> <sup>4</sup>	Título	LD <sub>99</sub> <sup>4</sup>	Título	LD <sub>99</sub> <sup>4</sup>	Título	LD <sub>99</sub> <sup>4</sup>
<sup>4</sup> LD <sub>99</sub> en µg/mL calculado como el peso de la sustancia química en el último pozo con actividad, sin embargo, el valor real puede ser inferior ya que no se alcanzó el punto final.								

5 Los sucesivos extractos acuosos concentrados se sometieron a HPLC. La columna utilizada fue una columna de 50 x 100 mm (diámetro x longitud) empacada con Platino EPS C18 (Alltech). Aproximadamente 2 gramos de material extraído se disolvieron en dimetil sulfóxido (4 ml) y se sometieron a HPLC preparativa con condiciones típicas de 60 mL/minuto con un gradiente de elución de 30% a 100% de acetonitrilo / agua durante 20 minutos seguido de acetonitrilo durante 10 minutos.

10 Para propósitos de comparación se analizaron la primera capa de partición en acetato de etilo y la tercera capa de agua por HPLC. Hubo poco o ningún compuesto de interés que quedara en la tercera capa de agua de la tercera partición en solvente agua / acetato de etilo.

Primer fraccionamiento por HPLC preparativa

15 En una forma similar a la descrita en la Fase 3 anterior, las muestras de la repartición en disolvente acetato de etilo de EB548 se reunieron y trataron adicionalmente usando cromatografía HPLC preparativa.

20 Se utilizó HPLC preparativa para producir 100 fracciones. Estas fracciones se combinaron dependiendo de la concentración relativa de los compuestos indicados en la cromatografía HPLC preparativa.

La bioactividad de cada fracción o fracción reunida resultante de la HPLC preparativa se determinó utilizando el método de bioensayo anterior. Los resultados se resumen a continuación en la Tabla 3.

Tabla 3: Actividad de grupos de HPLC preparativa.

		Ne		Bs		Tr		Cy	
Muestra	Peso <sup>5</sup>	Título	LD <sub>99</sub> <sup>4</sup>	Título	LD <sub>99</sub> <sup>4</sup>	Título	LD <sub>99</sub> <sup>4</sup>	Título	LD <sub>99</sub> <sup>4</sup>
EB548.LA3.139-1/15	53.2	0		0		0		16	100
EB548.LA3.139-16	3.4	0		0		0		2	53
E8548.LA3.139-17	0.5	0		0		0		4	3.5
EB548.LA3.139-18	0.8	0		0		0		0	
EB548.LA3.139-19	1.4	0		0		0		2	22
EB548.LA3.139-20	1.9	2	30	0		0		2	30
EB548.LA3.139-21	2.8	0		0		0		2	43
EB548.LA3.139-22	47.3	32	46	4	370	4	370	64	23
EB548.LA3.139-23.	17.4	16	34	2	270	2	270	32	17
EB548.LA3.139-24	16.0	32	16	4	130	1	500	16	31
EB548.LA3.139-25	1.5	1	47	0		0		2	23

ES 2 391 296 T3

(continuación)

Muestra	Peso <sup>o</sup>	Ne		Bs		Tr		Cy	
		Título	LD <sub>99</sub> <sup>4</sup>	Título	LD <sub>99</sub> <sup>4</sup>	Título	LD <sub>99</sub> <sup>4</sup>	Título	LD <sub>99</sub> <sup>4</sup>
EB548.LA3.139-26/28	19.8	64	10	8	78	8	78	64	10
EB548.LA3.139-29	0.8	1	24	0		0		2	12
EB548.LA3.139-30/31	1.9	1	58	0		0		8	7.2
EB548.LA3.139-32	1.3	0		0		0		4	10
EB548.LA3.139-33/34	4.6	0		1	140	0		16	8.9
EB548.LA3.139-35/36	19.7	0		0		1	620	64	10
EB548.LA3.139-37	39.2	0		1	1200	4	310	128	10
EB548.LA3.139-38	43.8	0		1	1400	4	340	128	11
EB548.LA3.139-39/40	148.2	4	1200	8	580	16	290	128	36
EB548.LA3.139-41/43	498.9	16	970	32	490	64	240	256	61
EB548.LA3.139-44/45	9.0	0		0		0		8	35
EB548.LA3.139-46/47	33.8	0		0		0		32	33
EB548.LA3.139-48/50	221.3	0		1	6900	2	3500	64	110
EB548.LA3.139-51/53	221.2		3500	0		64	110	1024	6.7
EB548.LA3.139-54/55	9.2	0		2	140	1	290	16	18
EB548.LA3.139-56	24.3	0		0		1	760	16	47
EB548.LA3.139-57	46.0	0		0		0		64	22
EB548.LA3.139-58/60	58.6	0		0		0		32	57
EB548.LA3.139-61/63	22.2	1	690	0		0		16	43
EB548.LA3.139-64	25.5	1	800	0		0		32	25
EB548.LA3.139-65	7.9	1	250	0		0		8	31
EB548.LA3.139-66	4.9	2	77	0		0		16	10
EB548.LA3.139-67	45.3	0		0		0		4	350
EB548.LA3.139-68/69	19.3	0		0		0		8	75
EB548.LA3.139-70/71	5.6	0		0		0		8	22

(continuación)

Muestra	Peso <sup>5</sup>	Ne		Bs		Tr		Cy	
		Título	LD <sub>99</sub> <sup>4</sup>	Título	LD <sub>99</sub> <sup>4</sup>	Título	LD <sub>99</sub> <sup>4</sup>	Título	LD <sub>99</sub> <sup>4</sup>
EB548.LA3.139-72	3.2	0		0		0		0	
EB548.LA3.139-73/75	24.8	0		0		0		2	390
EB548.LA3.139-76/78	3.1	0		0		0		0	
EB548.LA3.139-79	0.3	0		0		0		0	
EB548.LA3.139-80/89	2.0	0		0		0		1	63
EB548.LA3.139-90/100	8.0	0		0		0		4	63

<sup>4</sup>LD<sub>99</sub> en µg/mL calculado como el peso de la sustancia química en el último pozo con actividad, sin embargo, el valor real puede ser inferior ya que no se alcanzó el punto final. <sup>5</sup>Peso en mg.

## Segundo fraccionamiento por HPLC preparativa

5 Para preparar material adicional se realizó un segundo fraccionamiento por HPLC preparativa. Las reservas de la HPLC a partir de la segunda fracción de HPLC preparativa no requirió de un bioensayo ya que las bandas activas se eligieron con base en los espectros de UV de la primera HPLC preparativa.

10 En la realización del segundo fraccionamiento por HPLC preparativa, se descubrió que de las bandas activas principales, las fracciones EB548.LA3.139-22/24, -35/38, -41/43, y -51/53, las tres últimas mostraron inestabilidad sustancial. Esta inestabilidad se observó por la evaporación del nitrógeno, pero no mientras estaba en solución de acetonitrilo / agua a temperatura ambiente o por evaporación al vacío. Para evitar la descomposición de las cuatro bandas equivalentes de metabolitos activos de la segunda HPLC preparativa fueron individualmente extraídos nuevamente en el acetato de etilo y se evaporó al vacío. La HPLC analítica de estas muestras confirmó una descomposición mínima.

15 Debido a la superposición de la Banda 2 con la Banda 3 algunos de los metabolitos de la Banda de 2 están en la Banda 3. Los resultados del segundo fraccionamiento preparativo se resumen en la Tabla 4.

TABLA 4: Actividad de las reservas de HPLC preparativa.

Muestra	Peso <sup>5</sup>	Comentario
EB548.LA4.40-1/10	14.2	
EB548.LA4.40-11/13	3.0	
EB548.LA4.40-14	3.0	
EB548.LA4.40-15/22	27.2	
EB548.LA4.40-23/24	7.6	
EB548.LA4.40-25/28	5.4	
EB548.LA4.40-29	2.6	

(continuación)

Muestra	Peso <sup>b</sup>	Comentario
EB548.LA4.40-30/33	8.8	
EB548.LA4.40-34/35	6.5	
EB548.LA4.40-36/38	88.4	Banda 1 - equivalente a EB548.LA3.139-22, 23, 24
EB548.LA4.40-39	2.7	
EB548.LA4.40-40/41	29.4	
EB548.LA4.40-42	1.5	
EB548.LA4.40-43/44	2.1	
EB548.LA4.40-45	1.6	
EB548.LA4.40-46/47	27.1	
EB548.LA4.40-48/53	6.8	
EB548.LA4.40-54/56	4.4	
EB548.LA4.40-57/59	8.7	
EB548.LA4.40-60/61	11.1	Banda 2 equivalente a EB548.LA3.139-35/36, 37, 38
EB548.LA4.40-62/66	402.6	Banda 3 equivalente a EB548.LA3.139-41/43
EB548.LA4.40-67/73	599.3	
EB548.LA4.40-74/77	25.4	Banda 4 equivalente a EB548.LA3.139-51/53
EB548.LA4.40-78/79	262.1	
EB548.LA4.40-80/82	328.1	
EB548.LA4.40-83/90	42.2	
EB548.LA4.40-91/100	189.2	
<sup>b</sup> Peso en mg.		

**Ejemplo 3**

## 5 Elucidación de la estructura química

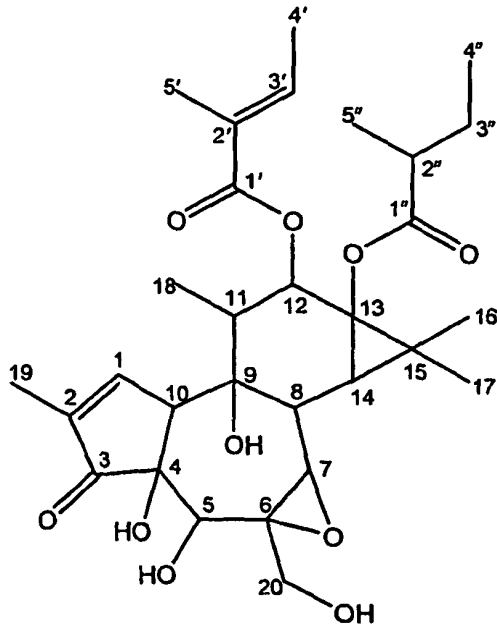
EBI-46

10 La reunión de ese tipo de material (fracciones 22 a 24 y de las fracciones 36 a 41, 80,7 mg y 120,5 mg, respectivamente, a partir del primero y segundo gradientes de las corridas por HPLC preparativa, respectivamente) fue disuelta en metanol y sometida a HPLC preparativa (10 mL/min con elución isocrática de agua / acetonitrilo al 55% durante 30 minutos, a través de una columna de 20 x 100 mm C18(2) Phenomenex Luna de 5 µm).

15 Las fracciones 17 a 20 se combinaron, se concentraron al vacío, se liofilizaron y se analizó el producto resultante por espectroscopia UV, análisis por HPLC, ES-MS y RMN (Tabla 5). A partir del análisis por HPLC, ES-MS y RMN se



determinó que EB548.LA4.61-17/20 contenía el siguiente compuesto, denominado en este documento como EBI-46, (12-tigloil-13-(2-metilbutanoil)-6,7-epoxi-4,5,9,12,13,20-hexahidroxi-1-tiglicen-3-ona):



# ES 2 391 296 T3

Tabla 5: Datos de RMN para EBI-46 en DMSO-d<sub>6</sub> a 75/600 MHz.

No.	$\delta$ <sup>13</sup> C	$\delta$ <sup>1</sup> H	Multiplicidad (J en Hz)
1	161.2	7.60	m
2	132.7		
3	207.2		
4	73.1		
5	67.8	3.94	dd (6.5, 0.7)
6	63.6		
7	63.4	3.15	s
8	34.8	2.98	d (6.6)
9	76.6		
10	49.0	4.07	m
11	45.5	1.85	m
12	77.3	5.35	d (10.1)
13	65.3		
14	35.3	1.28	d (6.6)
15	26.6		
16	23.4	1.14	s
17	17.0	1.20	s
18	14.5	0,68	d (6.5)
19	9.7	1.63	dd (2.9, 1.3)
20	62.3	3.82, 3.40	dd (12.4, 5.8), dd (12.4, 6.7)
1'	166.9		
2'	128.1		
3'	137.1	6.72	m
4'	14.2	1.75	m
5'	12.1	1.74	m
1"	177.3		
2"	40.4	2.30	m

## ES 2 391 296 T3

3"	25.8	1.57, 1.36	m, m
4"	11.4	0.85	t (7.5)
5"	16.1	1.04	d (7.0)
4-OH		5.49	d (0.8)
5-OH		5.17	d (6.5)
9-OH		5.29	bs
20-OH		4.45	dd (6.7, 5.8)

5 Los resultados del bioensayo de las Tablas 6a, 6b y 6c indican claramente que el compuesto EBI-46 tiene eficacia como (A) un agente citotóxico y por lo tanto sería útil en el tratamiento y profilaxis de enfermedades proliferativas celulares tales como tumores, leucemia, linfoma y trastornos relacionados, (B) un antiparasitario y por lo tanto sería útil en el tratamiento de infestación por un parásito, tal como un ectoparásito y/o endoparásitos de humanos y/o animales, y (C) un antibiótico y por lo tanto sería útil en el tratamiento o profilaxis de una infección por bacterias de humanos y/o animales.

Tabla 6a: Bioensayo *in vitro* de EBI-46

		Ne		Bs		Tr		Cy	
Título	Peso <sup>5</sup>	Título	LD <sub>99</sub> <sup>4</sup>	Título	LD <sub>99</sub> <sup>4</sup>	Título	LD <sub>99</sub> <sup>4</sup>	Título	LD <sub>99</sub> <sup>4</sup>
EB548.LA4.61-17/20	109.7	2	31	1	50	0	-	8	7.8

<sup>4</sup>LD<sub>99</sub> en µg/mL calculado como el peso de la sustancia química en el último pozo con actividad, sin embargo, el valor real puede ser inferior ya que no se alcanzó el punto final. <sup>5</sup>Peso en mg.

Tabla 6b: Bioensayos *in vitro* de EBI-46

Línea de células para el ensayo	Concentración de EBI-46 a la cual se observó inhibición en el crecimiento
Fibroblastos humanos normales (NFF)	No se observó a 10 µg/mL
Melanoma de ratón B16	=/<2 µg /mL
Melanoma humano MM96L	=/<2 µg /mL
Melanoma humano DO4	<100 ng/mL
Melanoma humano MM127	<100 ng/mL
Melanoma humano SKMel-5	<100 ng/mL
Leucemia humana K562	<100 ng/mL
Leucemia humana U937	<100 ng/mL
Seno humano CF-7	<100 ng/mL

(continuación)

Línea de células para el ensayo	Concentración de EBI-46 a la cual se observó inhibición en el crecimiento
Carcinoma de células escamosas de ratón K-2	<100 ng/mL
Colon humano Colo205	<100 ng/mL
Pulmón humano A549	<100 ng/mL
Pulmón humano HOP62	<100 ng/mL

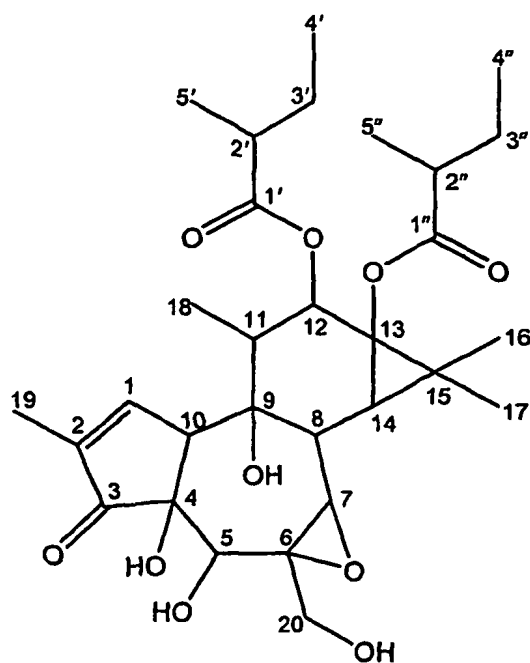
Tabla 6c: Bioensayos *in vivo* de EBI-46

Tipo de cáncer	Modo de tratamiento	Resultados
Carcinoma de células escamosas (SCC)	Tratamiento tópico de SCC de ratón LK2 en ratones desnudos con una preparación de EBI-46 (37 µg/sitio) en gel de isopropanol una vez al día durante 3 días	Resultó en la curación y cicatrización sin cicatrices de 3 de los 4 tumores; área pequeña de crecimiento sobre el 4 <sup>to</sup> tumor posiblemente debido a una baja dosificación de esta área. El área cicatrizó posteriormente con cicatrices mínimas. No hubo señales de toxicidad sistémica o metástasis en el pulmón en el post mortem de los animales del experimento.
Carcinoma de células escamosas (SCC)	Inyección dentro de la lesión de 21 µg de EBI-46 (3 inyecciones de 20 µl de 7 µg cada una) en la periferia de dos tumores establecidos de 15 días de SCC de ratón LK-2 en un ratón	Resultó en una reducción significativa del tamaño del tumor. No hubo signos de toxicidad sistémica o metástasis de pulmón en el post mortem de los animales del experimento.
Melanoma	Tratamiento tópico de tumores de melanoma B16 en ratones C57/B6 de 37 g de EBI-46 por sitios una vez al día por 3 días partiendo al día 5	Resultó en una inhibición significativa de crecimiento del tumor. No hubo signos de toxicidad sistémica o metástasis de pulmón en el post mortem de los animales del experimento.

