

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 439 569**

51 Int. Cl.:

<b>C07D 491/22</b>	(2006.01)	<i>C07D 221/00</i>	(2006.01)	<i>C07D 319/00</i>	(2006.01)
<i>C07D 491/22</i>	(2006.01)	<i>C07D 209/00</i>	(2006.01)	<i>C07D 241/00</i>	(2006.01)
<i>C07D 321/00</i>	(2006.01)	<i>C07D 209/00</i>	(2006.01)	<i>C07D 221/00</i>	(2006.01)
<i>C07D 241/00</i>	(2006.01)	<i>C07D 491/22</i>	(2006.01)	<i>C07D 209/00</i>	(2006.01)
<i>C07D 221/00</i>	(2006.01)	<i>C07D 319/00</i>	(2006.01)	<i>C07D 209/00</i>	(2006.01)
<i>C07D 221/00</i>	(2006.01)	<i>C07D 241/00</i>	(2006.01)		
<i>C07D 209/00</i>	(2006.01)	<i>C07D 221/00</i>	(2006.01)		
<i>C07D 491/22</i>	(2006.01)	<i>C07D 221/00</i>	(2006.01)		
<i>C07D 321/00</i>	(2006.01)	<i>C07D 209/00</i>	(2006.01)		
<i>C07D 241/00</i>	(2006.01)	<i>C07D 491/22</i>	(2006.01)		

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **26.06.1996 E 04022638 (3)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **20.11.2013 EP 1489082**

54 Título: **Compuestos intermedios**

30 Prioridad:

**21.07.1995 US 1324 P**

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:

**23.01.2014**

73 Titular/es:

**ZOETIS P&U LLC (100.0%)  
100 Campus Drive  
Florham Park, NJ 07932, US**

72 Inventor/es:

**LEE, BYUNG H. y  
CLOTHIER, MICHAEL F.**

74 Agente/Representante:

**CARPINTERO LÓPEZ, Mario**

ES 2 439 569 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

Compuestos intermedios

**1. Campo de la invención**

La presente invención se refiere a parahercuamidas sustituidas que son útiles como agentes antiparasitarios.

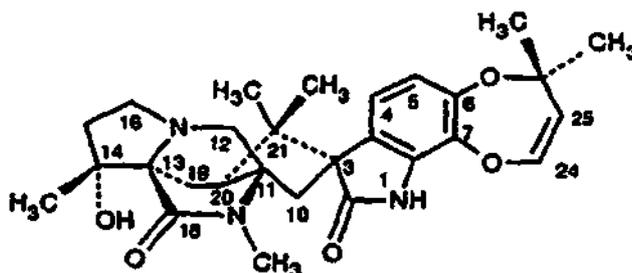
5 **2. Descripción de la técnica relacionada**

Las marcfortinas son compuestos conocidos, véase Journal of the Chemical Society Chemical Communications, 601-602 (1980) para la Marcfortina A y Tetrahedron Letters, 22, 1977-1980 ((1981) para las Marcfortinas B y C. estos compuestos son metabolitos fúngicos del *Penicillium roqueforti*. Las marcfortinas se relacionan estructuralmente con las parahercuamidas, que también son compuestos conocidos.

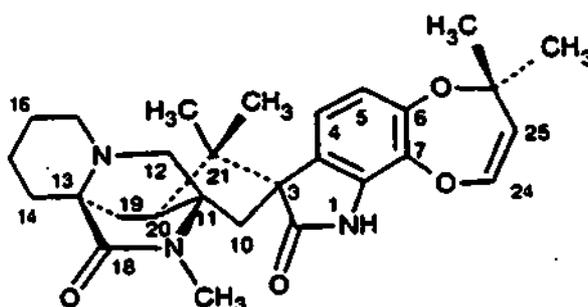
10 Las parahercuamidas se desvelan en Tetrahedron Letters, 22, 135-136 (1981), y Journal of Antibiotics, 44, 492-497 (1991). Los documentos de Patente de Estados Unidos con números 4.866.060 y 4.923.867 desvelan el uso de las marcfortinas A, B, y C, y ciertos derivados de las mismas como útiles para el tratamiento y la prevención de enfermedades parasitarias en animales.

15 El documento de Patente WO 92/22555 (publicado el 23 de diciembre de 1992) describe genéricamente una marcfortina o derivado de parahercuamida (es decir la fórmula parcial (III)) sustituido en la posición 14 con metilo o metilo e hidroxilo, pero sin embargo no se proporciona ninguna descripción de cómo preparar tales compuestos de 14-metil-14-hidroximarcfortina.

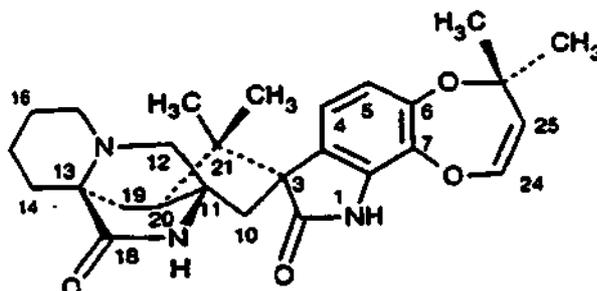
The Journal of Antibiotics, 43, 1380-1386 (1990) desvela la Parahercuamida A que tiene la siguiente estructura:



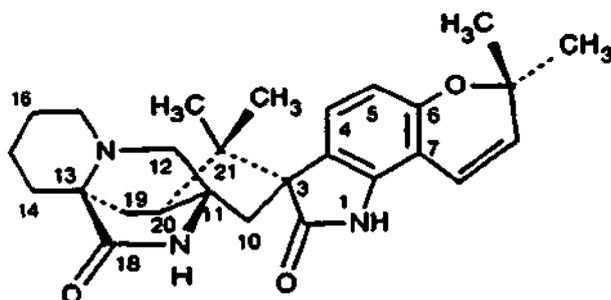
20 La Marcfortina A tiene la siguiente estructura:



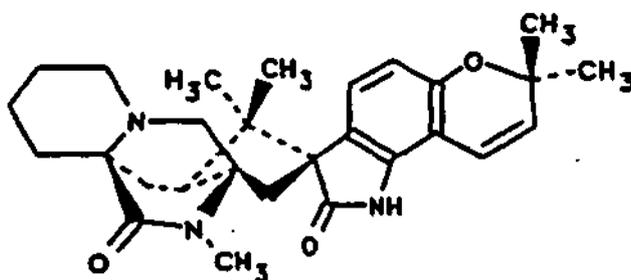
La Marcfortina B tiene la siguiente estructura:



La Marcfortina C tiene la siguiente estructura:



La Marcfortina D tiene la siguiente estructura:



- 5 El documento de Patente WO 91/09961 (publicado el 11 de julio de 1991) desvela diversos derivados de marcfortina y parahercuamida, y 12 $\alpha$ -N-óxidos de las mismas, así como la producción de VM 29919 (parahercuamida) y VM 55596 (12 $\alpha$ -N-óxido de parahercuamida), entre otros, a partir de *Penicillium Sp.* IMI 332995.