## 5 EBI 47

En una forma similar a la elucidación de la estructura química esbozada anteriormente, se combinaron las fracciones 29 a 32, se concentraron al vacío, se liofilizaron y se analizó el producto resultante por medio de espectroscopía UV, análisis por HPLC, ES-MS y RMN (Tabla 7). A partir de los análisis por HPLC, ES-MS y RMN se determinó que EB548.LA4.61-29/32 contenía el siguiente compuesto, denominado aquí como EBI-47 (12,13-di-(2-metilbutanoil)-6,7-epoxi-4,5,9,12,13,20-hexahidroxi-tiglien-3-ona):

10

Tabla 7: Datos de RMN para EBI-47 en DMSO-d<sub>6</sub> a 75/600 MHz

No.	$\delta^{13}\text{C}$	$\delta^1\text{H}$	Multiplicidad (J en Hz)
1	161.2	7.59	m
2	132.7		
3	207.2		
4	73.1		
5	67.8	3.94	dd (6.5)
6	63.6		
7	63.3	3.15	s
8	34.8	2.98	d (6.5)
9	76.6		
10	48.9	4.07	m
11	45.1	1.82	m
12	76.7	5.29	d (10.3)
13	65.2		
14	35.2	1.30	d (6.5)
15	26.4		
16	23.4	1.15	s

## ES 2 391 296 T3

17	16.9	1.16	s
18	14.5	0,70	d (6.5)
19	9.7	1.64	dd (2.9, 1.3)
20	62.3	3.82, 3.40	dd (12.4, 5.8), dd (12.4, 6.9)
1'	175.2		
2'	40.9	2.32	m
3'	26.2	1.55, 1.41	m
4'	11.3	0.84	t (7.4)
5'	16.6	1.06	d (7.0)
1"	177.4		
2"	40.5	2.30	m
3"	25.8	1.57, 1.37	m
4"	11.3	0.85	t (7.4)
5"	16.0	1.04	d (7.0)
4-OH		5.49	s
5-OH		5.17	d (6.5)
9-OH		5.30	s
20-OH		4.44	t (6.3)

5 Los resultados de los ensayos biológicos de las Tablas 8a y 8b claramente indican que el compuesto EBI-47 es eficaz como (A) un agente citotóxico y, por tanto, es útil en el tratamiento y la profilaxis de las enfermedades de células proliferativas, tales como un tumor, una leucemia, un linfoma y un trastorno relacionado, (B) un antiparasitario y por lo tanto sería útil en el tratamiento de la infestación por un antiparasitario tal como un ectoparásito y/o un endoparásito de un humano y/o animal, (D) un antiprotozario y por lo tanto sería útil en el tratamiento o profilaxis de una infección por protozoarios de los seres humanos y/o animales, y (C) un insecticida y por lo tanto sería útil su uso en la erradicación y/o la inhibición del crecimiento de un insecto incluyendo una amplia gama de especies de insectos.

Tabla 8a: Bioensayo de EBI-47

Muestra	Peso	Título de Ne /LD <sub>99</sub> <sup>4</sup>	Título de BS /LD <sub>99</sub> <sup>4</sup>	Título de Tr /LD <sub>99</sub> <sup>4</sup>	Título de Cy /LD <sub>99</sub> <sup>4</sup>	DipH <sup>4</sup>	Título de Gi /LD <sub>99</sub> <sup>4</sup>
EB548.LA4.61-29/32	44.6	2/31	0/-	0/-	4/16	P	2/31

<sup>4</sup>LD<sub>99</sub> en µg/mL calculado como el peso de la sustancia química en el último pozo con actividad, sin embargo, el valor real puede ser inferior ya que no se alcanzó el punto final. <sup>5</sup>Peso en mg.

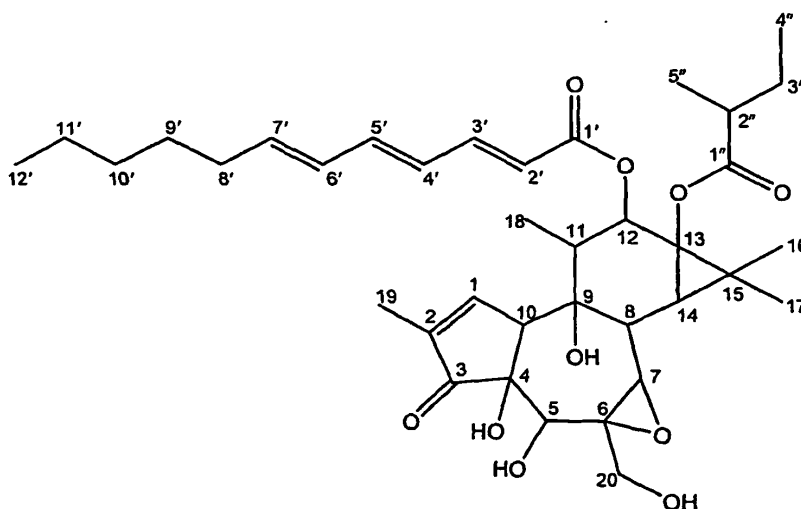
Tabla 8b: Bioensayo de EBI-47

Línea de células para el ensayo	Concentración de EB548.LA4.61-29/32 a la cual se observó inhibición en el crecimiento (µg/mL)
Fibroblastos humanos normales (NFF)	No se observó con 10
Leucemia humana K562	0.1
Melanoma humano MM418c5	0.03
Próstata humana DU145	10
Seno humano MCF-7	0.03

EBI-59

5 Aproximadamente un cuarto (100 mg) de la reunión de fracciones 62 a 66, a partir de la corrida del segundo gradiente de HPLC preparativa, se disolvió en metanol y se sometió a HPLC preparativa (10 mL/min con elución isocrática de agua / acetonitrilo al 80% durante 25 minutos, a través de una columna de 20 x 100 mm C18(2) Phenomenex Luna de 5 µm). La fracción 14 de la HPLC preparativa se concentró al vacío, se liofilizó y se analizó el producto resultante por espectroscopia UV, análisis por HPLC, ES-MS y RMN (Tabla 9). A partir del análisis por HPLC, ES-MS y RMN se determinó que EB548.LA4.85-14 contenía el siguiente compuesto, denominado en este documento como EBI-59 12-(dodeca-2,4,6-trienoil)-13-(2-metilbutanoil)-6,7-epoxi-4,5,9,12,13,20-hexahidroxi-1-tiglicen-3-ona (EBI-59).

10



# ES 2 391 296 T3

Tabla 9: Datos de RMN para EBI-59 en DMSO-d<sub>6</sub> a 75/600 MHz

No.	$\delta$ <sup>13</sup> C	$\delta$ <sup>1</sup> H	Multiplicidad (J en Hz)
1	161.3	7.60	s
2	132.7		
3	207.3		
4	73.1		
5	67.8	3.94	d (6.4)
6	63.6		
7	63.4	3.15	s
8	34.8	2.98	d (6.6)
9	76.6		
10	49.0	4.07	m
11	45.5	1.85	m
12	77.1	5.34	m
13	65.3		
14	35.3	1.28	m
15	26.7		
16	23.4	1.14	s
17	17.0	1.20	s
18	14.5	0,70	d (6.4)
19	9.7	1.64	m
20	62.3	3.82, 3.40	dd (12.4, 5.6), dd (12.4, 6.7)
1'	166.0		
2'	119.9	5.89	d (15.2)
3'	144.9	7.18	dd (15.2, 11.3)
4'	127.8	6.33	dd (14.9, 11.3)
5'	141.6	6.70	d (14.9, 10.7)
6'	130.0	6.18	dd (15.1, 10.7)
7'	140.6	5.98	m
8'	32.3	2.11	m



9'	28.1	1.36	m
10'	30.8	1.24	m
11'	21.9	1.25	m
12'	13.9	0.84	t (7.0)
1"	177.3		
2"	40.4	2.29	m
3"	25.8	1.57, 1.35	m, m
4"	11.4	0.85	t (7.4)
5"	16.2	1.04	d (7.0)
4-OH		5.50	s
5-OH		5.16	d (6.4)
20-OH		4.45	t (6.1)

5 Los resultados del bioensayo de la Tabla 10 indican claramente que el compuesto EBI-59 es eficaz como (A) un agente citotóxico y, por tanto, es útil en el tratamiento y la profilaxis de enfermedades proliferativas celulares, tales como tumores, leucemia, linfoma y trastornos relacionados, y (B) un insecticida y por lo tanto sería útil su uso en la erradicación y / o la inhibición del crecimiento de un insecto incluyendo una amplia gama de especies de insectos.

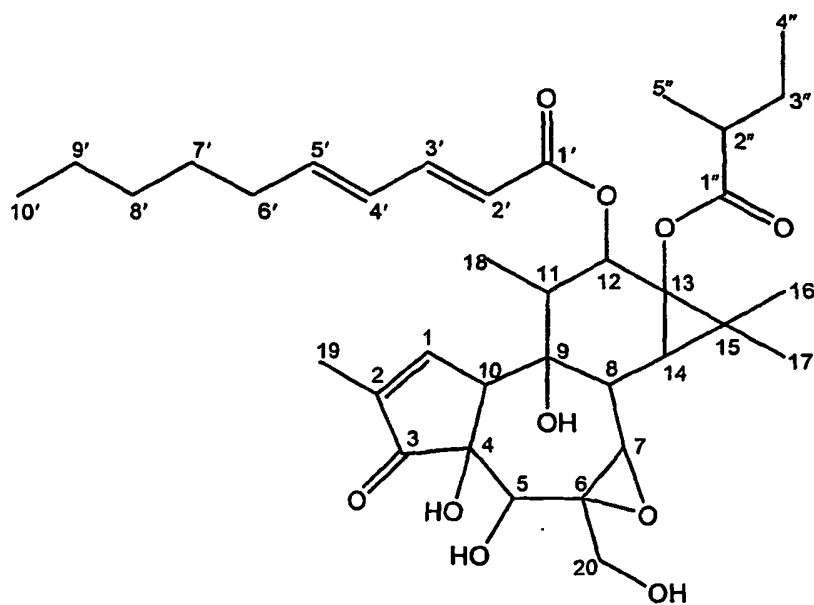
Tabla 10: Bioensayo de EBI-59

Muestra	Peso <sup>5</sup>	Título de Ne / LD <sub>99</sub> <sup>4</sup>	Título de Bs / LD <sub>99</sub> <sup>4</sup>	Título de Tr / LD <sub>99</sub> <sup>4</sup>	Título de Cy / LD <sub>99</sub> <sup>4</sup>	DipP <sup>4</sup> /DipH <sup>4</sup>
EB548.LA4.85-14	19.1	0/-	0/-	0/-	16/3.9	A/A

<sup>4</sup>LD<sub>99</sub> en µg/mL calculado como el peso de la sustancia química en el último pozo con actividad, sin embargo, el valor real puede ser inferior ya que no se alcanzó el punto final. <sup>5</sup>Peso en mg.

## EBI-61

10 De una manera similar a la elucidación de la estructura química expuesta más arriba de la reunión de las fracciones 35 a 36 (19,7 mg), a partir de la corrida del segundo gradiente de HPLC preparativa, se disolvió en metanol y se sometió a HPLC preparativa (10 mL/min con elución isocrática de agua / acetonitrilo al 80% durante 20 minutos, a través de una columna de 20 x 100 mm C18(2) Phenomenex Luna de 5 µm). La fracción 8 de la HPLC preparativa se concentró al vacío, se liofilizó y se analizó el producto resultante por espectroscopia UV, análisis por HPLC, ES-MS y RMN (Tabla 11). A partir del análisis por HPLC, ES-MS y RMN se determinó que EB548.LA4.87-8 contenía el siguiente compuesto, denominado en este documento como EBI-61 12-(deca-2,4-dienoil) -6,7-epoxi- 4,5,9,12,13,20-  
15 hexahidroxi-1-tiglicen-3-ona (EBI-61).

Tabla 11: Datos de RMN para EBI-61 en DMSO-d<sub>6</sub> a 75/600 MHz

No.	$\delta^{13}\text{C}$	$\delta^1\text{H}$	Multiplicidad (J en Hz)
1	161.2	7.60	s
2	132.7		
3	207.2		
4	73.1		
5	67.8	3.94	d (6.5)
6	63.6		
7	63.4	3.16	s
8	34.9	2.96	d (6.7)
9	76.6		
10	49.1	4.07	m
11	45.6	1.84	m
12	77.4	5.34	d (10.1)
13	65.3		
14	35.3	1.29	m
15	26.8		
16	23.4	1.14	s
17	17.0	1.21	s

18	14.5	0,70	d (6.4)
19	9.7	1.64	d (2.8, 1.2)
20	62.3	3.82, 3.40	dd (12.4, 5.7), dd (12.4, 6.8)
1'	166.0		
2'	121.4	5.94	d (15.2)
3'	139.0	7.45	ddd (15.2, 11.7, 1.0)
4'	126.4	6.22	m
5'	141.4	5.92	m
6'	27.5	2.23	m
7'	28.3	1.37	m
8'	30.7	1.24	m
9'	21.8	1.25	m
10'	13.8	0.84	t (7.2)
1"	177.2		
2"	40.4	2.30	m
3"	25.8	1.57, 1.35	m, m
4"	11.4	0.85	t (7.3)
5"	16.2	1.04	d (7.1)

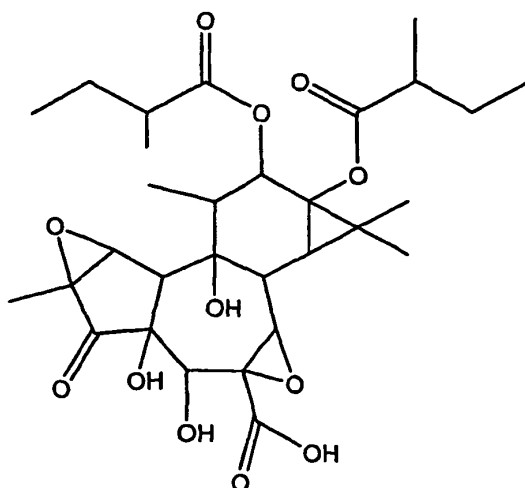
5 Los resultados del bioensayo de la Tabla 12 indican claramente que el compuesto EBI-61 es eficaz como (A) un agente citotóxico y, por tanto, sería útil en el tratamiento y la profilaxis de enfermedades proliferativas celulares, tales como un tumor, una leucemia, un linfoma y un trastorno relacionado, (B) un antiparasitario y por lo tanto sería útil en el tratamiento de la infestación por un antiparasitario tal como un ectoparásito y / o un endoparásito de un humano y / o animal, y (C) un insecticida y por lo tanto sería útil su uso en la erradicación y / o la inhibición del crecimiento de un insecto incluyendo una amplia gama de especies de insectos.

Tabla 12: Bioensayo de EBI-61

Muestra	Peso <sup>5</sup>	Título de Ne / LD <sub>99</sub> <sup>4</sup>	Título de Bs / LD <sub>99</sub> <sup>4</sup>	Título de Tr / LD <sub>99</sub> <sup>4</sup>	Título de Cy / LD <sub>99</sub> <sup>4</sup>	DipP <sup>4</sup> /DipH <sup>4</sup>
EB548.LA4.87-8	5.0	8/7.8	0/-	0/-	16/3.9	P/P

<sup>4</sup>LD<sub>99</sub> en µg/mL calculado como el peso de la sustancia química en el último pozo con actividad, sin embargo, el valor real puede ser inferior ya que no se alcanzó el punto final. <sup>5</sup>Peso en mg.

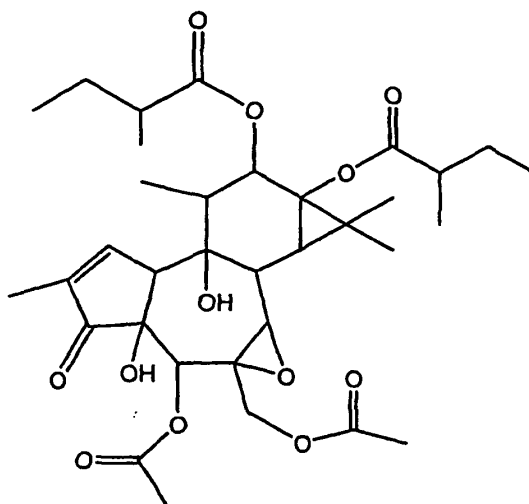
10 12,13-di-(2-metilbutanoil)-1,2-2H-1,2,6,7-diepoxi-6-carboxi-4,5,9,12,13-pentahidroxi-tiglien-3-ona



5

Se trató EBI-47 (1 mg) en 200  $\mu$ L de acetona con 50  $\mu$ L de solución DMDO y se agitó durante 1 hora a 0°C y 3 horas a temperatura ambiente para producir 12,13-di-(2-metilbutanoil)-1,2-2H-1,2,6,7-diepoxi-6-carboxi-4,5,9,12,13-pentahidroxi-tiglien-3-ona. MS (ESI) 617 (M + Na).

12,13-di-(2-metilbutanoil)-5,20-di-acetoil-4,5,9,12,13,20-hexahidroxi-tiglien-3-ona



10 EBI-47 (1 mg) fue tratado con 400  $\mu$ L de acetona y una solución de piridina (1:1) y se agitó durante 17 horas a temperatura ambiente para producir 12,13-di-(2-metilbutanoil)-5,20-di-acetoil-4,5,9,12,13,20-hexahidroxi-tiglien-3-ona. MS (ESI) 617 (M + Na).

15

#### Ejemplo 4

##### Modo de actividad

20

Aunque no se desea estar vinculado por ninguna teoría, se considera que el compuesto EBI-46 es un activador de la proteína quinasa C con base en sus perfiles similares de inhibición de crecimiento in vitro con el éster de forbol (TPA), la inhibición selectiva del crecimiento de la leucemia K562, el cáncer de mama MCF-7, el cáncer de colon Colo-205 y los melanomas D04 y SKMEL-5 con dosis aproximadamente 100 veces menores que para otras líneas de células tumorales humanas y para fibroblastos humanos normales. Además, se observó la dispersión de las células tumorales de colon MCF-7 y HT-29, típica de los activadores de PKC. Una línea particular de células de melanoma humano MM96L experimenta un cambio característico a morfología bipolar cuando es tratada con TPA o con EBI-46. Además, dada su similitud en estructura, EBI-47, EBI-59 y EBI-61 también se considera que son activadores de la proteína quinasa C.