- 10 El documento de Patente de Estados Unidos 4.873.247 desvela derivados de parahercuamida y una cepa de *Penicillium charlessi* MF 5123 (ATCC 20841) para la producción de parahercuamida. El documento de Patente de Estados Unidos 4.978.656 (así como los documentos de Patente EP 390532-A, EP-301742-A) desvela diversos derivados sintéticos de parahercuamida así como la producción de parahercuamida a partir de *Penicillium charlessi* MF 5123 (ATCC 20841).

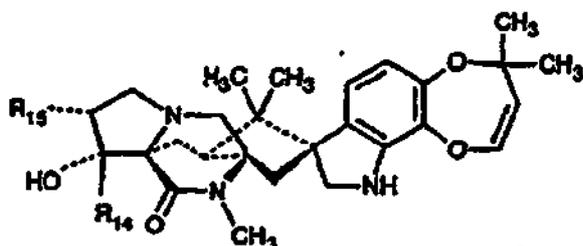
- 15 El documento de Publicación Internacional de Patente WO 92/22555 (publicado el 23 de diciembre de 1992) desvela genéricamente compuestos de 14 $\alpha$ -hidroximarcfortina y un procedimiento que usa los compuestos de 14-hidroxi-14-metilmarcfortina para la producción de fármacos antiparasitarios. Sin embargo, no se proporciona ninguna descripción habilitante de ningún medio de preparación de compuestos de 14 $\alpha$ -hidroximarcfortina o 14 $\alpha$ -hidroxi-14 $\beta$ -metilmarcfortina.

El documento de Publicación Internacional de Patente WO94/29319 desvela diversas marcfortinas 14-sustituidas y derivados de las mismas.

- 20 Se conocen los 15-alkil-14-hidroxi compuestos (III) en los que n<sub>1</sub> es 0; véase el documento de Publicación Internacional de Patente WO94/29319.

**Sumario de la invención**

Se desvelan compuestos de 14-hidroxi-2-desoxoparahercuamida de fórmula (XXV)



(XXV)

25 en la que

R<sub>14</sub> es hidrógeno o alquilo C<sub>1-4</sub>; y  
 R<sub>15</sub> es hidrógeno o alquilo C<sub>1-4</sub>;  
 y los N-óxidos y sales farmacéuticamente aceptables de los mismos.

### **Descripción detallada de la invención**

5 Los compuestos reivindicados se preparan mediante un procedimiento conocido por los expertos en la materia a partir de materiales de partida conocidos por los expertos una materia o que se pueden preparar fácilmente a partir de compuestos conocidos mediante procedimientos conocidos por los expertos una materia. En las nuevas secuencias, se usa química conocida sobre materiales de partida conocidos para producir los nuevos compuestos de la invención.

10 El GRÁFICO A desvela el procedimiento preferente para producir los 15-alquil-14-hidroxi compuestos (III). Se conoce el compuesto 14-hidroxi- $\alpha,\beta$ -insaturado de partida (I); véase el documento de Publicación Internacional de Patente WO94/29319. Los compuestos 14-hidroxi- $\alpha,\beta$ -insaturados (I) se pueden transformar los correspondientes 15-alquil-17-oxo compuestos (II) por reacción con agentes alquilantes tales como un reactivo de Grignard o alquiltratos; es preferente que el reactivo alquilante sea un reactivo de Grignard de fórmula CH<sub>3</sub>-(CH<sub>2</sub>)<sub>n1</sub>-Mg-X<sub>0</sub>,  
 15 en la que n<sub>1</sub> es 0 a 3 y X<sub>0</sub> es halógeno. Es preferente que n<sub>1</sub> sea 1 y X<sub>0</sub> sea -Br. El procedimiento preferente es hacer reaccionar el compuesto 14-hidroxi- $\alpha,\beta$ -insaturado (I) con bromuro de etilmagnesio y yoduro de cobre (I) en condiciones estándar de adición 1,4 para producir los 15-alquil-17-oxo compuestos (II). Los 15-alquil-17-oxo compuestos (II) se reducen a continuación mediante medios conocidos por los expertos en la materia para la reducción de un grupo carbonilo a un resto alquileo tales como reducción con complejo de borano sulfuro de dimetilo u otros agentes reductores tales como complejo de borano THF o hidruro de litio y aluminio. Es preferente que se use complejo de borano sulfuro de dimetilo para la reducción. En los 15-alquil-14-hidroxi compuestos (III), es preferente que n<sub>1</sub> sea 1. Se conocen los 15-alquil-14-hidroxi compuestos (III) en los que n<sub>1</sub> es 0; véase el documento de Publicación Internacional de Patente WO94/29319.

25 El GRÁFICO D desvela un procedimiento para producir los compuestos de 15-alquil parahercuamida B (XIII). Los 15-alquil-14-hidroxi compuestos de partida (III) se oxidan a los correspondientes compuestos de 15-alquil-16,16-dioxo Marcfortina A (XI) por reacción con oxígeno en presencia de un catalizador tal como platino sobre carbono. A continuación, los compuestos de 15-alquil-16,17-dioxo Marcfortina A (XI) tienen que reducir el anillo dioxo de seis miembros a un anillo de cinco miembros para producir los compuestos de 15-alquil-16-oxo parahercuamida B (XII) por tratamiento con un perácido, preferentemente ácido m-cloroperbenzoico. A continuación, los compuestos de 15-alquil-16-oxo parahercuamida B (XII) tienen que retirar el grupo 16-oxo mediante el uso de un agente reductor, preferentemente hidruro de litio y aluminio/cloruro de aluminio para obtener los compuestos deseados de 15-alquil parahercuamida B (XIII). En los compuestos de 15-alquil parahercuamida B (XIII), es preferente que n<sub>1</sub> sea 0.

30 El GRÁFICO H desvela un procedimiento para producir las correspondientes 14-hidroxi 2-desoxoparahercuamidas (XXV).

35 De forma alternativa, y preferentemente, los derivados de 14-hidroxi-2-desoxoparahercuamida B (XXV) se pueden preparar con un 40-70 % de rendimiento mediante el procedimiento que se expone en el GRÁFICO O. El GRÁFICO O desvela que la amida (XXVI) se hace reaccionar con un clorofornato de alquilo o un derivado de anhídrido apropiado por tratamiento con hidruro potásico o hidruro sódico para proporcionar la correspondiente imida (XXVII), que se reduce con borohidruro sódico para obtener el correspondiente 2-hidroxi compuesto (XXVIII). Como conocen los expertos en la materia, en la imida (XXVII) se debe proteger el nitrógeno N-1 (véase R<sub>17</sub> de fórmula XXVII) hasta después de la reducción del carbonilo C-2. Grupos protectores preferentes incluyen fenilo, 4-nitrofenilo y *t*-butilfluorenilmetilo. A continuación se desprotege el 2-hidroxi compuesto (XXVIII) mediante diversos procedimientos conocidos por los expertos en la materia para obtener el correspondiente 1,2-deshidro compuesto (XXIX), que se puede reducir con borohidruro sódico para obtener las correspondientes 2-desoxomarcfortina (XXIII), 14-hidroxi-2-desoxoparahercuamida B y 14-hidroximarcfortina A (XXV) con un 40-70 % de rendimiento global. Cuando R<sub>17</sub> es *t*-butilo, una ruta más corta para la obtención de la 14-hidroxi-2-desoxoparahercuamida B (XXV) es por reacción de la imida (XXVII) con borohidruro sódico a reflujo en glicol o diglicol.

Los COMPUESTOS ANTIPARASITARIOS se refieren e incluyen 14-hidroxi-2-desoxoparahercuamida B (XXV), los N-óxidos de la misma y sales farmacéuticamente aceptables de la misma cuando tales existan.

50 Los COMPUESTOS ANTIPARASITARIOS son aminas, y como tales forman sales de adición de ácido cuando reaccionan con ácidos de fuerza suficiente. Las sales farmacéuticamente aceptables incluyen sales de ácidos tanto inorgánicos como orgánicos. Las sales farmacéuticamente aceptables son preferentes sobre las correspondientes aminas libres dado que producen compuestos que son más solubles en agua y más cristalinos. Las sales farmacéuticamente aceptables preferentes incluyen sales de los siguientes ácidos: metanosulfónico, clorhídrico, bromhídrico, sulfúrico, fosfórico, nítrico, benzoico, cítrico, tartárico, fumárico, maleico, CH<sub>3</sub>-(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>-COOH en la que n es 0 a 4, y HOOC-(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>-COOH en la que n es como se ha definido anteriormente.

Los COMPUESTOS ANTIPARASITARIOS son aminas y por reacción de las mismas con perácidos tales como ácido m-cloroperbenzoico se obtienen los correspondientes 12 $\alpha$ -N-óxidos como conocen los expertos en la materia.

Los COMPUESTOS ANTIPARASITARIOS de la presente invención son agentes antiparasitarios inesperadamente potentes frente a endo y ectoparásitos, particularmente helmintos y artrópodos, que causan numerosas enfermedades parasitarias en seres humanos, animales, y plantas.

5 Las enfermedades parasitarias pueden estar causadas por endoparásitos o ectoparásitos. Los endoparásitos son los parásitos que viven en el interior del cuerpo del huésped, bien dentro de un órgano (tal como el estómago, pulmones, corazón, intestinos, etc.) o simplemente bajo la piel. Los ectoparásitos son los parásitos que viven en la superficie exterior del huésped pero aún así extraen nutrientes del huésped.

10 Las enfermedades endoparasitarias denominadas generalmente como helmintiasis se deben a la infección del huésped con gusanos parásitos conocidos como helmintos. La helmintiasis es un problema económico frecuente y grave a nivel mundial debido a la infección de animales domesticados tales como cerdos, ovejas, caballos, ganado, cabras, perros, gatos, y aves de corral. Muchas de estas infecciones están causadas por el grupo de gusanos descrito como nematodos que causan enfermedades en diversas especies de animales en todo el mundo. Estas enfermedades son frecuentemente graves y pueden dar como resultado la muerte del animal infectado. Los géneros más comunes de nematodos que infectan los animales mencionados anteriormente son *Haemonchus*,  
 15 *Trichostrongylus*, *Ostertagia*, *Nematodirus*, *Cooperia*, *Ascaris*, *Bunostomum*, *Oesophagostomum*, *Chabertia*, *Trichuris*, *Strongylus*, *Trichonema*, *Dictyocaulus*, *Capillaria*, *Heterakis*, *Toxocara*, *Ascaridia*, *Oxyuris*, *Ancylostoma*, *Uncinaria*, *Toxascaris*, y *Parascaris*. Numerosos parásitos son específicos de especie (infectan únicamente un huésped) y la mayoría también tienen un sitio preferente de infección dentro del animal. De ese modo, *Haemonchus* y *Ostertagia* infectan principalmente el estómago mientras que *Nematodirus* y *Cooperia* atacan especialmente los  
 20 intestinos. Otros parásitos prefieren residir en el corazón, ojos, pulmones, vasos sanguíneos, y similares mientras que otros son parásitos subcutáneos. La helmintiasis puede conducir a la debilidad, pérdida de peso, anemia, daño intestinal, malnutrición, y daños en otros órganos. Si permanecen sin tratar, estas enfermedades pueden dar como resultado la muerte del animal.

25 También son un grave problema las infecciones de artrópodos ectoparásitos tales como garrapatas, ácaros, piojos, moscas de establos, moscas de los cuernos, moscas azules, pulgas, y similares. La infección por estos parásitos da como resultado pérdida de sangre, lesiones de la piel, y pueden interferir en los hábitos de comida habituales causando de ese modo pérdida de peso. Estas infecciones también pueden dar como resultado la transmisión de enfermedades graves tales como encefalitis, anaplasmosis, viruela porcina, y similares, que pueden ser fatales.