25

#### Ejemplo 5

Citotoxicidad y reducción de los tumores con EBI-46

Material y métodos

El aislamiento de EBI-46 y de compuestos relacionados

5 Se pico materia prima vegetal de *Fontainea picrosperma* (EB548 o EB610), se extrajo con metanol, y se repartió entre agua y un disolvente orgánico (éter dietílico o acetato de etilo). Los estudios piloto incluyeron HPLC y análisis guiado de la actividad por HPTLC, luego la optimización de las condiciones para la purificación de la bioactividad, y la confirmación de la estabilidad. El fraccionamiento del grueso de la masa se llevó a cabo sobre gel de sílice 60 en éter de petróleo / acetona / metanol o en éter de petróleo / acetato de etilo / metanol, seguido por HPLC. Esta última involucró separación en fase reversa sobre una columna de 250 x 4,6 mm C18 Phenomenex Luna de 5 micras, en metanol-agua.

Se utilizó el siguiente gradiente (Método EB.M, flujo 2 mL / min) para la separación reportada en la Tabla 12.

15 Tabla 12

Tiempo	0	15	39	40	45	46	55
MeOH en %	70	80	84	100	100	70	70

Ensayos de bioactividad

20 Las líneas de células tumorales humanas eran: MCF-7 y T47D, cáncer de mama; DU145 y PC3, cáncer de próstata; CI80-13S, cáncer de ovario; MM96L, D04, SkMe15, melanoma; HT29, cáncer de colon. Fibroblastos de prepucio neonatal (NFF) se utilizaron como células normales de control. Las células se cultivaron a 37° C en 5% de dióxido de carbono / aire, en medio RPMI 1640 que contiene suero de ternera fetal al 10%.

25 Para los ensayos de inhibición de crecimiento, se sembraron células (2000 - 5000/pozo) en placas de 96 pozos por duplicado, tratadas con fármaco al día siguiente y se les permitió crecer durante otros 5 - 6 días. Las placas fueron luego lavadas en PBS (solución salina amortiguada con fosfato, pH 7,2), fijadas con etanol y teñidas mediante la adición de 50 µL de SRB al 0,4% (sulforodamina) en ácido acético al 1%. La placa se dejó a temperatura ambiente durante un mínimo de 15 minutos, después se lavó rápidamente con agua del grifo y luego dos veces con ácido acético al 1%. Después de la adición de 100 µL / pozo de base Tris 10 mM (no amortiguada, pH > 9), las placas se dejaron durante un mínimo de 5 minutos, luego se leyó la absorbancia a 564 nm en el lector de ELISA, con una agitación previa de 3 segundos. Después de la resta del blanco (pozos sin células, típicamente aproximadamente 0,04), se calculó la inhibición del crecimiento se calculó como % del control no tratado y se graficó contra la dosis.

35 Los experimentos con animales se realizaron con la aprobación del Queensland Institute of Medical Research (QIMR) Animal Ethics Committee. El modelo de melanoma de ratón B16 se obtuvo mediante la inyección de 0,5 millones de células de melanoma de ratón B16 por vía subcutánea en cada uno de los 2 costados de un ratón macho C57BL/6. Los xenoinjertos de tumores humanos se obtuvieron por inyección de 2 millones de la respectiva línea de células tumorales en cada uno de los 4 sitios en los costados de ratones macho desnudos (BALB / c de fondo). Se aplicó EBI-46: (a) por vía tópica mediante la dilución de una solución concentrada en acetona en un gel de isopropanol, una vez al día durante 3 días; (b) dentro de la lesión por medio de inyección en el tumor del fármaco disuelto en propilenglicol al 25% - solución salina 0,1 M, (c) sistémicamente por medio de inyección intraperitoneal en propilenglicol al 25% en solución salina 0,1 M. El tamaño del tumor se midió con calibradores electrónicos en mm y se convirtió en volumen (mm cúbicos) utilizando la fórmula:

45 Volumen del tumor = longitud x ancho x ancho / 2.

Resultados

1. Purificación de EBI-46 y de compuestos relacionados

50 El extracto orgánico se fraccionó por cromatografía sobre sílice, para dar una fracción (548-35), que contiene un pico bioactivo de alta pureza (RT: 25,131 minutos). La purificación adicional por HPLC produjo > 2 g de EBI-46 (RT: 25,262 minutos), a partir de 2 kg de material vegetal.

2. Pureza, estabilidad y solubilidad

55 La muestra a granel de EBI-46 se encontró que era > 95% pura por RMN y UV, el límite de detección de los instrumentos.

60 La retención de bioactividad a través de etapas de extracción y cromatografía implicó que la estructura era estable, y esto ha sido confirmado en la medida en que las soluciones de EBI-46 en etanol retienen la bioactividad cuando se mantienen a 4° C durante 4 semanas. Esto fue confirmado por un estudio de HPLC de la estabilidad en el vehículo

de suministro preferido para inyección dentro de la lesión (PEG 400 que contiene 10% de etanol) mantenida a 37° C. La estructura no tiene grupos fácilmente reactivos que de otro modo podrían conferir inestabilidad.

5 Al ser un éster de diterpeno, EBI-46 es altamente soluble en disolventes orgánicos incluyendo disolventes biocompatibles, tales como acetona, alcoholes y PEG 400. Se requiere una pequeña cantidad de tales disolventes para formar disoluciones acuosas. Las pruebas de solubilidad han demostrado 100% de solubilidad en todas las 3 concentraciones analizadas hasta el momento: 450 µg / mL en 90% de agua, 50 µg / mL en 99% de agua y 5 µg / mL en 99,9% de agua. Bien pueden alcanzarse solubilidades más altas.

10 Téngase en cuenta que EBI-46 es un fármaco potente y únicamente se requieren pequeñas cantidades. Por lo tanto, para una inyección dentro de la lesión de EBI-46, la concentración fue de 400 µg / mL (y no se requirió agua en este caso).

15 3. Perfil de bioactividad de EBI-46 y de compuestos relacionados *in vitro*: detención del crecimiento celular

La capacidad del extracto crudo de EB548 (Tabla 13), y de EBI-46 purificado (Fig. 4) para bloquear el crecimiento de las líneas de células tumorales humanas cultivadas y una cepa normal (fibroblastos humanos diploides) se probó en un ensayo de tipo clonogénico donde se permitió que transcurrieran muchas generaciones (5 - 6 días de tratamiento) antes de medir el crecimiento celular (coloración con proteína Sulforodamina). También se anotaron cambios en la morfología, y éstos eran idénticos a las inducidos por el conocido activador TPA de la proteína quinasa C (PKC) (acetato de tetradecanoil forbol), a saber morfología bipolar extrema en la línea de células MM96L y la dispersión de los grupos de células MCF-7.

25 Tabla 13. Sensibilidades relativas de células humanas para la inhibición del crecimiento por el extracto crudo rico en EBI-46 (EB548).

Los números representan la cantidad de extracto crudo requerida para producir 50% de inhibición del crecimiento (IC50) de la línea celular, en relación con la línea celular JAM (establecida arbitrariamente como 100).

Célula	
EB548	
Normal	
NFF	700
PBMC	1,2
<i>Tumor sólido</i>	
	<0,01
	0,003
A549 de pulmón	0,002
D04 de melanoma	200
HOP62 de pulmón	60
SKMel-28 de melanoma	<0,001
MM96L de melanoma	0,005
MM127 de melanoma	<0,001
MCF-7 de mama	200
Colo205 de colon	100

HT29 de colon JAM de ovario CI80-13S de ovario	200
<i>Leucemia</i>  K562 U937	<0,001  <0,01

Estos resultados fueron confirmados por EBI-46 purificado (Fig. 4)

5 Las líneas de células sensibles a EBI-46/EB548 (K562, HL60, MCF7, Colo205, MM127, D04, U937) también fueron sensibles en un grado similar a la inhibición del crecimiento por TPA (resultados no mostrados), con dosis aproximadamente 100 veces menores que para otras líneas de células tumorales humanas y para fibroblastos humanos normales y PBMC (células mononucleares de sangre periférica). Además, EBI-46 indujo la misma morfología bipolar en MM96L y en la dispersión celular de MCF-7 como TPA. Puesto que se ha observado que tales efectos son bloqueados por un inhibidor de la PKC, se considera que EBI-46 es un activador de PKC.

10 Bioactividades similares se observaron para EBI-47, EBI-61, EB610 p4 011206 y EBI 59-tal como se establece en la Tabla 14.

Tabla 14

HPLC de <i>Fontainea picrosperma</i> aislado bajo las siguientes condiciones:							
Columna:	Phenomenex Luna, 5µ, 250 x 4,60 mm, C18						
Flujo:	2 mL/minuto						
Sistema disolvente:	Metanol/agua						
Gradiente:							
Tiempo (min)	0	15	39	40	45	46	55
% de MeOH	70	80	84	100	100	70	70

Descriptor del compuesto	Tiempo de retención (min)	Actividad de la PKC*	Estructura
EBI-46	23,2	sí	EBI-46
EBI-49	22,6#	sí	EBI-49
EB610_EB_49.1	49,1	sí	sistema anular del forbol***
EB610_EB_26.6	26,6	sí	EBI-47
EB610_BB_32.3	32,3	sí	sistema anular del forbol***

(continuación)

Descriptor del compuesto	Tiempo de retención (min)	Actividad de la PKC*	Estructura
EB610_EB_48.2	48,2	sí	EBI-61
EB610_p4_011206	46,4	sí	sistema anular del forbol***
EBI-59	17,8**	sí	EBI-59

\* Activa la PKC en células tumorales cultivadas como se define por medio de dispersión e inhibición del crecimiento de células de cáncer de mama MCF7

\*\* Corrida sobre una columna Luna C18, isocrática 80% acetonitrilo - agua

\*\*\* Como se define por medio de RMN

# Corrida sobre una columna diferentes de HPLC.

Por lo tanto, también se considera que estos compuestos son activadores de la PKC y de utilidad potencial en las mismas indicaciones como se demuestra para EBI-46 a continuación.

5

4. Eficacia de EBI-46 en el tratamiento de tumores subcutáneos en ratones: aplicación tópica

La aplicación tópica de EBI-46 en un gel de isopropanol se llevó a cabo en el melanoma agresivo de ratón B16 en su huésped natural (singénico), ratones C57BL/6 (0,5 millones de células tumorales inyectadas por sitio).

10

La frecuencia (1 dosis diaria durante 3 días solamente) y el nivel de dosis para la aplicación tópica de activadores de la PKC se seleccionaron con base en la actividad *in vitro* en líneas celulares. Los materiales se disolvieron en acetona y se diluyó en un gel de isopropanol para la aplicación tópica.

15

El agresivo y rápido crecimiento y de melanoma de ratón B 16 es reconocido como un modelo de tumor muy riguroso en el cual probar agentes anticancerígenos. La rigurosidad se incrementó adicionalmente mediante la inyección de 10 veces más células tumorales que el mínimo requerido para formar un tumor en el animal. Un factor de confusión en la determinación de la eficacia de los tratamientos tópicos era que algunas células tumorales escaparon del sitio subcutáneo en una etapa temprana y se establecieron en el músculo subyacente, donde se supone que no llegaron el fármaco y su respuesta dérmica asociada del anfitrión. Tales tumores podían distinguirse de los tumores subcutáneos por su inmovilidad cuando se estiró la piel alrededor de todo el cuerpo del animal.

20

Por consiguiente, fue altamente significativo que aproximadamente 150 µg de EBI-46/sitio produjeran una buena respuesta (4 ratones y 4 controles, 2 sitios / ratón), con un sitio aparentemente curado, pero se tuvo que aplicar la eutanasia al ratón debido el otro sitio estaba creciendo. La respuesta inflamatoria fue leve. No hubo ningún signo de toxicidad sistémica o metástasis en el pulmón con cualquiera de los fármacos.

25

El nuevo crecimiento de las células tumorales después de 10 días no fue sorprendente, dada la rigurosidad del modelo (Fig. 5) y la elección algo arbitraria de la dosis y del régimen.

30

Lo anterior se repitió utilizando el carcinoma de células escamosas de ratón (SCC) inducido por UVB que se desarrolló en ratones desnudos (Fig. 6) y tratado con EBI-46 parcialmente purificado. Este modelo más realista para los cánceres de piel mostró una tasa de respuesta extremadamente alta, que se mantuvo durante un largo período de tiempo.

35

Una vez más, se obtuvo un excelente resultado, con recaídas que se presentaron después de 6 semanas debido principalmente a la extensión de los tumores del músculo subyacente, presumiblemente debido a estar fuera del alcance del fármaco tópico.

40

El experimento más reciente con aplicación tópica utilizó 2 dosis diferentes de EBI-46 (Fig. 7). La dosis baja fue de 100 µg / sitio y la dosis alta fue de 350 µg / sitio / tratamiento.

Este experimento produjo un excelente resultado con 350 µg de EBI-46/sitio, y mostró que era importante lograr un cierto nivel de dosis para lograr la eficacia.

45

5. Eficacia de EBI-46 en el tratamiento de tumores subcutáneos en ratones: inyección dentro de la lesión



Se llevó a cabo un estudio piloto sobre tumores LK-2 de 6 mm x 6 mm establecidos en ratones desnudos. Se inyectaron aproximadamente 50 µL de una solución de fracciones de EB548 (aproximadamente 20 µg de EBI-46 en la fracción de EB548-35) en solución salina que contenía 20% de acetona en 3 sitios alrededor de la periferia de cada lesión. Esto se hizo sólo una vez.

5 El resultado mostró una rápida ablación de los tumores visibles, (Figura 8) y una respuesta inflamatoria en el sitio de la inyección. El crecimiento del tumor se recuperó, presumiblemente debido a un suministro no óptimo.

10 El procedimiento anterior fue luego modificado, mediante el uso de PEG 400 que contiene 10% de etanol como vehículo. EBI-46 es libremente soluble en esta mezcla y el aumento de la viscosidad sirvió para restringir el suministro de fármaco en el sitio del tumor.

15 Con el suministro de PEG 400, se inyectaron 10 µg de EBI-46 en 25 µL de solución (calibre 29) con una aguja de insulina de 0,5 mL en un tumor de 7 mm x 7 mm, muy visible sobre el costado izquierdo de un ratón desnudo.

A las 16 horas, se había desarrollado una zona marcadamente inflamada y la masa del tumor había desaparecido en gran medida. Un área pequeña de la piel normal en la cresta de la espalda fue accidentalmente tratada por vía tópica con la preparación, y se desarrolló una respuesta inflamatoria leve.

20 Siete días más tarde, el sitio del tumor seguía siendo plano y se había formado una costra. La piel normal tratada en la cresta de la espalda también formó una costra. Este ratón se mantuvo libre de tumores por más de 9 meses y fue finalmente sacrificado debido a una condición no relacionada (el pene hinchado).

25 Además de la ventaja de la viscosidad para la localización del fármaco, PEG 400 produjo menos problemas con fugas después de la retirada de la aguja. PEG 400 solo no tuvo ningún efecto cuando fue inyectado en un tumor LK2 en otro ratón.

30 Un segundo modelo de ratón se puso a prueba en un estudio piloto, que involucra un tumor nasofaríngeo humano de 8 mm de diámetro implantado y creciendo subcutáneamente en el cuello de un ratón SCID-NOD. Se colocaron hasta 3 inyecciones de EBI-46 (un total de 25 µg en 75 µL de solución salina - 25% de propilenglicol) en los tumores NPC de 2 ratones. Se deshizo la costra de la zona tratada en un ratón, y sin indicios de un tumor residual. El crecimiento del tumor en el segundo ratón se retrasó, pero sin ablación.

#### 35 Administración sistémica de EBI-46

Una variedad de reportes utilizando células cultivadas sugieren que los activadores de PKC pueden tener potencial para el tratamiento de las neoplasias linfoides. La línea de linfoma de células B de múrido A20 se utilizó como modelo experimental, ya que se ha informado que crece bien en ratones y se parece mucho a la situación en humanos.

40 Se afeitaron ratones SCID-NOD (BALB / c de fondo) y se inyectaron células 10E7 A20 por vía subcutánea (2 sitios por ratón). Los tumores tendieron a crecer de una manera plana y difusa y se elevaron y pudieron ser medidos en los sitios de 10E7 sólo después de unos 15 días. Un ratón con tumores 10E7 fue luego inyectado en forma intraperitoneal a partir del día 18 con un total de 5 dosis de 20 - 25 µg de EBI-46 en solución salina - 5% de propilenglicol. La solución permaneció estable durante semanas a 4° C, y no hubo señales de insolubilidad a esta concentración (250 µg / mL).

45 Los resultados sugieren que el crecimiento del tumor en el ratón inyectado fue fuertemente inhibida por EBI-46, en comparación con un ratón no tratado 10E7. El crecimiento aumentó cuando se detuvo el tratamiento y se sacrificó el ratón a los 27 días.

#### 50 Vehículos para el suministro de EBI-46

55 La consideración de la estructura y la estabilidad de EBI-46 conduce a la utilización de disolventes próticos que sean biocompatibles. Alcohol bencílico y Cremaphor serían algunas de las posibilidades, pero no han sido probados. Se escogió PEG 400 debido a su uso común, pero podrían ser adecuados disolventes similares, y el uso de agujas más grandes; y el uso de agujas más largas obviaría la necesidad de diluir ligeramente con etanol. Ninguno de los materiales anteriores se esterilizó deliberadamente, a pesar de que se utilizaron en los ratones inmunodeficientes desnudos.

#### 60 Problemas de seguridad

65 El operador, al igual que con cualquier fármaco potente, debe usar protección personal (guantes, abrigo / bata, protección ocular). EBI-46 puede causar inflamación de la piel. Puede ser desactivado con solución de carbonato de sodio.

Los animales no han mostrado pérdida de peso, síntomas de angustia o efectos secundarios. Los órganos internos parecían ser normales en la disección pero no se hizo una histología o una toxicología formal.