30 Los animales pueden resultar infectados por diversas especies de parásito al mismo tiempo dado que la infección de un parásito puede debilitar al animal y hacerle más susceptible a la infección de una segunda especie de parásito. Por lo tanto, un compuesto con un amplio espectro de actividad es particularmente ventajoso en el tratamiento de estas enfermedades. Los COMPUESTOS ANTIPARASITARIOS tienen una actividad inesperadamente alta frente a estos parásitos y, además, también son activos frente a *Dirofilaria* en perros, *Nematospiroides* y *Syphacia* en roedores, larvas de insectos que pican y dípteros migratorios tales como *Hypoderma* sp. en el ganado, y *Gastrophilus* en caballos.  
 35

Los COMPUESTOS ANTIPARASITARIOS también son útiles frente a endo y ectoparásitos que causan enfermedades parasitarias en seres humanos. Ejemplos de tales endoparásitos que infectan al hombre incluyen parásitos gastrointestinales de los géneros *Ancylostoma*, *Necator*, *Ascaris*, *Strongyloides*, *Trichinella*, *Capillaria*,  
 40 *Trichuris*, *Enterobius*, y similares. Otros endoparásitos que infectan al hombre se pueden encontrar en la sangre o en otros órganos. Ejemplos de tales parásitos son las filarias *Wuchereria*, *Brugia*, *Onchocerca*, y similares así como los estadios extraintestinales de los gusanos intestinales *Strongylides* y *Trichinella*. Ectoparásitos que parasitan al hombre incluyen artrópodos tales como garrapatas, pulgas, ácaros, piojos, y similares y, como en el caso de los animales domésticos, las infecciones de estos parásitos pueden dar como resultado la transmisión de enfermedades graves e incluso fatales. Los COMPUESTOS ANTIPARASITARIOS son activos frente a estos endo y ectoparásitos y además también son activos frente a plagas de insectos que pican y dípteros que molestan a los seres humanos. Los COMPUESTOS ANTIPARASITARIOS, cuando se administran por vía oral o parenteral, se administran con una cantidad de dosificación de 0,05 a 20 mg/kg de peso corporal animal.  
 45

Los COMPUESTOS ANTIPARASITARIOS también son útiles frente a plagas domésticas comunes tales como *Blatella* sp. (cucaracha), *Tineola* sp. (polilla de la ropa), *Attagenus* sp. (escarabajo de las alfombras), *Musca domestica* (mosca domestica) y frente a *Solenopsis Invicta* (hormiga roja de fuego).  
 50

Los COMPUESTOS ANTIPARASITARIOS además son útiles frente a plagas agrícolas tales como áfidos (*Acyrtosiphon* sp.), langostas, y gorgojos de tallo así como frente a plagas de insectos que atacan el grano almacenado tales como *Tribolium* sp. y frente a estadios inmaduros de insectos que viven en los tejidos de las plantas. Los COMPUESTOS ANTIPARASITARIOS también son útiles como nematocida para el control de los  
 55 nematodos del suelo que pueden ser importantes desde el punto de vista agrícola.

Para su uso como agentes antiparasitarios en animales, los COMPUESTOS ANTIPARASITARIOS se pueden administrar internamente por vía oral o mediante inyección, o por vía tópica en forma de una poción líquida o en forma de un champú.