Discusión

5 EBI-46 puede ser extraído del disolvente a partir del material EB548 y aunque están presentes otros compuestos que tienen actividad similar, EBI-46 viaja en una región despejada del cromatograma y por lo tanto es relativamente fácil de purificar. Se obtuvieron las mismas bioactividades a partir del extracto crudo a través de la estructura purificada. Las propiedades relevantes para su uso potencial como un compuesto farmacéutico han sido hasta ahora favorables: disponibilidad, pureza, estabilidad y solubilidad en el vehículo de suministro.

10 El perfil de inhibición del crecimiento celular reveló que EBI-46 es un activador de PKC, mostrando una selectividad muy alta para un subconjunto de tumores sólidos y líneas celulares de leucemia, en comparación con las células normales y algunas otras líneas de células tumorales. La aplicación local, tal como a través de una crema tópica o de una inyección al interior de la lesión es probablemente para despejar estos sitios debido a una combinación de muerte directa (dosis local alta) y a la eliminación de las células tumorales periféricas por la respuesta inmune innata del huésped como se evidencia por la reacción inflamatoria temprana en el sitio de la aplicación.

15 La inyección al interior de la lesión requiere de menos fármaco que la aplicación tópica, y únicamente un tratamiento, para obtener una respuesta significativa. Si ocurre una recaída, por ejemplo a un lado de la lesión original, serían posibles inyecciones repetidas. La inyección también proporciona un suministro más positivo que confía en la aplicación tópica en sitios de grosor diferente de la piel.

20 Es importante señalar que la eficacia del tratamiento local no requiere que el tumor objetivo sea intrínsecamente sensible a EBI-46. Las células agresivas de melanoma B16 de ratón, por ejemplo, son bastante resistentes en cultivo, pero responden al fármaco por vía tópica en el ratón. Presumiblemente, la respuesta vigorosa del huésped es un factor importante. Esta cepa C57BL/6 es muy diferente de las BALB / c de fondo del ratón desnudo, lo que indica que ni las diferencias de las cepas ni la falta de una adecuada inmunidad por parte de las células T inhibe la eficacia de EBI-46.

25 La capacidad de tratamiento local con EBI-46 para trabajar en otras especies de ratones aún debe ser evaluado. La piel del ratón es muy delgada (la mitad del espesor de la piel humana), lo que hace a la inyección al interior de la lesión más atractiva. Se escogió PEG 400 como vehículo, ya que se utiliza ampliamente para la administración de fármacos y porque su viscosidad (rebajado ligeramente con etanol al 10% para lograr ser inyectado) puede limitar la difusión lejos de la zona de la inyección.

30 Nótese también que EBI-46 causa una respuesta inflamatoria en la piel normal. Hay informes anecdóticos de diversas savias de plantas que se utilizan para tratar las verrugas. Esto plantea la posibilidad de utilizar EBI-46 para la ablación de las cicatrices queloides, psoriasis, verrugas, carnosidades y otras condiciones no malignas de la piel.

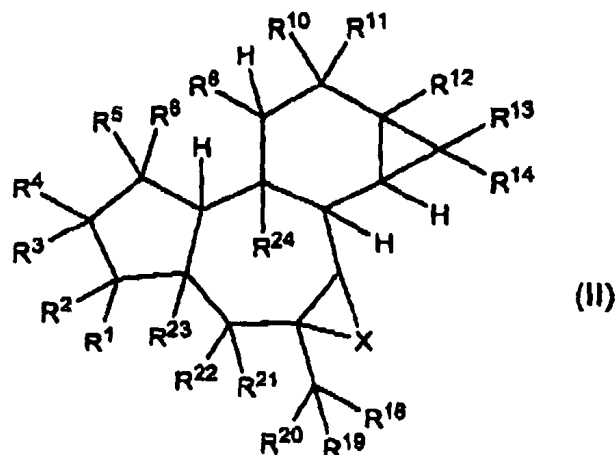
35 El tratamiento local puede encontrar aplicación importante más allá de las lesiones cutáneas. Puede ser factible tratar localmente, por medio de una inyección o de preparaciones tópicas formuladas en forma adecuada formulados, tumores que amenazan la vida tales como los tumores de la cavidad oral, el esófago y el intestino. Esto podría llevarse a cabo en conjunción con medios físicos o farmacológicos para limitar el escape del fármaco en la circulación.

40 A todo lo largo de esta memoria descriptiva, a menos que el contexto especifique otra cosa, la palabra "comprende", y variaciones tales como "que comprende" o "que contiene", se entenderá que implican la inclusión de un número entero o grupo de números enteros o etapas, pero no con la exclusión de cualquier otro entero o grupo de enteros.

50

## REIVINDICACIONES

1. Un compuesto de fórmula (II);



5

en donde:

X se selecciona de -O-, -S- y -NR<sup>25</sup>-;

10 R<sup>1</sup> y R<sup>2</sup> se seleccionan independientemente de hidrógeno, -OH, -O-alquilo C<sub>1</sub> - C<sub>10</sub>, -O-alqueno C<sub>2</sub> - C<sub>10</sub>, -O-alqueno C<sub>2</sub> - C<sub>10</sub>,

15 -O-cicloalquilo, -OC(O)alquilo C<sub>1</sub> - C<sub>10</sub>, -OC(O)alqueno C<sub>1</sub> - C<sub>10</sub>, -OC(O)alqueno C<sub>2</sub> - C<sub>10</sub>, -OC(O)cicloalquilo, -OC(O)heterociclilo, -OC(O)heteroarilo, -OC(O)NH-alquilo C<sub>1</sub> - C<sub>10</sub>, -OC(O)NH-alqueno C<sub>2</sub> - C<sub>10</sub>, -OC(O)NH-alqueno C<sub>2</sub> - C<sub>10</sub>, -OC(O)NH-cicloalquilo, -OC(O)NH-arilo, -OC(O)NH-heterociclilo, -OC(O)NH-heteroarilo, -OC(S)NH-alquilo C<sub>1</sub> - C<sub>10</sub>, -OC(S)NH-alqueno C<sub>2</sub> - C<sub>10</sub>, -OC(S)NH-alqueno C<sub>1</sub> - C<sub>10</sub>, -OC(S)NH-cicloalquilo, -OC(S)NH-arilo, -OC(S)NH-heterociclilo, -OC(S)NH-heteroarilo o R<sup>1</sup> y R<sup>2</sup> tomados juntos son =O, =S, =NH o =N(alquilo C<sub>1</sub> - C<sub>6</sub>);

20 R<sup>3</sup> es hidrógeno, -alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>, -alqueno C<sub>2</sub> - C<sub>10</sub> o -alqueno C<sub>2</sub> - C<sub>10</sub>; R<sup>4</sup> y R<sup>5</sup> son cada uno hidrógeno, -alquilo C<sub>1</sub> - C<sub>10</sub>, -alqueno C<sub>1</sub> - C<sub>10</sub>, -alqueno C<sub>2</sub> - C<sub>10</sub>, -OH, -O-alquilo C<sub>1</sub> - C<sub>10</sub>, -O-alqueno C<sub>2</sub> - C<sub>10</sub>, -O-alqueno C<sub>2</sub> - C<sub>10</sub>, -O-cicloalquilo, -O-alquilo C(O)C<sub>1</sub> - C<sub>10</sub>, -OC(O)-alqueno C<sub>2</sub> - C<sub>10</sub>, -OC(O)-alqueno C<sub>2</sub> - C<sub>10</sub>, -OC(O)cicloalquilo, -OC(O)arilo, -OC(O)heterociclilo, -OC(O)heteroarilo, -OC(O)NH-alquilo C<sub>1</sub> - C<sub>10</sub>, -OC(O)NH-alqueno C<sub>2</sub> - C<sub>10</sub>, -OC(O)NH-alqueno C<sub>2</sub> - C<sub>10</sub>, -OC(O)NH-cicloalquilo, -OC(O)NH-arilo, -OC(O)NH-heterociclilo, -OC(O)NH-heteroarilo, -OC(S)NH-alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>, -OC(S)NH-alqueno C<sub>2</sub> - C<sub>10</sub>, -OC(S)NH-alqueno C<sub>2</sub> - C<sub>10</sub>, -OC(S)NH-cicloalquilo, -OC(S)NH-arilo, -OC(S)NH-heterociclilo, -OC(S)NH-heteroarilo, F, Cl, Br, I, -CN, -NO<sub>2</sub> o N(R<sup>25</sup>)<sub>2</sub>, o R<sup>4</sup> y R<sup>5</sup> tomados juntos forman un doble enlace o son -O-, -S-, -NR<sup>25</sup>- o -CR<sup>26</sup>R<sup>27</sup>-;

25 R<sup>6</sup> se selecciona de hidrógeno, -alquilo C<sub>1</sub> - C<sub>10</sub>, -alqueno C<sub>2</sub> - C<sub>10</sub> y -alqueno C<sub>2</sub> - C<sub>10</sub>;

R<sup>8</sup> se selecciona de hidrógeno, -alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>, -alqueno C<sub>2</sub> - C<sub>10</sub> y -alqueno C<sub>2</sub> - C<sub>10</sub>;

R<sup>10</sup> se selecciona de hidrógeno, -alquilo C<sub>1</sub> - C<sub>10</sub>, -alqueno C<sub>2</sub> - C<sub>10</sub> y -alqueno C<sub>1</sub> - C<sub>10</sub>;

30 R<sup>11</sup> se selecciona de -OH, -O-alquilo C<sub>1</sub> - C<sub>20</sub>, -O-alqueno C<sub>2</sub> - C<sub>20</sub>, -O-alqueno C<sub>2</sub> - C<sub>20</sub>, -O-cicloalquilo, -OC(O)alquilo C<sub>1</sub> - C<sub>20</sub>, -OC(O)alqueno C<sub>2</sub> - C<sub>20</sub>, -OC(O)alqueno C<sub>1</sub> - C<sub>20</sub>, -OC(O)cicloalquilo, -OC(O)arilo, -OC(O)heterociclilo, -OC(O)heteroarilo, -OC(O)NH-alquilo C<sub>1</sub> - C<sub>20</sub>, -OC(O)NH-alqueno C<sub>2</sub> - C<sub>20</sub>, -OC(O)NH-alqueno C<sub>1</sub> - C<sub>20</sub>, -OC(O)NH-cicloalquilo, -OC(O)NH-arilo, -OC(O)NH-heterociclilo, -OC(O)NH-heteroarilo, -OC(S)NH-alquilo C<sub>1</sub> - C<sub>20</sub>, -OC(S)NH-alqueno C<sub>2</sub> - C<sub>20</sub>, -OC(S)NH-alqueno C<sub>2</sub> - C<sub>20</sub>, -OC(S)NH-cicloalquilo, -OC(S)NH-arilo, -OC(S)NH-heterociclilo, -OC(S)NH-heteroarilo o R<sup>10</sup> y R<sup>11</sup> tomados juntos forman un grupo carbonilo (=O);

35 R<sup>12</sup> se selecciona de -OH, -O-alquilo C<sub>1</sub> - C<sub>20</sub>, -O-alqueno C<sub>2</sub> - C<sub>20</sub>, -O-alqueno C<sub>2</sub> - C<sub>20</sub>, -O-cicloalquilo, -OC(O)alquilo C<sub>1</sub> - C<sub>20</sub>, -OC(O)alqueno C<sub>2</sub> - C<sub>20</sub>, -OC(O)alqueno C<sub>2</sub> - C<sub>20</sub>, -OC(O)cicloalquilo, -OC(O)arilo, -OC(O)heterociclilo, -OC(O)heteroarilo, -OC(O)NH-alquilo C<sub>1</sub> - C<sub>20</sub>, -OC(O)NH-alqueno C<sub>2</sub> - C<sub>10</sub>, -OC(O)NH-alqueno C<sub>2</sub> - C<sub>20</sub>, -OC(O)NH-cicloalquilo, -OC(O)NH-arilo, -OC(O)NH-heterociclilo, -OC(O)NH-heteroarilo, -OC(S)NH-alquilo C<sub>1</sub> - C<sub>20</sub>, -OC(S)NH-alqueno C<sub>2</sub> - C<sub>20</sub>, -OC(S)NH-alqueno C<sub>2</sub> - C<sub>20</sub>, -OC(S)NH-cicloalquilo, -OC(S)NH-arilo, -OC(S)NH-heterociclilo, -OC(S)NH-heteroarilo;

40 R<sup>13</sup> y R<sup>14</sup> se seleccionan independientemente de hidrógeno y -alquilo C<sub>1</sub> - C<sub>10</sub>;

R<sup>18</sup> se selecciona de -alquilo C<sub>1</sub> - C<sub>20</sub>, -alqueno C<sub>2</sub> - C<sub>20</sub>, -alqueno C<sub>2</sub> - C<sub>20</sub>, -OH, -O-alquilo C<sub>1</sub> - C<sub>10</sub>, -O-alqueno C<sub>1</sub> - C<sub>10</sub>, -O-alqueno C<sub>2</sub> - C<sub>20</sub>, -O-cicloalquilo, -OC(O)alquilo C<sub>1</sub> - C<sub>20</sub>, -OC(O)alqueno C<sub>2</sub> - C<sub>20</sub>, -OC(O)alqueno C<sub>2</sub> - C<sub>20</sub>, -OC(O)cicloalquilo, -OC(O)arilo, -OC(O)heterociclilo, -OC(O)heteroarilo, -NH-alquilo C<sub>1</sub> - C<sub>20</sub>, -NH-alqueno C<sub>1</sub> - C<sub>20</sub>, -NH-alqueno C<sub>2</sub> - C<sub>20</sub>, -NH-cicloalquilo, -NH-arilo, -NH-heterociclilo, -NH-heteroarilo, -OC(O)NH-alquilo C<sub>1</sub> - C<sub>20</sub>, -OC(O)NH-alqueno C<sub>2</sub> - C<sub>20</sub>, -OC(O)NH-alqueno C<sub>2</sub> - C<sub>20</sub>, -OC(O)NH-cicloalquilo, -OC(O)NH-arilo, -OC(O)NH-heterociclilo, -OC(O)NH-heteroarilo, -OC(S)NH-alquilo C<sub>1</sub> - C<sub>20</sub>, -OC(S)NH-alqueno C<sub>2</sub> - C<sub>20</sub>, -OC(S)NH-alqueno C<sub>2</sub> - C<sub>20</sub>, -OC(S)NH-cicloalquilo, -OC(S)NH-arilo, -OC(S)NH-heterociclilo, -OC(S)NH-heteroarilo;

45 R<sup>19</sup> y R<sup>20</sup> se seleccionan independientemente de hidrógeno, -alquilo C<sub>1</sub> - C<sub>6</sub>, -alqueno C<sub>2</sub> - C<sub>6</sub>, -alqueno C<sub>2</sub> - C<sub>6</sub>, -

OH, -O-alquilo C<sub>1</sub> - C<sub>6</sub>, -O-alqueno C<sub>2</sub> - C<sub>6</sub>, -O-alquino C<sub>2</sub> - C<sub>6</sub>, -O-cicloalquilo, -OC(O)alquilo C<sub>1</sub> - C<sub>4</sub>, -OC(O)alqueno C<sub>2</sub> - C<sub>6</sub>, -OC(O)alquino C<sub>2</sub> - C<sub>6</sub>, OC(O)cicloalquilo, -OC(O)arilo, -OC(O)heterociclilo, -OC(O)heteroarilo o R<sup>19</sup> y R<sup>20</sup> tomados juntos forman un grupo carbonilo o tiocarbonilo;

R<sup>21</sup> se selecciona de hidrógeno, -alquilo C<sub>1</sub> - C<sub>10</sub>, -alqueno C<sub>2</sub> - C<sub>10</sub> y -alquino C<sub>2</sub> - C<sub>10</sub>;

5 R<sup>22</sup> se selecciona de -OH, -O-alquilo C<sub>1</sub> - C<sub>20</sub>, -O-alqueno C<sub>2</sub> - C<sub>20</sub>, -O-alquino C<sub>1</sub> - C<sub>20</sub>, -O-cicloalquilo, -OC(O)alquilo C<sub>1</sub> - C<sub>20</sub>, -OC(O)alqueno C<sub>2</sub> - C<sub>20</sub>, -OC(O)alquino C<sub>2</sub> - C<sub>20</sub>, -OC(O)cicloalquilo, -OC(O)arilo, -OC(O)heterociclilo, -OC(O)heteroarilo, -OC(O)NH-alquilo C<sub>1</sub> - C<sub>20</sub>, -OC(O)NH-alqueno C<sub>2</sub> - C<sub>20</sub>, -OC(O)NH-alquino C<sub>2</sub> - C<sub>20</sub>, -OC(O)NH-cicloalquilo, -OC(O)NH-arilo, -OC(O)NH-heterociclilo, -OC(O)NH-heteroarilo, -OC(S)NH-alquilo C<sub>1</sub> - C<sub>20</sub>, -OC(S)NH-alqueno C<sub>2</sub> - C<sub>20</sub>, -OC(S)NH-alquino C<sub>2</sub> - C<sub>20</sub>, -OC(S)NH-cicloalquilo, -OC(S)NH-arilo, -OC(S)NH-heterociclilo, -OC(S)NH-heteroarilo o R<sup>21</sup> y R<sup>22</sup> tomados juntos forman un grupo carbonilo;

10 R<sup>23</sup> se selecciona de hidrógeno, -OH, -O-alquilo C<sub>1</sub> - C<sub>20</sub>, -O-alqueno C<sub>2</sub> - C<sub>20</sub>, -O-alquino C<sub>2</sub> - C<sub>20</sub>, -O-cicloalquilo, -OC(O)alquilo C<sub>1</sub> - C<sub>20</sub>, -OC(O)alqueno C<sub>2</sub> - C<sub>20</sub>, -OC(O)alquino C<sub>2</sub> - C<sub>20</sub>, -OC(O)cicloalquilo, -OC(O)arilo, -OC(O)heterociclilo, -OC(O)heteroarilo, -OC(O)NH-alquilo C<sub>1</sub> - C<sub>20</sub>, -OC(O)NH-alqueno C<sub>2</sub> - C<sub>20</sub>, -OC(O)NH-alquino C<sub>2</sub> - C<sub>20</sub>, -OC(O)NH-cicloalquilo, -OC(O)NH-arilo, -OC(O)NH-heterociclilo, -OC(O)NH-heteroarilo, -OC(S)NH-alquilo C<sub>1</sub> - C<sub>20</sub>, -OC(S)NH-alqueno C<sub>2</sub> - C<sub>20</sub>, -OC(S)NH-alquino C<sub>2</sub> - C<sub>10</sub>, -OC(S)NH-cicloalquilo, -OC(S)NH-arilo, -OC(S)NH-heterociclilo, -OC(S)NH-heteroarilo;

15 R<sup>24</sup> se selecciona de hidrógeno, -OH, -O-alquilo C<sub>1</sub> - C<sub>20</sub>, -O-alqueno C<sub>2</sub> - C<sub>20</sub>, -O-alquino C<sub>1</sub> - C<sub>20</sub>, -O-cicloalquilo, -OC(O)alquilo C<sub>1</sub> - C<sub>20</sub>, -OC(O)alqueno C<sub>2</sub> - C<sub>20</sub>, -OC(O)alquino C<sub>2</sub> - C<sub>20</sub>, -OC(O)cicloalquilo, -OC(O)arilo, -OC(O)heterociclilo, -OC(O)heteroarilo, -OC(O)NH-alquilo C<sub>1</sub> - C<sub>20</sub>, -OC(O)NH-alqueno C<sub>2</sub> - C<sub>20</sub>, -OC(O)NH-alquino C<sub>2</sub> - C<sub>20</sub>, -OC(O)NH-cicloalquilo, -OC(O)NH-arilo, -OC(O)NH-heterociclilo, -OC(O)NH-heteroarilo, -OC(S)NH-alquilo C<sub>1</sub> - C<sub>20</sub>, -OC(S)NH-alqueno C<sub>2</sub> - C<sub>20</sub>, -OC(S)NH-alquino C<sub>2</sub> - C<sub>20</sub>, -OC(S)NH-cicloalquilo, -OC(S)NH-arilo, -OC(S)NH-heterociclilo, -OC(S)NH-heteroarilo;

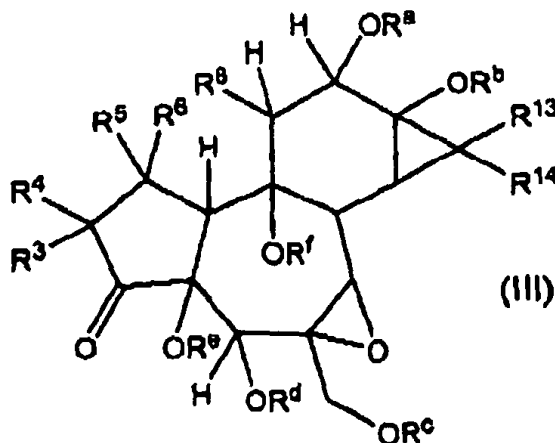
20 R<sup>25</sup> se selecciona de hidrógeno y -alquilo C<sub>1</sub> - C<sub>10</sub>;

25 R<sup>26</sup> y R<sup>27</sup> se seleccionan independientemente de hidrógeno, -alquilo C<sub>1</sub> - C<sub>10</sub>, -OH, -O-alquilo C<sub>1</sub> - C<sub>10</sub>;

en donde cada alquilo, alqueno, alquino, cicloalquilo, arilo, heterociclilo y heteroarilo está opcionalmente sustituido; e isómeros geométricos o estereoisómeros de los mismos y sales farmacéuticamente aceptables, aceptables para uso agrícola o como plaguicidas de los mismos;

30 con la advertencia de que el compuesto en el cual X es O, R<sup>1</sup> y R<sup>2</sup> son ambos =O, R<sup>3</sup> es metilo, R<sup>4</sup> y R<sup>5</sup> forman un doble enlace, R<sup>6</sup> es hidrógeno, R<sup>8</sup> es metilo, R<sup>10</sup> es hidrógeno, R<sup>11</sup> es OC(O)CH<sub>3</sub>, R<sup>12</sup> es OC(O)CH<sub>3</sub>, R<sup>13</sup> y R<sup>14</sup> son ambos metilo, R<sup>18</sup> es OC(O)CH<sub>3</sub>, R<sup>19</sup> y R<sup>20</sup> son ambos hidrógeno, R<sup>21</sup> es hidrógeno, R<sup>22</sup> es OH y R<sup>23</sup> es OH está excluido.

2. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 1, en donde el compuesto es un compuesto de fórmula (III):



35 en donde:

R<sup>3</sup> es hidrógeno, -alquilo C<sub>1</sub> - C<sub>6</sub> o -alqueno C<sub>2</sub> - C<sub>6</sub>;

40 R<sup>4</sup> y R<sup>5</sup> son cada uno independientemente hidrógeno, -alquilo C<sub>1</sub> - C<sub>6</sub>, -alqueno C<sub>2</sub> - C<sub>6</sub>, -OH, -O-alquilo C<sub>1</sub> - C<sub>6</sub>, -O-alqueno C<sub>2</sub> - C<sub>6</sub>, -OC(O)alquilo C<sub>1</sub> - C<sub>6</sub>, -OC(O)alqueno C<sub>2</sub> - C<sub>6</sub>, -OC(O)arilo, -OC(O)heterociclilo, -OC(O)heteroarilo, F, Cl, Br o I, o R<sup>4</sup> y R<sup>5</sup> tomados juntos forman un doble enlace o son -O-;

R<sup>6</sup> es hidrógeno, -alquilo C<sub>1</sub> - C<sub>6</sub> o -alqueno C<sub>2</sub> - C<sub>6</sub>;

R<sup>8</sup> es hidrógeno, -alquilo C<sub>1</sub> - C<sub>6</sub> o -alqueno C<sub>2</sub> - C<sub>6</sub>;

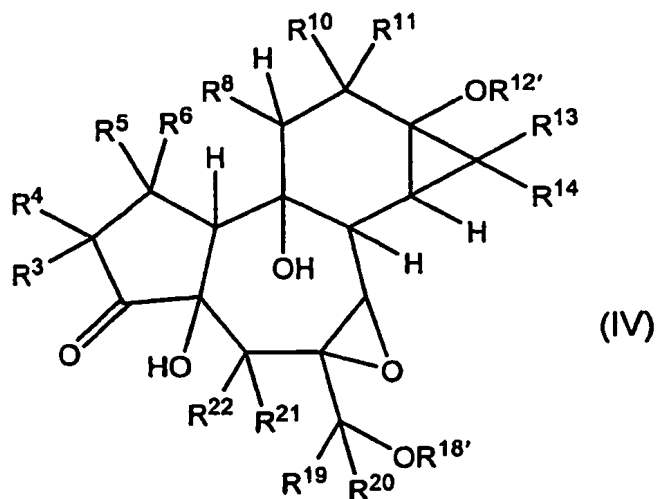
R<sup>13</sup> y R<sup>14</sup> son cada uno independientemente hidrógeno o -alquilo C<sub>1</sub> - C<sub>6</sub>;

45 R<sup>a</sup>, R<sup>b</sup>, R<sup>c</sup>, R<sup>d</sup>, R<sup>e</sup> y R<sup>f</sup> son cada uno independientemente seleccionados de hidrógeno, -alquilo C<sub>1</sub> - C<sub>20</sub>, -alqueno C<sub>2</sub> - C<sub>20</sub>, -alquino C<sub>2</sub> - C<sub>20</sub>, -C(O)alquilo C<sub>1</sub> - C<sub>20</sub>, -C(O)alqueno C<sub>2</sub> - C<sub>20</sub>, -C(O)alquino C<sub>2</sub> - C<sub>20</sub>, -C(O)cicloalquilo, -

C(O)arilo, -C(O)heterociclilo, -C(O)heteroarilo, -C(O)NH-alquilo C<sub>1</sub> - C<sub>20</sub>, -C(O)NH-alqueno C<sub>2</sub> - C<sub>20</sub>, -C(O)NH-alqueno C<sub>2</sub> - C<sub>20</sub>, -C(O)NH-cicloalquilo, -C(O)NH-arilo, -C(O)NH-heterociclilo, -C(O)NH-heteroarilo, -C(S)NH-alquilo C<sub>1</sub> - C<sub>20</sub>, -C(S)NH-alqueno C<sub>2</sub> - C<sub>20</sub>, -C(S)NH-alqueno C<sub>2</sub> - C<sub>20</sub>, -C(S)NH-cicloalquilo, -C(S)NH-arilo, -C(S)NH-heterociclilo y -C(S)NH-heteroarilo;

5 en donde cada grupo alquilo, alqueno, arilo, heterociclilo y heteroarilo está opcionalmente sustituido; o isómeros geométricos o estereoisómeros y sales farmacéuticamente aceptables, aceptables para uso agrícola o como plaguicidas de los mismos.

3. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 1, en donde el compuesto es un compuesto de fórmula (IV):



10 en donde:

R<sup>3</sup> es hidrógeno, -alquilo C<sub>1</sub> - C<sub>6</sub> o -alqueno C<sub>2</sub> - C<sub>6</sub>;

R<sup>4</sup> y R<sup>5</sup> son cada uno independientemente hidrógeno, -alquilo C<sub>1</sub> - C<sub>6</sub>, -alqueno C<sub>2</sub> - C<sub>6</sub>, -OH, -O-alquilo C<sub>1</sub> - C<sub>6</sub>, -O-alqueno C<sub>2</sub> - C<sub>6</sub>, -O-C(O)alquilo C<sub>1</sub> - C<sub>6</sub>, -OC(O)alqueno C<sub>2</sub> - C<sub>6</sub>, -OC(O)arilo, -OC(O)heterociclilo, -OC(O)heteroarilo, F, Cl, Br o I, o R<sup>4</sup> y R<sup>5</sup> tomados juntos forman un doble enlace o son -O-;

15 R<sup>6</sup> es hidrógeno, -alquilo C<sub>1</sub> - C<sub>6</sub> o -alqueno C<sub>2</sub> - C<sub>6</sub>;

R<sup>8</sup> es hidrógeno, -alquilo C<sub>1</sub> - C<sub>6</sub> o -alqueno C<sub>2</sub> - C<sub>6</sub>;

R<sup>10</sup> es hidrógeno;

R<sup>11</sup> es hidroxilo, -O-alquilo C<sub>1</sub> - C<sub>20</sub>, -O-alqueno C<sub>2</sub> - C<sub>20</sub>, -OC(O)alquilo C<sub>1</sub> - C<sub>20</sub>, -OC(O)alqueno C<sub>2</sub> - C<sub>20</sub>, -OC(O)arilo, -OC(O)heterociclilo, -OC(O)heteroarilo; o R<sup>10</sup> y R<sup>11</sup> tomados juntos forman un grupo carbonilo;

20 R<sup>12'</sup> es hidrógeno, -alquilo C<sub>1</sub> - C<sub>20</sub>, -alqueno C<sub>2</sub> - C<sub>20</sub>, -C(O)alquilo C<sub>1</sub> - C<sub>20</sub>, -C(O)alqueno C<sub>2</sub> - C<sub>20</sub>, -C(O)arilo, -C(O)heterociclilo o -C(O)heteroarilo;

R<sup>13</sup> y R<sup>14</sup> son cada uno independientemente hidrógeno o -alquilo C<sub>1</sub> - C<sub>6</sub>;

R<sup>18</sup> es hidrógeno, -alquilo C<sub>1</sub> - C<sub>6</sub>, -alqueno C<sub>2</sub> - C<sub>6</sub>, -C(O)alquilo C<sub>1</sub> - C<sub>6</sub>, -C(O)alqueno C<sub>2</sub> - C<sub>6</sub>, -C(O)arilo, -C(O)heterociclilo o -C(O)heteroarilo;

25 R<sup>19</sup> y R<sup>20</sup> se seleccionan independientemente de hidrógeno, -OH, -O-alquilo C<sub>1</sub> - C<sub>6</sub>, -O-alqueno C<sub>2</sub> - C<sub>6</sub> o R<sup>19</sup> y R<sup>20</sup> tomados juntos forman un grupo carbonilo;

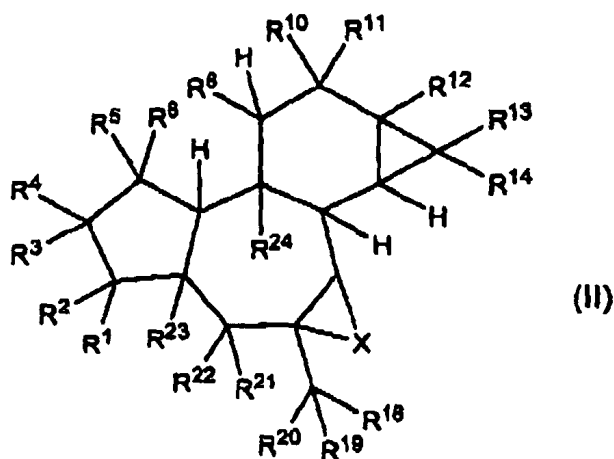
R<sup>21</sup> es hidrógeno;

R<sup>22</sup> es hidroxilo, -O-alquilo C<sub>1</sub> - C<sub>6</sub>, -O-alqueno C<sub>2</sub> - C<sub>6</sub>, -OC(O)alquilo C<sub>1</sub> - C<sub>6</sub>, -OC(O)alqueno C<sub>2</sub> - C<sub>6</sub>, -OC(O)arilo, -OC(O)heterociclilo, -OC(O)heteroarilo o R<sup>21</sup> y R<sup>22</sup> tomados juntos forman un grupo carbonilo;

30 en donde cada alquilo, alqueno, arilo, heterociclilo o heteroarilo está opcionalmente sustituido; e isómeros geométricos o estereoisómeros de los mismos y sales farmacéuticamente aceptables, aceptables para agricultura o como plaguicidas de los mismos.

35 4. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 1, en donde R<sup>1</sup> y R<sup>2</sup> se seleccionan independientemente de hidrógeno, hidroxilo, -O-alquilo C<sub>1</sub> - C<sub>6</sub>, -O-alqueno C<sub>2</sub> - C<sub>6</sub>, -OC(O)alquilo C<sub>1</sub> - C<sub>6</sub>, o -OC(O)alqueno C<sub>2</sub> - C<sub>6</sub> o R<sup>1</sup> y R<sup>2</sup> tomados juntos forman un grupo carbonilo.

5. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 1, en donde  $R^4$  y  $R^5$  forman un doble enlace o  $R^4$  y  $R^5$  son hidrógeno o juntos son -O-.
- 5 6. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 1, en donde  $R^8$  es hidrógeno o -alquilo  $C_1 - C_3$ .
7. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 1, en donde  $R^{11}$  se selecciona de hidroxilo, -alcoxi  $C_1 - C_{20}$ , -alquenilo  $C_2 - C_{20}$ , -OC(O)alquilo  $C_1 - C_{20}$  o -OC(O)alquenilo  $C_2 - C_{20}$  y  $R^{12}$  se selecciona de hidroxilo, -alcoxi  $C_1 - C_{20}$ , -alquenilo  $C_2 - C_{20}$ , -OC(O)alquilo  $C_1 - C_{20}$  o -OC(O)alquenilo  $C_2 - C_{20}$ .
- 10 8. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 1, en donde  $R^{13}$  y  $R^{14}$  se seleccionan independientemente de hidrógeno y -alquilo  $C_1 - C_3$ .
9. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 1, en donde X es -O-.
- 15 10. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 1, en donde  $R^{19}$  y  $R^{20}$  son hidrógeno, hidroxilo, -O-alquilo  $C_1 - C_3$ , -O-alquenilo  $C_2 - C_3$  o  $R^{19}$  y  $R^{20}$  tomados juntos forman un grupo carbonilo y  $R^{18}$  se selecciona de hidroxilo, -O-alquilo  $C_1 - C_6$ , -O-alquenilo  $C_2 - C_6$ , -OC(O)alquilo  $C_1 - C_6$  o -OC(O)alquenilo  $C_2 - C_6$ .
- 20 11. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 1, en donde  $R^{22}$  es hidroxilo, -O-alquilo  $C_1 - C_6$ , -O-alquenilo  $C_2 - C_6$ , -OC(O)alquilo  $C_1 - C_6$  o -OC(O)alquenilo  $C_2 - C_6$ .
12. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 1, en donde  $R^{23}$  y  $R^{24}$  son cada uno hidroxilo.
- 25 13. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 1, que es
- (12-tigloil-13-(2-metilbutanoil)-6,7-epoxi-4,5,9,12,13,20-hexahidroxi-1-tiglien-3-ona);
- (12,13-di-(2-metilbutanoil)-6,7-epoxi-4,5,9,12,13,20-hexahidroxi-tiglien-3-ona);
- 12-(dodeca-2,4,6-trienoil)-13-(2-metilbutanoil)-6,7-epoxi-4,5,9,12,13,20-hexahidroxi-1-tiglien-3-ona;
- 12-(deca-2,4-dienoil)-6,7-epoxi-4,5,9,12,13,20-hexahidroxi-1-tiglien-3-ona;
- 30 12,13-di-(2-metilbutanoil)-1,2-2H-1,2,6,7-diepoxi-6-carboxi-4,5,9,12,13-pentahidroxi-tiglien-3-ona; y
- 12,13-di-(2-metilbutanoil)-5,20-di-acetoil-4,5,9,12,13,20-hexahidroxi-tiglien-3-ona.
14. Un compuesto de fórmula (II):



35 en donde:

- X se selecciona de -O-, -S- y -NR<sup>25</sup>-;
- $R^1$  y  $R^2$  se seleccionan independientemente de hidrógeno, -OH, -O-alquilo  $C_1 - C_{10}$ , -O-alquenilo  $C_2 - C_{10}$ , -O-alquinilo  $C_2 - C_{10}$ ,
- 40 -O-cicloalquilo, -OC(O)alquilo  $C_1 - C_{10}$ , -OC(O)alquenilo  $C_1 - C_{10}$ , -OC(O)alquinilo  $C_2 - C_{10}$ , -OC(O)cicloalquilo, -OC(O)heterociclilo, -OC(O)heteroarilo, -OC(O)NH-alquilo  $C_1 - C_{10}$ , -OC(O)NH-alquenilo  $C_2 - C_{10}$ , -OC(O)NH-alquinilo  $C_2 - C_{10}$

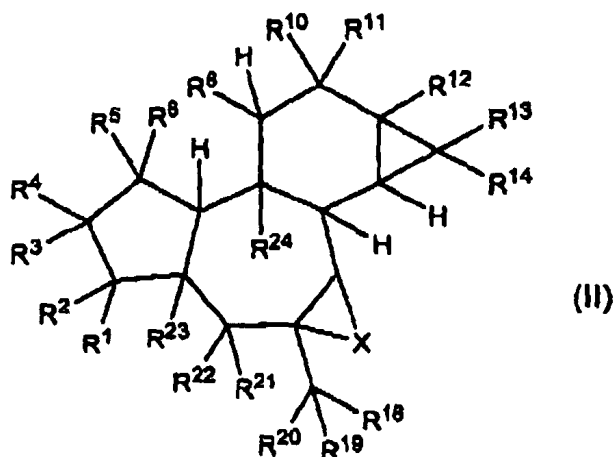
- C<sub>10</sub>, -OC(O)NH-cicloalquilo, -OC(O)NH-arilo, -OC(O)NH-heterociclilo, -OC(O)NH-heteroarilo, -OC(S)NH-alquilo C<sub>1</sub> - C<sub>10</sub>, -OC(S)NH-alqueno C<sub>2</sub> - C<sub>10</sub>, -OC(S)NH-alquino C<sub>1</sub> - C<sub>10</sub>, -OC(S)NH-cicloalquilo, -OC(S)NH-arilo, -OC(S)NH-heterociclilo, -OC(S)NH-heteroarilo o R<sup>1</sup> y R<sup>2</sup> tomados juntos son =O, =S, =NH o =N(alquilo C<sub>1</sub> - C<sub>6</sub>);
- R<sup>3</sup> es hidrógeno, -alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>, -alqueno C<sub>2</sub> - C<sub>10</sub> o -alquino C<sub>1</sub> - C<sub>10</sub>;
- 5 R<sup>4</sup> y R<sup>5</sup> son cada uno hidrógeno, -alquilo C<sub>1</sub> - C<sub>10</sub>, -alqueno C<sub>1</sub> - C<sub>10</sub>, -alquino C<sub>2</sub> - C<sub>10</sub>, -OH, -O-alquilo C<sub>1</sub> - C<sub>10</sub> -O-alqueno C<sub>2</sub> - C<sub>10</sub>, -O-alquino C<sub>1</sub> - C<sub>10</sub>, -O-cicloalquilo, -O-alquilo C(O)C<sub>1</sub> - C<sub>10</sub>, -OC(O)-alqueno C<sub>2</sub> - C<sub>10</sub>, -OC(O)-alquino C<sub>1</sub> - C<sub>10</sub>, -OC(O)cicloalquilo, -OC(O)arilo, -OC(O)heterociclilo, -OC(O)heteroarilo, -OC(O)NH-alquilo C<sub>1</sub> - C<sub>10</sub>, -OC(O)NH-alqueno C<sub>2</sub> - C<sub>10</sub>, -OC(O)NH-alquino C<sub>1</sub> - C<sub>10</sub>, -OC(O)NH-cicloalquilo, -OC(O)NH-arilo, -OC(O)NH-heterociclilo, -OC(O)NH-heteroarilo, -OC(S)NH-alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>, -OC(S)NH-alqueno C<sub>2</sub> - C<sub>10</sub>, -OC(S)NH-alquino C<sub>1</sub> - C<sub>10</sub>, -OC(S)NH-cicloalquilo, -OC(S)NH-arilo, -OC(S)NH-heterociclilo, -OC(S)NH-heteroarilo, F, Cl, Br, I, -CN, -NO<sub>2</sub> o N(R<sup>25</sup>)<sub>2</sub>, o R<sup>4</sup> y R<sup>5</sup> tomados juntos forman un doble enlace o son -O-, -S-, -NR<sup>25</sup>- o -CR<sup>26</sup>R<sup>27</sup>-;
- R<sup>6</sup> se selecciona de hidrógeno, -alquilo C<sub>1</sub> - C<sub>10</sub>, -alqueno C<sub>2</sub> - C<sub>10</sub> y -alquino C<sub>1</sub> - C<sub>10</sub>;
- R<sup>8</sup> se selecciona de hidrógeno, -alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>, -alqueno C<sub>2</sub> - C<sub>10</sub> y -alquino C<sub>1</sub> - C<sub>10</sub>;
- R<sup>10</sup> se selecciona de hidrógeno, -alquilo C<sub>1</sub> - C<sub>10</sub>, -alqueno C<sub>2</sub> - C<sub>10</sub> y -alquino C<sub>1</sub> - C<sub>10</sub>;
- 15 R<sup>11</sup> se selecciona de -OH, -O- alquilo C<sub>1</sub> - C<sub>20</sub>, -O-alqueno C<sub>2</sub> - C<sub>20</sub>, -O-alquino C<sub>1</sub> - C<sub>20</sub>, -O-cicloalquilo, -OC(O)alquilo C<sub>1</sub> - C<sub>20</sub>, -OC(O)alqueno C<sub>2</sub> - C<sub>20</sub>, -OC(O)alquino C<sub>1</sub> - C<sub>20</sub>, -OC(O)cicloalquilo, -OC(O)arilo, -OC(O)heterociclilo, -OC(O)heteroarilo, -OC(O)NH-alquilo C<sub>1</sub> - C<sub>20</sub>, -OC(O)NH-alqueno C<sub>2</sub> - C<sub>20</sub>, -OC(O)NH-alquino C<sub>1</sub> - C<sub>20</sub>, -OC(O)NH-cicloalquilo, -OC(O)NH-arilo, -OC(O)NH-heterociclilo, -OC(O)NH-heteroarilo, -OC(S)NH-alquilo C<sub>1</sub> - C<sub>20</sub>, -OC(S)NH-alqueno C<sub>2</sub> - C<sub>20</sub>, -OC(S)NH-alquino C<sub>1</sub> - C<sub>20</sub>, -OC(S)NH-cicloalquilo, -OC(S)NH-arilo, -OC(S)NH-heterociclilo, -OC(S)NH-heteroarilo o R<sup>10</sup> y R<sup>11</sup> tomados juntos forman un grupo carbonilo (=O);
- 20 R<sup>12</sup> se selecciona de -OH, -O-alquilo C<sub>1</sub> - C<sub>20</sub>, -O-alqueno C<sub>2</sub> - C<sub>20</sub>, -O-alquino C<sub>1</sub> - C<sub>20</sub>, -O-cicloalquilo, -OC(O)alquilo C<sub>1</sub> - C<sub>20</sub>, -OC(O)alqueno C<sub>2</sub> - C<sub>20</sub>, -OC(O)alquino C<sub>1</sub> - C<sub>20</sub>, -OC(O)cicloalquilo, -OC(O)arilo, -OC(O)heterociclilo, -OC(O)heteroarilo, -OC(O)NH-alquilo C<sub>1</sub> - C<sub>20</sub>, -OC(O)NH-alqueno C<sub>2</sub> - C<sub>10</sub>, -OC(O)NH-alquino C<sub>1</sub> - C<sub>20</sub>, -OC(O)NH-cicloalquilo, -OC(O)NH-arilo, -OC(O)NH-heterociclilo, -OC(O)NH-heteroarilo, -OC(S)NH-alquilo C<sub>1</sub> - C<sub>20</sub>, -OC(S)NH-alqueno C<sub>2</sub> - C<sub>20</sub>, -OC(S)NH-alquino C<sub>1</sub> - C<sub>20</sub>, -OC(S)NH-cicloalquilo, -OC(S)NH-arilo, -OC(S)NH-heterociclilo, -OC(S)NH-heteroarilo;
- 25 R<sup>13</sup> y R<sup>14</sup> se seleccionan independientemente de hidrógeno y -alquilo C<sub>1</sub> - C<sub>10</sub>;
- R<sup>18</sup> se selecciona de -alquilo C<sub>1</sub> - C<sub>20</sub>, -alqueno C<sub>2</sub> - C<sub>20</sub>, -alquino C<sub>1</sub> - C<sub>20</sub>, -OH, -O-alquilo C<sub>1</sub> - C<sub>10</sub>, -O-alqueno C<sub>1</sub> - C<sub>10</sub>, -O-alquino C<sub>1</sub> - C<sub>20</sub>, -O-cicloalquilo, -OC(O)alquilo C<sub>1</sub> - C<sub>20</sub>, -OC(O)alqueno C<sub>2</sub> - C<sub>20</sub>, -OC(O)alquino C<sub>1</sub> - C<sub>20</sub>, -OC(O)cicloalquilo, -OC(O)arilo, -OC(O)heterociclilo, -OC(O)heteroarilo, -NH-alquilo C<sub>1</sub> - C<sub>20</sub>, -NH-alqueno C<sub>1</sub> - C<sub>20</sub>, -NH-alquino C<sub>1</sub> - C<sub>20</sub>, -NH-cicloalquilo, -NH-arilo, -NH-heterociclilo, -NH-heteroarilo, -OC(O)NH-alquilo C<sub>1</sub> - C<sub>20</sub>, -OC(O)NH-alqueno C<sub>2</sub> - C<sub>20</sub>, -OC(O)NH-alquino C<sub>1</sub> - C<sub>20</sub>, -OC(O)NH-cicloalquilo, -OC(O)NH-arilo, -OC(O)NH-heterociclilo, -OC(O)NH-heteroarilo, -OC(S)NH-alquilo C<sub>1</sub> - C<sub>10</sub>, -OC(S)NH-alqueno C<sub>2</sub> - C<sub>20</sub>, -OC(S)NH-alquino C<sub>1</sub> - C<sub>20</sub>, -OC(S)NH-cicloalquilo, -OC(S)NH-arilo, -OC(S)NH-heterociclilo, -OC(S)NH-heteroarilo;
- 35 R<sup>19</sup> y R<sup>20</sup> se seleccionan independientemente de hidrógeno, -alquilo C<sub>1</sub> - C<sub>6</sub>, -alqueno C<sub>2</sub> - C<sub>6</sub>, -OH, -O-alquilo C<sub>1</sub> - C<sub>6</sub>, -O-alqueno C<sub>2</sub> - C<sub>6</sub>, -O-alquino C<sub>1</sub> - C<sub>6</sub>, -O-cicloalquilo, -OC(O)alquilo C<sub>1</sub> - C<sub>4</sub>, -OC(O)alqueno C<sub>2</sub> - C<sub>6</sub>, -OC(O)alquino C<sub>1</sub> - C<sub>6</sub>, -OC(O)cicloalquilo, -OC(O)arilo, -OC(O)heterociclilo, -OC(O)heteroarilo o R<sup>19</sup> y R<sup>20</sup> tomados juntos forman un grupo carbonilo o tiocarbonilo;
- R<sup>21</sup> se selecciona de hidrógeno, -alquilo C<sub>1</sub> - C<sub>10</sub>, -alqueno C<sub>2</sub> - C<sub>10</sub> y -alquino C<sub>1</sub> - C<sub>10</sub>;
- 40 R<sup>22</sup> se selecciona de -OH, -O-alquilo C<sub>1</sub> - C<sub>20</sub>, -O-alqueno C<sub>2</sub> - C<sub>20</sub>, -O-alquino C<sub>1</sub> - C<sub>20</sub>, -O-cicloalquilo, -OC(O)alquilo C<sub>1</sub> - C<sub>20</sub>, -OC(O)alqueno C<sub>2</sub> - C<sub>20</sub>, -OC(O)alquino C<sub>1</sub> - C<sub>20</sub>, -OC(O)cicloalquilo, -OC(O)arilo, -OC(O)heterociclilo, -OC(O)heteroarilo, -OC(O)NH-alquilo C<sub>1</sub> - C<sub>20</sub>, -OC(O)NH-alqueno C<sub>2</sub> - C<sub>20</sub>, -OC(O)NH-alquino C<sub>1</sub> - C<sub>20</sub>, -OC(O)NH-cicloalquilo, -OC(O)NH-arilo, -OC(O)NH-heterociclilo, -OC(O)NH-heteroarilo, -OC(S)NH-alquilo C<sub>1</sub> - C<sub>20</sub>, -OC(S)NH-alqueno C<sub>2</sub> - C<sub>20</sub>, -OC(S)NH-alquino C<sub>1</sub> - C<sub>20</sub>, -OC(S)NH-cicloalquilo, -OC(S)NH-arilo, -OC(S)NH-heterociclilo, -OC(S)NH-heteroarilo o R<sup>21</sup> y R<sup>22</sup> tomados juntos forman un grupo carbonilo;
- 45 R<sup>23</sup> se selecciona de hidrógeno, -OH, -O-alquilo C<sub>1</sub> - C<sub>20</sub>, -O-alqueno C<sub>2</sub> - C<sub>20</sub>, -O-alquino C<sub>1</sub> - C<sub>20</sub>, -O-cicloalquilo, -OC(O)alquilo C<sub>1</sub> - C<sub>20</sub>, -OC(O)alqueno C<sub>2</sub> - C<sub>20</sub>, -OC(O)alquino C<sub>1</sub> - C<sub>20</sub>, -OC(O)cicloalquilo, -OC(O)arilo, -OC(O)heterociclilo, -OC(O)heteroarilo, -OC(O)NH-alquilo C<sub>1</sub> - C<sub>20</sub>, -OC(O)NH-alqueno C<sub>2</sub> - C<sub>20</sub>, -OC(O)NH-alquino C<sub>1</sub> - C<sub>20</sub>, -OC(O)NH-cicloalquilo, -OC(O)NH-arilo, -OC(O)NH-heterociclilo, -OC(O)NH-heteroarilo, -OC(S)NH-alquilo C<sub>1</sub> - C<sub>20</sub>, -OC(S)NH-alqueno C<sub>2</sub> - C<sub>20</sub>, -OC(S)NH-alquino C<sub>1</sub> - C<sub>20</sub>, -OC(S)NH-cicloalquilo, -OC(S)NH-arilo, -OC(S)NH-heterociclilo, -OC(S)NH-heteroarilo;
- 50 R<sup>24</sup> se selecciona de hidrógeno, -OH, -O-alquilo C<sub>1</sub> - C<sub>20</sub>, -O-alqueno C<sub>2</sub> - C<sub>20</sub>, -O-alquino C<sub>1</sub> - C<sub>20</sub>, -O-cicloalquilo, -OC(O)alquilo C<sub>1</sub> - C<sub>20</sub>, -OC(O)alqueno C<sub>2</sub> - C<sub>20</sub>, -OC(O)alquino C<sub>1</sub> - C<sub>20</sub>, -OC(O)cicloalquilo, -OC(O)arilo, -OC(O)heterociclilo, -OC(O)heteroarilo, -OC(O)NH-alquilo C<sub>1</sub> - C<sub>20</sub>, -OC(O)NH-alqueno C<sub>2</sub> - C<sub>20</sub>, -OC(O)NH-alquino C<sub>1</sub> - C<sub>20</sub>, -OC(O)NH-cicloalquilo, -OC(O)NH-arilo, -OC(O)NH-heterociclilo, -OC(O)NH-heteroarilo, -OC(S)NH-alquilo C<sub>1</sub> - C<sub>20</sub>, -OC(S)NH-alqueno C<sub>2</sub> - C<sub>20</sub>, -OC(S)NH-alquino C<sub>1</sub> - C<sub>20</sub>, -OC(S)NH-cicloalquilo, -OC(S)NH-arilo, -OC(S)NH-heterociclilo, -OC(S)NH-heteroarilo;
- 55 R<sup>25</sup> se selecciona de hidrógeno y -alquilo C<sub>1</sub> - C<sub>10</sub>;
- R<sup>26</sup> y R<sup>27</sup> se seleccionan independientemente de hidrógeno, -alquilo C<sub>1</sub> - C<sub>10</sub>, -OH, -O-alquilo C<sub>1</sub> - C<sub>10</sub>;
- 60

en donde cada alquilo, alqueno, alquino, cicloalquilo, arilo, heterociclilo y heteroarilo está opcionalmente sustituido; e isómeros geométricos o estereoisómeros de los mismos, o una sal farmacéuticamente aceptable, para uso en un método de tratamiento o prevención de una enfermedad o condición.

15. Una composición farmacéutica o plaguicida que contiene un compuesto de fórmula (II) como se define en la reivindicación 14, o una sal del mismo farmacéuticamente aceptable, aceptable para uso agrícola o como plaguicida; y un portador del mismo farmacéuticamente aceptable, aceptable para uso agrícola o como plaguicida;

5 con la advertencia de que el compuesto en el cual X es O, R<sup>1</sup> y R<sup>2</sup> son ambos =O, R<sup>3</sup> es metilo, R<sup>4</sup> y R<sup>5</sup> forman un doble enlace, R<sup>6</sup> es hidrógeno, R<sup>8</sup> es metilo, R<sup>10</sup> es hidrógeno, R<sup>11</sup> es OC(O)CH<sub>3</sub>, R<sup>12</sup> es OC(O)CH<sub>3</sub>, R<sup>13</sup> y R<sup>14</sup> son ambos metilo, R<sup>18</sup> es OC(O)CH<sub>3</sub>, R<sup>19</sup> y R<sup>20</sup> son ambos hidrógeno, R<sup>21</sup> es hidrógeno, R<sup>22</sup> es OH y R<sup>23</sup> es OH, el portador no es ni metanol ni etanol al 96%.