- Para la administración oral, los COMPUESTOS ANTIPARASITARIOS se pueden administrar en forma de cápsula, comprimido, o bolo de poción o, de forma alternativa, se pueden mezclar en la comida de los animales. Las cápsulas, comprimidos, y bolos de poción comprenden el principio activo en combinación con un vehículo apropiado tal como almidón, talco, estearato de magnesio, o fosfato dicálcico. Estas formas de dosificación unitaria se preparan mediante la mezcla íntima del principio activo con ingredientes inertes adecuados y finamente divididos en polvo que incluyen diluyentes, cargas, agentes disgregantes, agentes de suspensión, y/o aglutinantes de modo que se obtenga una solución o suspensión de mezcla uniforme. Un ingrediente inerte es uno que no reacciona con los COMPUESTOS ANTIPARASITARIOS y que es no es tóxico para el animal que se está tratando. Ingredientes inertes adecuados incluyen almidón, lactosa, talco, estearato de magnesio, gomas y aceites vegetales, y similares. Estas formulaciones pueden contener una cantidad ampliamente variable de los principios activos y no activos dependiendo de numerosos factores tales como el tamaño y tipo de la especie animal que se va a tratar y el tipo y la gravedad de la infección. El principio activo también se puede administrar como aditivo para la comida mediante la mezcla sencilla de los COMPUESTOS ANTIPARASITARIOS con el pienso o aplicando el compuesto la superficie de la comida. De forma alternativa, el principio activo se puede mezclar con un vehículo inerte y la composición resultante se puede mezclar después con la comida o alimentar directamente al animal con la misma. Vehículos inertes adecuados incluyen harina de maíz, harina de cítricos, residuos de fermentación, sémola de soja, granos secos y similares. Los principios activos se mezclan íntimamente con estos vehículos inertes por trituración, agitación, molienda, o volteado de modo que la composición final contenga de un 0,001 a un 5,0 % en peso del principio activo.
- Los COMPUESTOS ANTIPARASITARIOS se pueden administrar alternativamente por vía parenteral a través de la inyección de una formulación que consiste en el principio activo disuelto en un vehículo líquido inerte. La inyección puede ser intramuscular, intraruminal, intratraqueal, o subcutánea. La formulación inyectable consiste en el principio activo mezclado con un vehículo líquido inerte apropiado. Vehículos líquidos aceptables incluyen aceites vegetales tales como aceite de cacahuete, aceite de semilla de algodón, aceite de sésamo y similares así como disolventes orgánicos tales como solcetal, glicerolformal y similares. De forma alternativa, también se pueden usar formulaciones parenterales acuosas. Los aceites vegetales son los vehículos líquidos preferentes. Las formulaciones se preparan por disolución o suspensión del principio activo en el vehículo líquido de modo que la formulación final contenga de un 0,005 a un 20 % en peso del principio activo.
- La aplicación tópica de los COMPUESTOS ANTIPARASITARIOS es posible a través del uso de una poción líquida o un champú que contiene los COMPUESTOS ANTIPARASITARIOS en forma de una solución o suspensión acuosa. Estas formulaciones contienen generalmente un agente de suspensión tal como bentonita y normalmente también contendrán un agente antiespumante. Son aceptables las formulaciones que contienen de un 0,005 a un 20 % en peso del principio activo. Formulaciones preferentes son las que contienen de un 0,5 a un 5 % en peso de los COMPUESTOS ANTIPARASITARIOS.
- Los COMPUESTOS ANTIPARASITARIOS se usan principalmente como agentes antiparasitarios para el tratamiento y/o la prevención de helmintiasis en animales domésticos tales como ganado, ovejas, caballos, perros, gatos, cabras, cerdos, y aves de corral. También son útiles para la prevención y el tratamiento de infecciones parasitarias de estos animales con ectoparásitos tales como garrapatas, ácaros, piojos, pulgas y similares. Estos también son eficaces para el tratamiento de infecciones parasitarias en los seres humanos. En el tratamiento de tales infecciones, los COMPUESTOS ANTIPARASITARIOS se pueden usar individualmente o en combinación entre sí o con otros agentes antiparasitarios no relacionados. La dosificación de los COMPUESTOS ANTIPARASITARIOS necesaria para los mejores resultados depende de diversos factores tales como la especie y el tamaño del animal, el tipo y la gravedad de la infección, el procedimiento de administración y los COMPUESTOS ANTIPARASITARIOS usados en particular. La administración oral de los COMPUESTOS ANTIPARASITARIOS con un nivel de dosis de 0,005 a 50 mg por kg de peso corporal animal en una dosis individual o en varias dosis espaciadas pocos días, proporciona generalmente mejores resultados. Una dosis individual de uno de los COMPUESTOS ANTIPARASITARIOS proporciona normalmente un control excelente, aunque se pueden proporcionar dosis repetidas para combatir la reinfección o para especies de parásitos que son excepcionalmente persistentes. Los expertos en la materia en el campo veterinario conocen las técnicas para la administración de los COMPUESTOS ANTIPARASITARIOS a los animales.
- Los COMPUESTOS ANTIPARASITARIOS también se pueden usar para combatir plagas agrícolas que atacan las cosechas en el campo o en el almacenamiento. Los COMPUESTOS ANTIPARASITARIOS se aplican para tales usos en forma de pulverizaciones, polvos, emulsiones y similares a las plantas de cultivo o a las plantas cosechadas. Los expertos en la materia de la técnica agrícola conocen las técnicas para la aplicación de los COMPUESTOS ANTIPARASITARIOS de esta manera.
- Los expertos en la materia conocen que la dosificación exacta y la frecuencia de administración depende de los COMPUESTOS ANTIPARASITARIOS usados en particular, la afección en particular que se va a tratar, la gravedad de la afección que se va a tratar, la edad, peso, y estado físico general del paciente en particular, u otra medicación que se esté administrando al individuo y se pueden determinar con mayor precisión por medición del nivel o concentración sanguínea de los COMPUESTOS ANTIPARASITARIOS en la sangre del paciente y/o la respuesta del paciente a la afección en particular que se está tratando.

**Definiciones y convenciones**

Las definiciones y explicaciones posteriores tienen validez para los términos que se usan a lo largo del presente documento en su totalidad incluyendo tanto la memoria descriptiva como las reivindicaciones.

**I. CONVENCIONES PARA LAS FÓRMULAS Y LAS DEFINICIONES DE VARIABLES**

5 Las fórmulas químicas que representan diversos compuestos o fragmentos moleculares en la memoria descriptiva y en las reivindicaciones pueden contener sustituyentes variables además de las características estructurales definidas expresamente. Estos sustituyentes variables se identifican mediante una letra o una letra seguida de un subíndice numérico, por ejemplo, "Z<sub>1</sub>" o "R<sub>i</sub>" en el que "i" es un número entero. Estos sustituyentes variables son monovalentes o divalentes, es decir, representan un grupo unido a la fórmula mediante uno o dos enlaces químicos.

10 Por ejemplo, un grupo Z<sub>1</sub> podría representar una variable divalente si estuviera unido a la fórmula CH<sub>3</sub>-C(=Z<sub>1</sub>)H. Los grupos R<sub>i</sub> y R<sub>j</sub> podrían representar sustituyentes variables monovalentes si se unieran a la fórmula CH<sub>3</sub>-CH<sub>2</sub>-C(R<sub>i</sub>)(R<sub>j</sub>)-H. Cuando las fórmulas químicas se representan en forma lineal, tal como las anteriores, los sustituyentes variables contenidos entre paréntesis se unen al átomo situado inmediatamente a la izquierda del sustituyente variable encerrado entre paréntesis. Cuando se encuentran encerrados entre paréntesis dos o más sustituyentes variables consecutivos, cada uno de los sustituyentes variables consecutivos se une al átomo inmediatamente precedente de la izquierda que no esté encerrado entre paréntesis. Por lo tanto, en la fórmula anterior, tanto R<sub>i</sub> como R<sub>j</sub> están unidos al átomo de carbono precedente. Además, para cualquier molécula con un sistema de numeración de átomos de carbono establecido, tal como los esteroides, estos átomos de carbono se designan como C<sub>i</sub>, en el que "i" es el número entero correspondiente a su número de átomo de carbono. Por ejemplo, C<sub>6</sub> representa la posición o el número de átomo de carbono 6 en el núcleo de esteroide que se ha diseñado tradicionalmente por los expertos en la materia de la química de esteroides. De forma análoga, el término "R<sub>6</sub>" representa un sustituyente variable (monovalente o divalente) en la posición C<sub>6</sub>.

Las fórmulas químicas o las partes de las mismas representadas en forma lineal representan átomos en una cadena lineal. El símbolo "-" representa en general un enlace entre dos átomos de la cadena. De ese modo, CH<sub>3</sub>-O-CH<sub>2</sub>-CH(R<sub>i</sub>)-CH<sub>3</sub> representa un compuesto 2-sustituido-1-metoxipropano. De forma similar, el símbolo "=" representa un doble enlace, por ejemplo, CH<sub>2</sub>=C(R<sub>i</sub>)-O-CH<sub>3</sub>, y el símbolo "≡" representa un triple enlace, por ejemplo, HC≡C-CH(R<sub>i</sub>)-CH<sub>2</sub>-CH<sub>3</sub>. Los grupos carbonilo están representados por cualquiera de estas dos formas: -CO- o -C(=O)-, siendo preferente la primera de ellas por simplicidad.