16. Un compuesto de fórmula (II):



10 en donde:

X se selecciona de -O-, -S- y -NR<sup>25</sup>-;

R<sup>1</sup> y R<sup>2</sup> se seleccionan independientemente de hidrógeno, -OH, -O-alquilo C<sub>1</sub> - C<sub>10</sub>, -O-alqueno C<sub>2</sub> - C<sub>10</sub>, -O-alquino C<sub>2</sub> - C<sub>10</sub>,

15 -O-cicloalquilo, -OC(O)alquilo C<sub>1</sub> - C<sub>10</sub>, -OC(O)alqueno C<sub>1</sub> - C<sub>10</sub>, -OC(O)alquino C<sub>2</sub> - C<sub>10</sub>, -OC(O)cicloalquilo, -OC(O)heterociclilo, -OC(O)heteroarilo, -OC(O)NH-alquilo C<sub>1</sub> - C<sub>10</sub>, -OC(O)NH-alqueno C<sub>2</sub> - C<sub>10</sub>, -OC(O)NH-alquino C<sub>2</sub> - C<sub>10</sub>, -OC(O)NH-cicloalquilo, -OC(O)NH-arilo, -OC(O)NH-heterociclilo, -OC(O)NH-heteroarilo, -OC(S)NH-alquilo C<sub>1</sub> - C<sub>10</sub>, -OC(S)NH-alqueno C<sub>2</sub> - C<sub>10</sub>, -OC(S)NH-alquino C<sub>1</sub> - C<sub>10</sub>, -OC(S)NH-cicloalquilo, -OC(S)NH-arilo, -OC(S)NH-heterociclilo, -OC(S)NH-heteroarilo o R<sup>1</sup> y R<sup>2</sup> tomados juntos son =O, =S, =NH o =N(alquilo C<sub>1</sub> - C<sub>6</sub>);

20 R<sup>3</sup> es hidrógeno, -alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>, -alqueno C<sub>2</sub> - C<sub>10</sub> o -alquino C<sub>2</sub> - C<sub>10</sub>;

25 R<sup>4</sup> y R<sup>5</sup> son cada uno hidrógeno, -alquilo C<sub>1</sub> - C<sub>10</sub>, -alqueno C<sub>1</sub> - C<sub>10</sub>, -alquino C<sub>2</sub> - C<sub>10</sub>, -OH, -O-alquilo C<sub>1</sub> - C<sub>10</sub> -O-alqueno C<sub>2</sub> - C<sub>10</sub>, -O-alquino C<sub>2</sub> - C<sub>10</sub>, -O-cicloalquilo, -O-alquilo C(O)C<sub>1</sub> - C<sub>10</sub>, -OC(O)-alqueno C<sub>2</sub> - C<sub>10</sub>, -OC(O)-alquino C<sub>2</sub> - C<sub>10</sub>, -OC(O)cicloalquilo, -OC(O)arilo, -OC(O)heterociclilo, -OC(O)heteroarilo, -OC(O)NH-alquilo C<sub>1</sub> - C<sub>10</sub>, -OC(O)NH-alqueno C<sub>2</sub> - C<sub>10</sub>, -OC(O)NH-alquino C<sub>2</sub> - C<sub>10</sub>, -OC(O)NH-cicloalquilo, -OC(O)NH-arilo, -OC(O)NH-heterociclilo, -OC(O)NH-heteroarilo, -OC(S)NH-alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>, -OC(S)NH-alqueno C<sub>2</sub> - C<sub>10</sub>, -OC(S)NH-alquino C<sub>2</sub> - C<sub>10</sub>, -OC(S)NH-cicloalquilo, -OC(S)NH-arilo, -OC(S)NH-heterociclilo, -OC(S)NH-heteroarilo, F, Cl, Br, I, -CN, -NO<sub>2</sub> o N(R<sup>25</sup>)<sub>2</sub>, o R<sup>4</sup> y R<sup>5</sup> tomados juntos forman un doble enlace o son -O-, -S-, -NR<sup>25</sup>- o -CR<sup>26</sup>R<sup>27</sup>-;

30 R<sup>6</sup> se selecciona de hidrógeno, -alquilo C<sub>1</sub> - C<sub>10</sub>, -alqueno C<sub>2</sub> - C<sub>10</sub> y -alquino C<sub>2</sub> - C<sub>10</sub>;

R<sup>8</sup> se selecciona de hidrógeno, -alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>, -alqueno C<sub>2</sub> - C<sub>10</sub> y -alquino C<sub>2</sub> - C<sub>10</sub>;

R<sup>10</sup> se selecciona de hidrógeno, -alquilo C<sub>1</sub> - C<sub>10</sub>, -alqueno C<sub>2</sub> - C<sub>10</sub> y -alquino C<sub>1</sub> - C<sub>10</sub>;

35 R<sup>11</sup> se selecciona de -OH, -O- alquilo C<sub>1</sub> - C<sub>20</sub>, -O-alqueno C<sub>2</sub> - C<sub>20</sub>, -O-alquino C<sub>2</sub> - C<sub>20</sub>, -O-cicloalquilo, -OC(O)alquilo C<sub>1</sub> - C<sub>20</sub>, -OC(O)alqueno C<sub>2</sub> - C<sub>20</sub>, -OC(O)alquino C<sub>1</sub> - C<sub>20</sub>, -OC(O)cicloalquilo, -OC(O)arilo, -OC(O)heterociclilo, -OC(O)heteroarilo, -OC(O)NH-alquilo C<sub>1</sub> - C<sub>20</sub>, -OC(O)NH-alqueno C<sub>2</sub> - C<sub>20</sub>, -OC(O)NH-alquino C<sub>1</sub> - C<sub>20</sub>, -OC(O)NH-cicloalquilo, -OC(O)NH-arilo, -OC(O)NH-heterociclilo, -OC(O)NH-heteroarilo, -OC(S)NH-alquilo C<sub>1</sub> - C<sub>20</sub>, -OC(S)NH-alqueno C<sub>2</sub> - C<sub>20</sub>, -OC(S)NH-alquino C<sub>2</sub> - C<sub>20</sub>, -OC(S)NH-cicloalquilo, -OC(S)NH-arilo, -OC(S)NH-heterociclilo, -OC(S)NH-heteroarilo o R<sup>10</sup> y R<sup>11</sup> tomados juntos forman un grupo carbonilo (=O);

40 R<sup>12</sup> se selecciona de -OH, -O-alquilo C<sub>1</sub> - C<sub>20</sub>, -O-alqueno C<sub>2</sub> - C<sub>20</sub>, -O-alquino C<sub>2</sub> - C<sub>20</sub>, -O-cicloalquilo, -OC(O)alquilo C<sub>1</sub> - C<sub>20</sub>, -OC(O)alqueno C<sub>2</sub> - C<sub>20</sub>, -OC(O)alquino C<sub>2</sub> - C<sub>20</sub>, -OC(O)cicloalquilo, -OC(O)arilo, -OC(O)heterociclilo, -OC(O)heteroarilo, -OC(O)NH-alquilo C<sub>1</sub> - C<sub>20</sub>, -OC(O)NH-alqueno C<sub>2</sub> - C<sub>10</sub>, -OC(O)NH-alquino C<sub>2</sub> - C<sub>20</sub>, -OC(O)NH-cicloalquilo, -OC(O)NH-arilo, -OC(O)NH-heterociclilo, -OC(O)NH-heteroarilo, -OC(S)NH-alquilo C<sub>1</sub> - C<sub>20</sub>, -OC(S)NH-alqueno C<sub>2</sub> - C<sub>20</sub>, -OC(S)NH-alquino C<sub>2</sub> - C<sub>20</sub>, -OC(S)NH-cicloalquilo, -OC(S)NH-arilo, -OC(S)NH-heterociclilo, -OC(S)NH-heteroarilo;

45 R<sup>13</sup> y R<sup>14</sup> se seleccionan independientemente de hidrógeno y -alquilo C<sub>1</sub> - C<sub>10</sub>;

R<sup>18</sup> se selecciona de -alquilo C<sub>1</sub> - C<sub>20</sub>, -alqueno C<sub>2</sub> - C<sub>20</sub>, -alquino C<sub>2</sub> - C<sub>20</sub>, -OH, -O-alquilo C<sub>1</sub> - C<sub>10</sub>, -O-alqueno C<sub>1</sub> - C<sub>10</sub>, -O-alquino C<sub>2</sub> - C<sub>20</sub>, -O-cicloalquilo, -OC(O)alquilo C<sub>1</sub> - C<sub>20</sub>, -OC(O)alqueno C<sub>2</sub> - C<sub>20</sub>, -OC(O)alquino C<sub>2</sub> - C<sub>20</sub>, -OC(O)cicloalquilo, -OC(O)arilo, -OC(O)heterociclilo, -OC(O)heteroarilo, -NH-alquilo C<sub>1</sub> - C<sub>20</sub>, -NH-alqueno C<sub>1</sub> - C<sub>20</sub>, -NH-alquino C<sub>2</sub> - C<sub>20</sub>, -NH-cicloalquilo, -NH-arilo, -NH-heterociclilo, NH-heteroarilo, -OC(O)NH-alquilo C<sub>1</sub> - C<sub>20</sub>, -



- OC(O)NH-alqueniilo C<sub>2</sub> - C<sub>20</sub>, -OC(O)NH-alquiniilo C<sub>2</sub> - C<sub>20</sub>, -OC(O)NH-cicloalquilo, -OC(O)NH-arilo, -OC(O)NH-heterocicliilo, -OC(O)NH-heteroarilo, -OC(S)NH-alquilo C<sub>1</sub> - C<sub>10</sub>, -OC(S)NH-alqueniilo C<sub>2</sub> - C<sub>20</sub>, -OC(S)NH-alquiniilo C<sub>2</sub> - C<sub>20</sub>, -OC(S)NH-cicloalquilo, -OC(S)NH-arilo, -OC(S)NH-heterocicliilo, -OC(S)NH-heteroarilo;
- 5 R<sup>19</sup> y R<sup>20</sup> se seleccionan independientemente de hidrógeno, -alquilo C<sub>1</sub> - C<sub>6</sub>, -alqueniilo C<sub>2</sub> - C<sub>6</sub>, -alquiniilo C<sub>2</sub> - C<sub>6</sub>, -OH, -O-alquilo C<sub>1</sub> - C<sub>6</sub>, -O-alqueniilo C<sub>2</sub> - C<sub>6</sub>, -O-alquiniilo C<sub>2</sub> - C<sub>6</sub>, -O-cicloalquilo, -OC(O)alquilo C<sub>1</sub> - C<sub>4</sub>, -OC(O)alqueniilo C<sub>2</sub> - C<sub>6</sub>, -OC(O)alquiniilo C<sub>2</sub> - C<sub>6</sub>, OC(O)cicloalquilo, -OC(O)arilo, -OC(O)heterocicliilo, -OC(O)heteroarilo o R<sup>19</sup> y R<sup>20</sup> tomados juntos forman un grupo carbonilo o tiocarbonilo;
- 10 R<sup>21</sup> se selecciona de hidrógeno, -alquilo C<sub>1</sub> - C<sub>10</sub>, -alqueniilo C<sub>2</sub> - C<sub>10</sub> y -alquiniilo C<sub>2</sub> - C<sub>10</sub>;
- R<sup>22</sup> se selecciona de -OH, -O-alquilo C<sub>1</sub> - C<sub>20</sub>, -O-alqueniilo C<sub>2</sub> - C<sub>20</sub>, -O-alquiniilo C<sub>1</sub> - C<sub>20</sub>, -O-cicloalquilo, -OC(O)alquilo C<sub>1</sub> - C<sub>20</sub>, -OC(O)alqueniilo C<sub>2</sub> - C<sub>20</sub>, -OC(O)alquiniilo C<sub>2</sub> - C<sub>20</sub>, -OC(O)cicloalquilo, -OC(O)arilo, -OC(O)heterocicliilo, -OC(O)heteroarilo, -OC(O)NH-alquilo C<sub>1</sub> - C<sub>20</sub>, -OC(O)NH-alqueniilo C<sub>2</sub> - C<sub>20</sub>, -OC(O)NH-alquiniilo C<sub>2</sub> - C<sub>20</sub>, -OC(O)NH-cicloalquilo, -OC(O)NH-arilo, -OC(O)NH-heterocicliilo, -OC(O)NH-heteroarilo, -OC(S)NH-alquilo C<sub>1</sub> - C<sub>20</sub>, -OC(S)NH-alqueniilo C<sub>2</sub> - C<sub>20</sub>, -OC(S)NH-alquiniilo C<sub>2</sub> - C<sub>20</sub>, -OC(S)NH-cicloalquilo, -OC(S)NH-arilo, -OC(S)NH-heterocicliilo, -OC(S)NH-heteroarilo o R<sup>21</sup> y R<sup>22</sup> tomados juntos forman un grupo carbonilo;
- 15 R<sup>23</sup> se selecciona de hidrógeno, -OH, -O-alquilo C<sub>1</sub> - C<sub>20</sub>, -O-alqueniilo C<sub>2</sub> - C<sub>20</sub>, -O-alquiniilo C<sub>2</sub> - C<sub>20</sub>, -O-cicloalquilo, -OC(O)alquilo C<sub>1</sub> - C<sub>20</sub>, -OC(O)alqueniilo C<sub>2</sub> - C<sub>20</sub>, -OC(O)alquiniilo C<sub>2</sub> - C<sub>20</sub>, -OC(O)cicloalquilo, -OC(O)arilo, -OC(O)heterocicliilo, -OC(O)heteroarilo, -OC(O)NH-alquilo C<sub>1</sub> - C<sub>20</sub>, -OC(O)NH-alqueniilo C<sub>2</sub> - C<sub>20</sub>, -OC(O)NH-alquiniilo C<sub>2</sub> - C<sub>20</sub>, -OC(O)NH-cicloalquilo, -OC(O)NH-arilo, -OC(O)NH-heterocicliilo, -OC(O)NH-heteroarilo, -OC(S)NH-alquilo C<sub>1</sub> - C<sub>20</sub>, -OC(S)NH-alqueniilo C<sub>2</sub> - C<sub>20</sub>, -OC(S)NH-alquiniilo C<sub>2</sub> - C<sub>10</sub>, -OC(S)NH-cicloalquilo, -OC(S)NH-arilo, -OC(S)NH-heterocicliilo, -OC(S)NH-heteroarilo;
- 20 R<sup>24</sup> se selecciona de hidrógeno, -OH, -O-alquilo C<sub>1</sub> - C<sub>20</sub>, -O-alqueniilo C<sub>2</sub> - C<sub>20</sub>, -O-alquiniilo C<sub>1</sub> - C<sub>20</sub>, -O-cicloalquilo, -OC(O)alquilo C<sub>1</sub> - C<sub>20</sub>, -OC(O)alqueniilo C<sub>2</sub> - C<sub>20</sub>, -OC(O)alquiniilo C<sub>2</sub> - C<sub>20</sub>, -OC(O)cicloalquilo, -OC(O)arilo, -OC(O)heterocicliilo, -OC(O)heteroarilo, -OC(O)NH-alquilo C<sub>1</sub> - C<sub>20</sub>, -OC(O)NH-alqueniilo C<sub>2</sub> - C<sub>20</sub>, -OC(O)NH-alquiniilo C<sub>2</sub> - C<sub>20</sub>, -OC(O)NH-cicloalquilo, -OC(O)NH-arilo, -OC(O)NH-heterocicliilo, -OC(O)NH-heteroarilo, -OC(S)NH-alquilo C<sub>1</sub> - C<sub>20</sub>, -OC(S)NH-alqueniilo C<sub>2</sub> - C<sub>20</sub>, -OC(S)NH-alquiniilo C<sub>2</sub> - C<sub>20</sub>, -OC(S)NH-cicloalquilo, -OC(S)NH-arilo, -OC(S)NH-heterocicliilo, -OC(S)NH-heteroarilo;
- 25 R<sup>25</sup> se selecciona de hidrógeno y -alquilo C<sub>1</sub> - C<sub>10</sub>;
- R<sup>26</sup> y R<sup>27</sup> se seleccionan independientemente de hidrógeno, -alquilo C<sub>1</sub> - C<sub>10</sub>, -OH, -O-alquilo C<sub>1</sub> - C<sub>10</sub>;
- 30 en donde cada alquilo, alqueniilo, alquiniilo, cicloalquilo, arilo, heterocicliilo y heteroarilo está opcionalmente sustituido;
- e isómeros geométricos o estereoisómeros de los mismos y una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos; para el tratamiento o la prevención de una infección bacteriana, parasitaria o por protozoarios.
- 35 17. Un compuesto de fórmula (II) como se define en la reivindicación 15 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo; para el tratamiento o la prevención de un trastorno celular proliferativo.
- 40 18. El compuesto de acuerdo con la reivindicación 17 en donde el trastorno proliferativo celular es una leucemia o un cáncer de tumor sólido.
- 45 19. El compuesto de acuerdo con la reivindicación 18 en donde el cáncer de tumor sólido es melanoma, cáncer de próstata, cáncer de mama, cáncer de ovario, carcinoma de células basales, carcinoma de células escamosas, fibrosarcoma, cáncer de colon o cáncer de pulmón u otros tumores sólidos.
- 50 20. El compuesto de acuerdo con la reivindicación 17, en donde el trastorno de células proliferativas es sarcoide.
21. El compuesto de acuerdo con la reivindicación 20, en donde el trastorno de células proliferativas es sarcoide equino.
22. El compuesto de acuerdo con la reivindicación 17, que comprende además la administración de un agente antiinflamatorio.
- 55 23. Un compuesto de fórmula (II) como se define en la reivindicación 15 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo; para estimular una respuesta inflamatoria localizada.
- 60 24. Un compuesto de fórmula (II) como se define en la reivindicación 16 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo; para controlar plagas en un individuo.
25. El uso de un compuesto de fórmula (II) como se define en la reivindicación 16, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en la fabricación de un medicamento para uso en un método como se define ya sea en la reivindicación 16 o en la reivindicación 24; o el uso de un compuesto de fórmula (II) como se define ya sea en la reivindicación 17 o en la reivindicación 23 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en la fabricación de un medicamento para uso en un método como se define en cualquiera de las reivindicaciones 17 a 23.

26. Un método para controlar plagas agrícolas que comprende la aplicación de una cantidad efectiva como plaguicida de un compuesto de fórmula (II) como se define en la reivindicación 16 o una sal aceptable como plaguicida del mismo, para un ambiente agrícola, doméstico o industrial infestado con una plaga.
- 5 27. Un método para el tratamiento o la prevención de una infección parasitaria en una planta que comprende la administración a la planta de un compuesto de fórmula (II) o de una sal del mismo aceptable como plaguicida.

**FIG. 1**

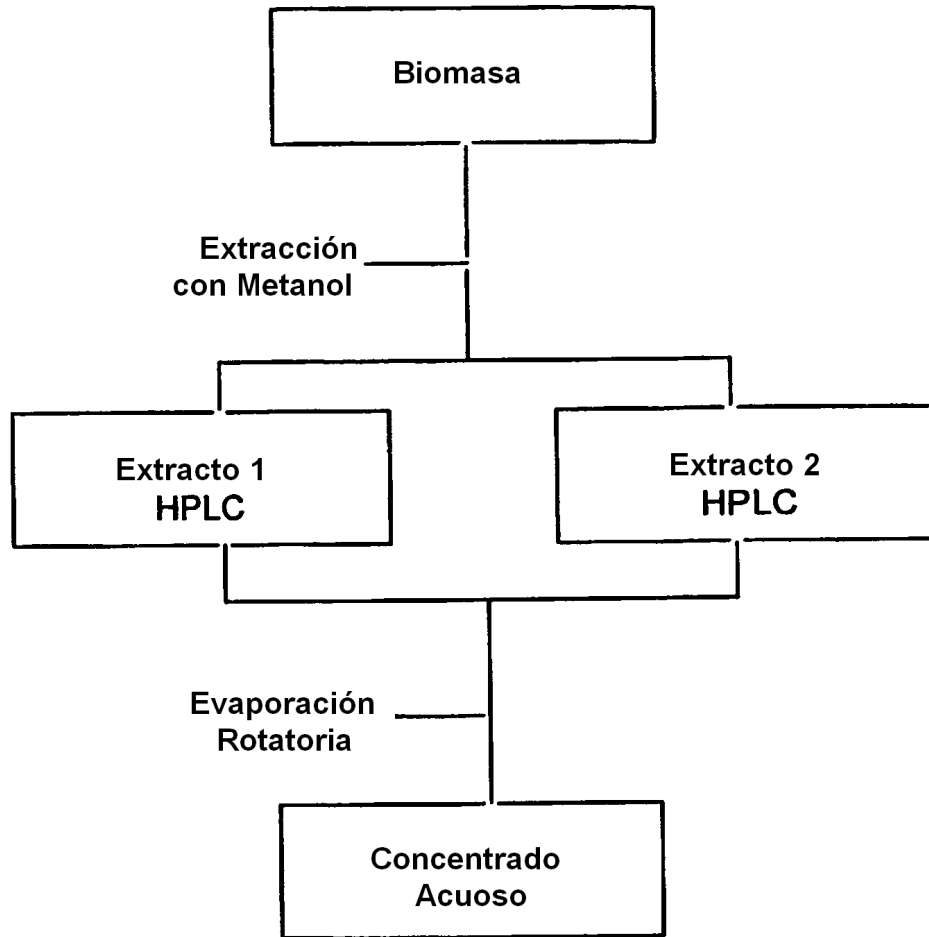
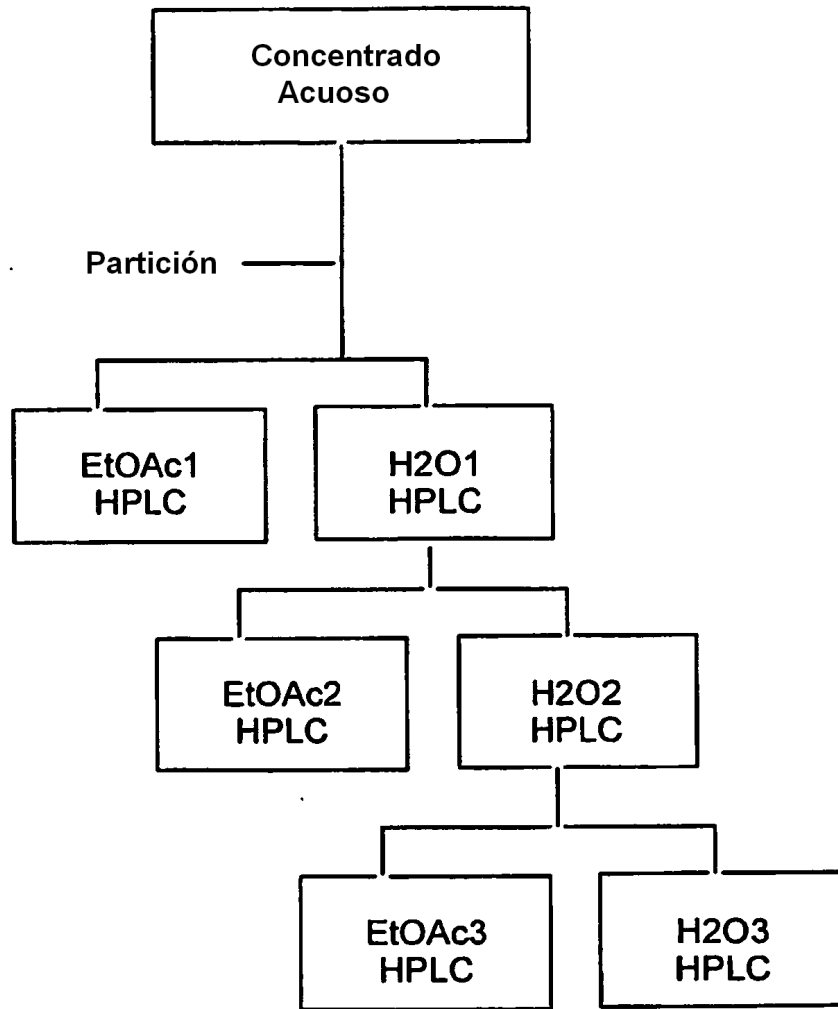


FIG. 2A



**FIG. 2B**

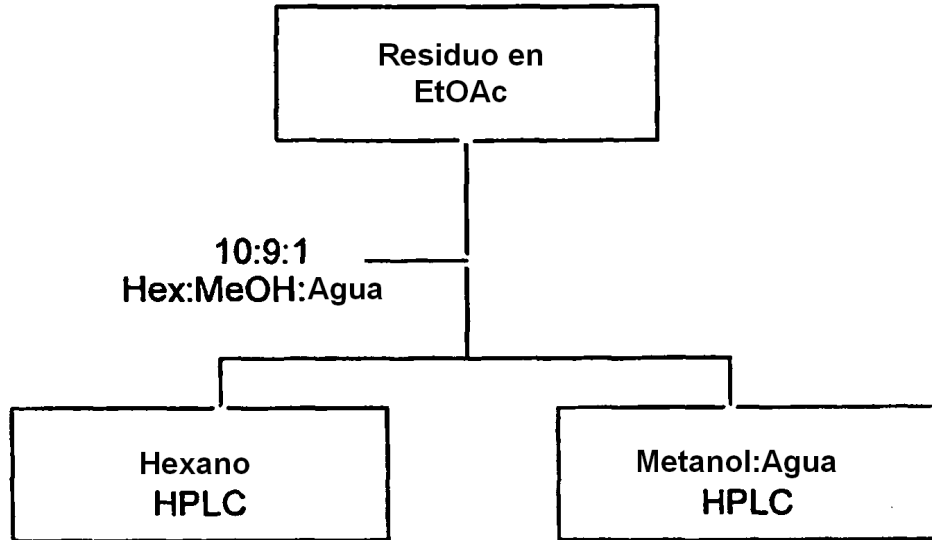


FIG. 3

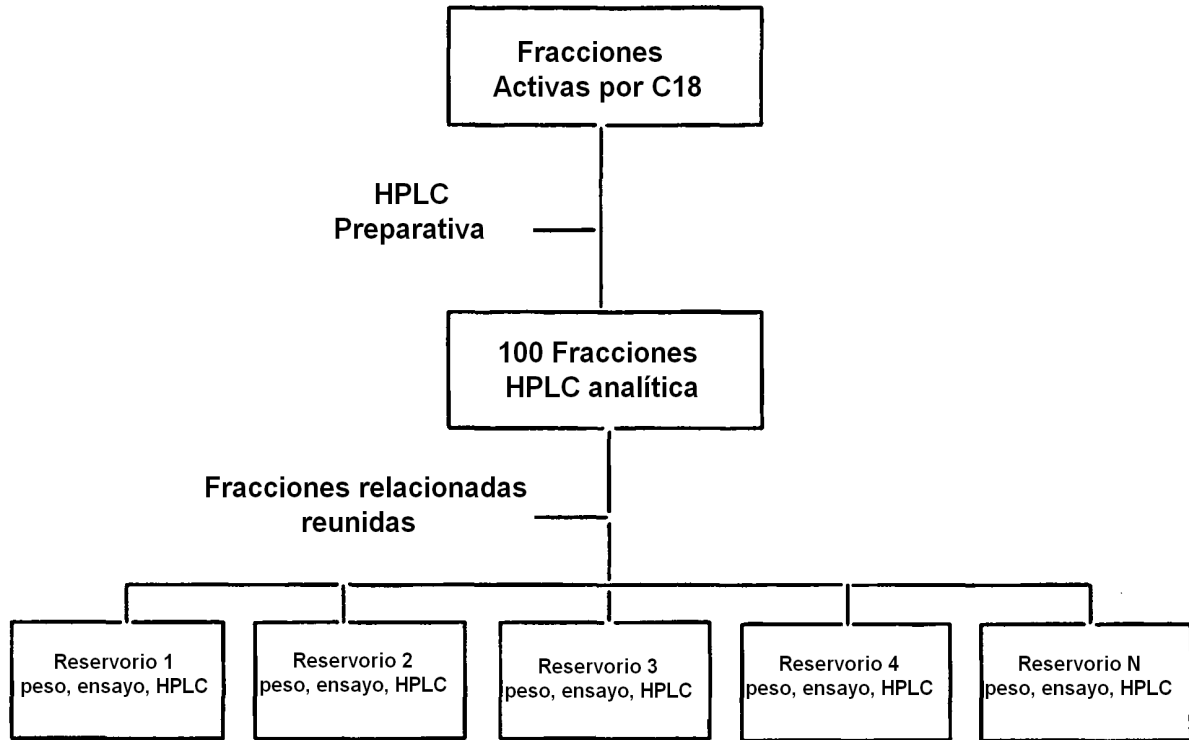


FIG. 4

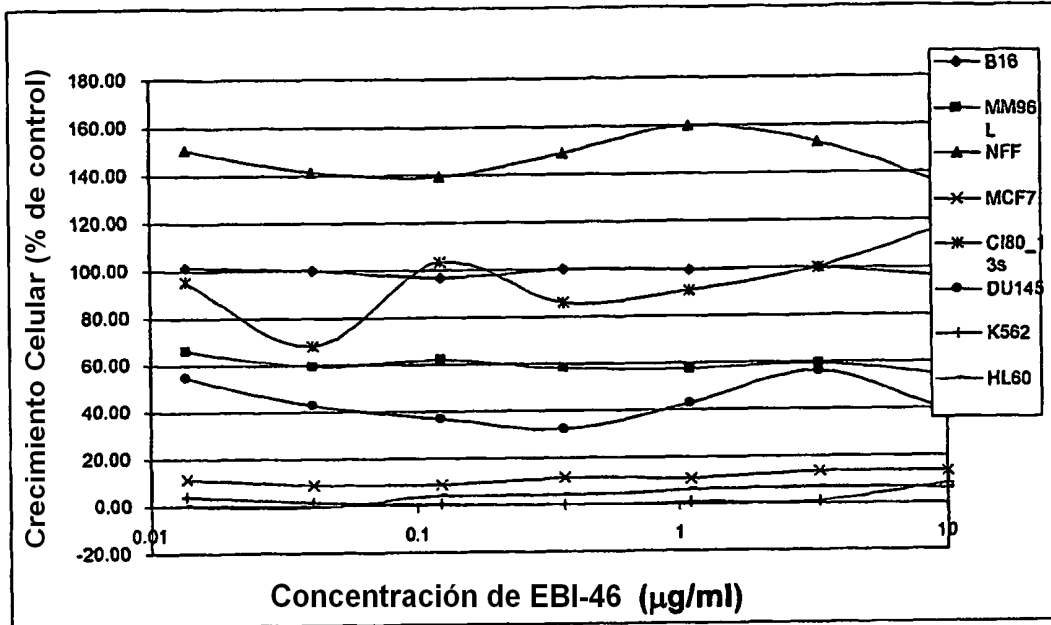


FIG. 5

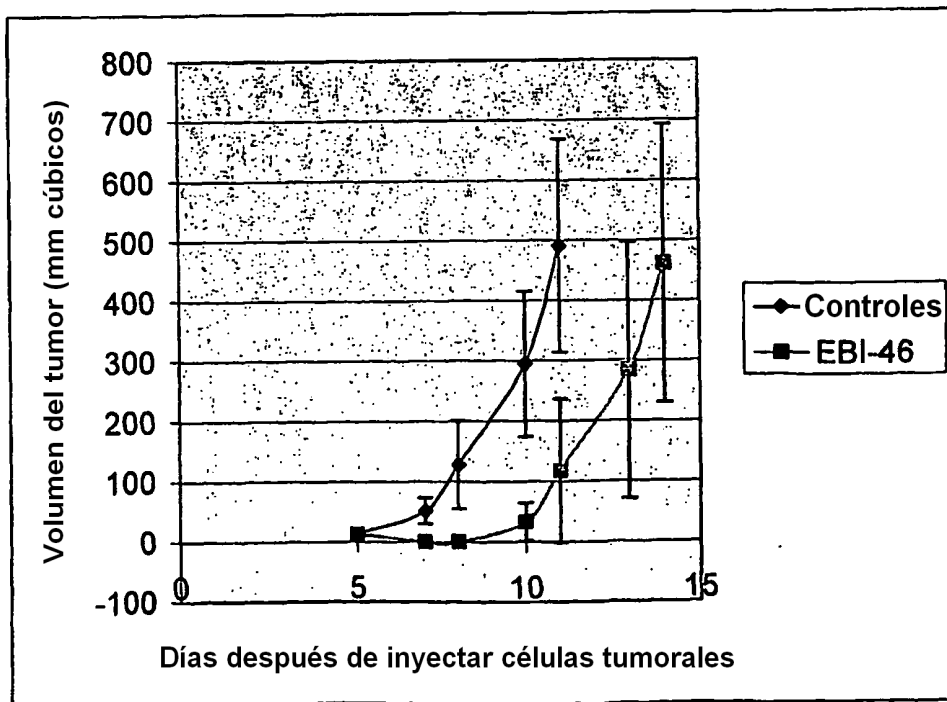


FIG. 6

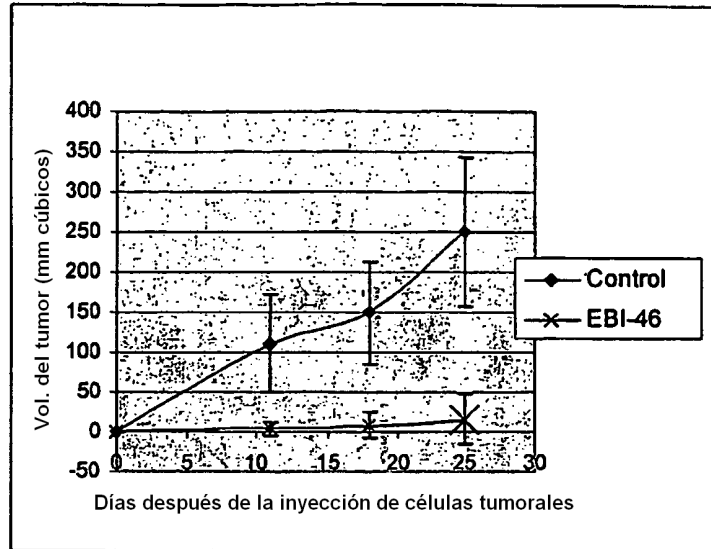


FIG. 7

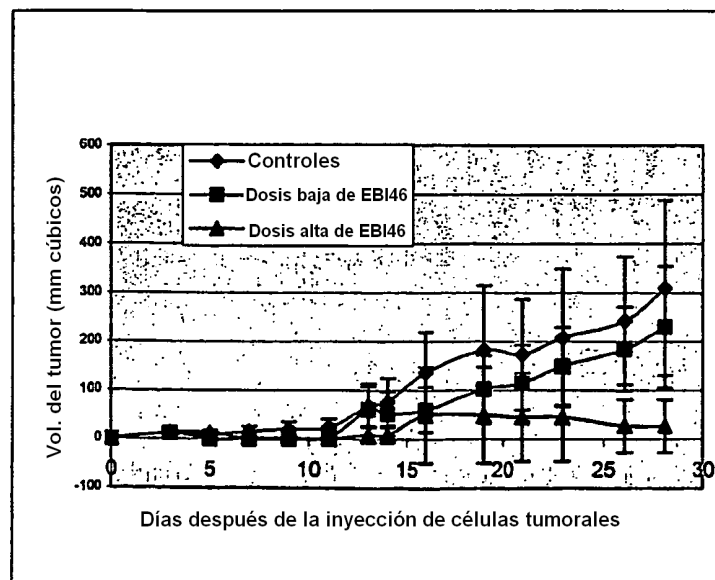




FIG. 8