Las fórmulas químicas de compuestos o fragmentos moleculares cíclicos (anulares) se pueden representar en forma lineal. De ese modo, el compuesto 4-cloro-2-metilpiridina se puede representar en forma lineal mediante N<sup>\*</sup>=C(CH<sub>3</sub>)-CH=CCl-CH=C\*H con la convención de que los átomos marcados con el asterisco (\*) están unidos entre sí dando lugar a la formación de un anillo. De forma análoga, el fragmento molecular cíclico 4-(etil)-1-piperazinil se puede representar mediante -N<sup>\*</sup>-(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>-N(C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>)-CH<sub>2</sub>-C\*H<sub>2</sub>.

Una estructura cíclica (anular) rígida en cualquier compuesto en el presente documento define una orientación con respecto al plano del anillo para los sustituyentes unidos a cada átomo de carbono del compuesto cíclico rígido. Para los compuestos saturados que tienen dos sustituyentes unidos a un átomo de carbono que es parte de un sistema cíclico, -C(X<sub>1</sub>)(X<sub>2</sub>)-, los dos sustituyentes pueden estar en posición axial o ecuatorial con respecto al anillo y pueden cambiar entre axial/ecuatorial. Sin embargo, la posición de los dos sustituyentes con respecto al anillo y entre sí permanece fija. Aunque cualquier sustituyente puede descansar en ciertas ocasiones en el plano del anillo (ecuatorial) en lugar de por encima o por debajo del plano (axial), un sustituyente siempre está por encima del otro. En las fórmulas químicas estructurales que representan tales compuestos, un sustituyente (X<sub>1</sub>) que está "por debajo" de otro sustituyente (X<sub>2</sub>) se identificará mediante la configuración alfa (α) y se define mediante la unión al átomo de carbono con una línea interrumpida, discontinua o punteada, es decir, mediante el símbolo "- - -" o "...". El sustituyente correspondiente (X<sub>2</sub>) unido "por encima" del otro (X<sub>1</sub>) se identifica mediante la configuración beta (β) y se indica mediante la unión al átomo de carbono con una línea no interrumpida.

Cuando un sustituyente variable es equivalente, las valencias se pueden tomar juntas o por separado o ambas en la definición de la variable. Por ejemplo, una variable R<sub>i</sub> unida a un átomo de carbono como -C(=R<sub>i</sub>)- sería divalente y se define como oxo (formando de ese modo un grupo carbonilo (-CO-)) o como dos sustituyentes variables monovalentes unidos por separado α-R<sub>i-1</sub> y β-R<sub>i-k</sub>. Cuando una variable divalente, R<sub>i</sub>, se define para que consista en dos sustituyentes variables monovalentes, la convención usada para definir la variable divalente es de la forma "α-R<sub>i-1</sub>;β-R<sub>i-k</sub>" o alguna variante de la misma. En tal caso, tanto α-R<sub>i-1</sub> como β-R<sub>i-k</sub> se unen al átomo de carbono para obtener -C(α-R<sub>i-1</sub>)(β-R<sub>i-k</sub>)-. Por ejemplo, cuando se define la variable divalente R<sub>6</sub>, -C(=R<sub>6</sub>)-, para que consista en dos sustituyentes variables monovalentes, los dos sustituyentes variables monovalentes son α-R<sub>6-1</sub>;β-R<sub>6-2</sub>, ..., α-R<sub>6-9</sub>;β-R<sub>6-10</sub>, etc., obteniéndose -C(α-R<sub>6-1</sub>)(β-R<sub>6-2</sub>)-, ..., -C(α-R<sub>6-9</sub>)(β-R<sub>6-10</sub>)-, etc. De forma análoga, para la variable divalente R<sub>11</sub>, -C(=R<sub>11</sub>)-, dos sustituyentes variables monovalentes son α-R<sub>11-1</sub>;β-R<sub>11-2</sub>. Para un sustituyente anular en el que no existen las orientaciones separadas α y β (por ejemplo, debido a la presencia de un doble enlace carbono-carbono en el anillo), y para un sustituyente unido a un átomo de carbono que no forma parte del anillo anterior aún se usa la misma convención, pero se omiten las designaciones α y β.

Al igual que una variable divalente se puede definir como dos sustituyentes variables monovalentes separados, se pueden definir que dos sustituyentes variables monovalentes separados se tomen en conjunto para formar una variable divalente. Por ejemplo, en la fórmula  $-C_1(R_i)H-C_2(R_i)H-$  (en la que  $C_1$  y  $C_2$  definen arbitrariamente un primer y un segundo átomo de carbono, respectivamente) se pueden definir que  $R_i$  y  $R_i$  se tomen en conjunto para formar (1) un segundo enlace entre  $C_1$  y  $C_2$  o (2) un grupo divalente tal como oxa (-O-) y de ese modo la fórmula describe un epóxido. Cuando  $R_i$  y  $R_i$  se toman en conjunto para formar una entidad más compleja, tal como el grupo -X-Y-, entonces la orientación de la entidad es tal que  $C_1$  de la fórmula anterior está unido a X y  $C_2$  está unido a Y. Por lo tanto, por convención, la designación "...  $R_i$  y  $R_i$  se toman en conjunto para formar  $-CH_2-CH_2-O-CO-$  ..." significa una lactona en la que el carbonilo está unido a  $C_2$ . Sin embargo, cuando se designa "...  $R_i$  y  $R_i$  se toman en conjunto para formar  $-CO-O-CH_2-CH_2-$  ..." la convención significa una lactona en la que el grupo carbonilo está unido a  $C_1$ .

El contenido de átomos de carbono de los sustituyentes variables se indica de una de dos maneras. El primer procedimiento usa un sufijo para el nombre completo de la variable tal como " $C_1-C_4$ ", en el que "1" y "4" son números enteros que representan el número mínimo y máximo de átomos de carbono en la variable. El sufijo se separa de la variable por un espacio. Por ejemplo, "alquilo  $C_1-C_4$ " representa un alquilo de 1 a 4 átomos de carbono (incluyendo las formas isoméricas del mismo a menos que se dé indicación expresa de lo contrario). Siempre que se dé este sufijo, el sufijo indica el contenido total de átomos de carbono de la variable que se va a definir. Por lo tanto, alcoxicarbonilo  $C_2-C_4$  describe un grupo  $CH_3-(CH_2)_n-O-CO-$  en el que n es cero, uno o dos. Mediante el segundo procedimiento, se indica por separado el contenido de átomos de carbono únicamente de cada parte de la definición, encerrando la designación " $C_i-C_j$ " entre paréntesis y colocándola inmediatamente detrás (sin espacio intermedio) de la parte de la definición que se va a definir. Mediante esta convención opcional, alcoxi( $C_1-C_3$ )carbonilo tiene el mismo significado que alcoxicarbonilo  $C_2-C_4$  debido a que " $C_1-C_3$ " se refiere solamente al contenido de átomos de carbono del grupo alcoxi. De forma análoga, aunque tanto alcoxialquilo  $C_2-C_6$  como alcoxi( $C_1-C_3$ )alquilo( $C_1-C_3$ ) definen grupos alcoxialquilo que contienen de 2 a 6 átomos de carbono, las dos definiciones difieren dado que la primera definición permite que cualquier parte alcoxi o alquilo sola contenga 4 o 5 átomos de carbono mientras que la última definición limita cualquiera de estos grupos a 3 átomos de carbono.

Cuando las reivindicaciones contengan un sustituyente (cíclico) bastante complejo, al final de la expresión que nombra/designa este sustituyente en particular habrá una anotación (entre paréntesis) en la que se le hará corresponder con el mismo nombre/designación de uno de los GRÁFICOS que también expondrá la fórmula química estructural de ese sustituyente en particular.

## II. DEFINICIONES

COMPUESTOS ANTIPARASITARIOS se refiere a e incluye compuestos de 14-hidroxi 2-desoxoparahercuamida (XXV), N-óxidos de los mismos y sales farmacéuticamente aceptables de los mismos cuando tales existan.

Toda las temperaturas son en grados centígrados.

THF se refiere a tetrahidrofurano.

Solución salina se refiere a una solución acuosa saturada de cloruro sódico.

Cromatografía (en columna y cromatografía ultrarrápida) se refiere a la purificación/separación de compuestos expresada como (soporte, eluyente). Se entiende que las fracciones apropiadas se juntan y se concentran para obtener el compuesto o compuestos deseados.

RMN se refiere a espectroscopía por resonancia magnética nuclear (de protón), y los desplazamientos químicos se presentan en ppm ( $\delta$ ) campo abajo del tetrametilsilano.

MS se refiere a espectrometría de masas expresada como unidades m/e, mz o masa/carga.  $[M + H]^+$  se refiere al ion positivo de un precursor más un átomo de hidrógeno. EI se refiere a impacto electrónico. CI se refiere a ionización química. FAB se refiere a bombardeo atómico rápido.

HRMS se refiere a espectrometría de masas de alta resolución.

Farmacéuticamente aceptable se refiere a las propiedades y/o sustancias que son aceptables para el paciente desde un punto de vista farmacológico/toxicológico y a la fabricación de química farmacéutica desde un punto de vista físico/químico con respecto a la composición, formulación, estabilidad, aceptación del paciente y biodisponibilidad.

Sales de aniones farmacéuticamente aceptables incluyen sales de los siguientes ácidos: metanosulfónico, clorhídrico, bromhídrico, sulfúrico, fosfórico, nítrico, benzoico, cítrico, tartárico, fumárico, maleico,  $CH_3-(CH_2)_n-COOH$  en el que n es 0 a 4,  $HOOC-(CH_2)_n-COOH$  en el que n es como se ha definido anteriormente.

Cuando se usan pares de disolventes, la relación de disolventes usados es volumen/volumen (v/v).

Cuando se usa la solubilidad de un sólido en un disolvente, la relación del sólido con respecto al disolvente es peso/volumen (p/v).

## Ejemplos

- 5 Sin elaboración adicional, se cree que un experto en la materia puede, usando la descripción anterior, practicar la presente invención en su más completa extensión. Los siguientes ejemplos detallados describen la forma de preparar los diversos compuestos y/o realizar los diversos procedimientos de la invención y se pretende que sean meramente ilustrativos, y no limitantes de la divulgación precedente de ningún modo. Los expertos en la materia reconocerán inmediatamente variaciones apropiadas a partir de los procedimientos en lo referente tanto a los reactivos como a las condiciones de reacción y técnicas.

### Procedimiento N° 1 Producción y aislamiento de Marcfortina A

#### Procedimiento de fermentación de semilla:

- 10 Las fermentaciones de semilla se inoculan usando tacos de agar de *Penicillium* sp. UC 7780 (NRRL 18887) aislado almacenados sobre nitrógeno líquido. Se descongelan tres tacos y se usan como inóculo. GS-7 está compuesto por glucosa y harina de semilla de algodón (comercializada con el nombre comercial "Pharmamedia" por Traders Protein, Procter & Gamble Oilseed Products Co., Memphis, TN, EE. UU.). Se usa agua corriente sin suplementar para hidratar los componentes del medio y el medio se ajusta a pH = 7,2 con hidróxido de amonio. El medio se  
15 dispensa en matraces no apantallados de sistema cerrado en una cantidad de 300 ml por matraz de 1000 ml, y se esterilizan en autoclave a 121 °C durante 30 minutos. Cada matraz de sistema cerrado que contiene 300 ml de medio GS-7 se inocula con los tres tacos de agar de *Penicillium* sp. UC 7780 (NRRL 18887) y se agita en un agitador rotatorio a 250 rpm durante 36 h a 22 °C.

#### Procedimiento secundario de fermentación de semilla:

- 20 Los cultivos de semilla madura se usan como inóculo para el medio secundario a razón de un 0,3 % de semilla. El medio secundario está compuesto por 25 g de monohidrato de glucosa (comercializada con el nombre comercial Cerelose por C.P.C. International), 25 g de harina de semilla de algodón (comercializada con el nombre comercial "Pharmamedia"), 329,8 mg de  $MgCl_2 \cdot 6H_2O$ , 11,4 mg de  $MnSO_4 \cdot H_2O$ , 3,2 mg de  $FeSO_4 \cdot 7H_2O$ , 1,8 mg de  $Na_2MoO_4 \cdot 2H_2O$ , 367,6 mg de  $CaCl_2 \cdot 2H_2O$ , 84,2 mg de NaCl, 5,8 mg de KCl, 0,1 mg de  $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$ , 0,1 mg de  $CoCl_2 \cdot 6H_2O$ , 3,1 mg de  $CuSO_4 \cdot 5H_2O$ , y 0,5 ml de antiespumante de silicona (comercializado con el nombre  
25 comercial SAG-471 Antifoam) por litro de agua de calidad de ósmosis inversa. Los componentes del medio suficientes para 200 litros de medio secundario de semilla se hidratan en agua de calidad de ósmosis inversa con un volumen suficiente de 190 litros en un fermentador de 250 l. Después de la formulación, el pH del medio se ajusta a pH 7,2 con  $NH_4OH$ , y a continuación el medio se esteriliza a 121 °C durante 30 minutos. Se usan como inóculo dos  
30 matraces de sistema cerrado del cultivo primario de semilla madura a razón de un 0,3 % de semilla. El cultivo secundario de semilla se incuba a 22 °C, con aireación de 125 slm, contrapresión de 5 psig (34 kPa), y 250 rpm durante 36 horas.

#### Procedimiento de fermentación de producción:

- 35 El medio de producción está compuesto por 50 g de melazas de remolacha, 16 g de harina de pescado (comercializada con el nombre comercial Menhaden Select Fish Meal), 10 g de extracto de levadura (comercializado con el nombre comercial Fidco), 329,8 mg de  $MgCl_2 \cdot 6H_2O$ , 11,4 mg de  $MnSO_4 \cdot H_2O$ , 3,29 mg de  $FeSO_4 \cdot 7H_2O$ , 1,8 mg de  $Na_2MoO_4 \cdot 2H_2O$ , 367,6 mg de  $CaCl_2 \cdot 2H_2O$ , 84,2 mg de NaCl, 5,8 mg de KCl, 0,1 mg de  $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$ , 0,1 mg de  $CoCl_2 \cdot 6H_2O$ , 3,1 mg de  $CuSO_4 \cdot 5H_2O$ , y 0,5 ml de antiespumante de silicona (comercializado con el nombre comercial SAG-471 Antifoam) por litro de agua de calidad de ósmosis inversa.
- 40 Se hidratan en agua de calidad de ósmosis inversa los componentes del medio suficientes para 5.000 litros de medio con un volumen suficiente de 4.700 litros en un fermentador de 5.000 l. Después de la formulación, el pH del medio se ajusta a pH 7,0 con KOH, y a continuación el medio se esteriliza a 123 °C durante 30 minutos. El cultivo secundario de semilla madura se usa como inóculo a razón de un 1,0 % de semilla. El cultivo se incuba a 22 °C, con aireación de 2.500 slm, contrapresión de 5 psig (34 kPa), y 250 rpm durante 96 horas.

#### 45 Aislamiento de Marcfortina A:

El volumen de fermentación de 4.900 l se cosecha haciéndolo pasar a través de una mezcladora de alta cizalla al recipiente de cosechado. Después de la transferencia, se añaden un 4 % p/v de tierra de diatomeas y 1/2 volumen de cloruro de metileno. La solución de cosecha se filtra a continuación usando un filtro de prensa. La torta de filtración se lava 2 veces con un volumen de un 10 % de cloruro de metileno.

- 50 El filtrado obtenido se decanta para retirar la fase de agua (acuosa). La fase remanente de cloruro de metileno rica en producto se concentra a continuación hasta un volumen de 44 l. A continuación se refina el concentrado usando un 20 % de volumen de concentrado (9 l) de cloruro de metileno y tierra de diatomeas sobre un filtro.

El concentrado refinado de 53 l se purifica adicionalmente para separar la Marcfortina A del resto de los componentes por cromatografía sobre gel de sílice y cristalización.

Antes de la cromatografía, el concentrado refinado se divide en cuatro alícuotas aproximadamente iguales. Cada alícuota se cromatografía sobre una columna de 9" (23 cm) de diámetro envasada recientemente preparada a partir de 25 kg de gel de sílice seco (volumen de lecho de 59 l). Las columnas cargadas se eluyen con 120 l de acetona al 10 % en cloruro de metileno, 120 l de acetona al 20 % en cloruro de metileno, 120 l de acetona al 30 % en cloruro de metileno, 160 l de acetona al 40 % en cloruro de metileno, y 130 l de acetona que recogen los eluatos al 30 y 40 % como fracciones de 20 l. Los eluatos se monitorizan por TLC, usando por ejemplo un sistema de disolvente que comprende un 6 % de isopropanol y un 0,3 % de hidróxido de amonio en cloruro de metileno para revelar placas de gel de sílice Whatman LK6DF. Las fracciones de Marcfortina A (que contienen una pequeña cantidad de Marcfortina D que se cromatografía conjuntamente con D) se cristalizan a partir de acetona. Las fracciones apropiadas (40-100 l) se concentran a presión reducida hasta un volumen de aproximadamente 5 l. La solución (o ligera suspensión) se transfiere a continuación a un evaporador rotatorio y se continúa la concentración a presión reducida. Se añaden varias porciones de 1 l de acetona en el curso de la concentración hasta que se desplaza completamente del cloruro de metileno. La suspensión de acetona resultante (de un volumen de aproximadamente 1 l) se refrigera durante una noche, y se recogen los cristales de Marcfortina A y se lavan con varias porciones pequeñas de acetona fría, y se secan al vacío. Tales cristales pueden estar contaminados con diversos porcentajes de Marcfortina D. La cristalización repetida en cloruro de metileno/acetona (desplazando el cloruro de metileno como se ha descrito) proporciona Marcfortina A pura.

#### Aislamiento de marcfortina D:

El volumen de fermentación de 4.900 l se cosecha haciéndolo pasar a través de una mezcladora de alta cizalla al recipiente de cosechado. Después de la transferencia, se añaden un 4 % p/v de tierra de diatomeas y 1/2 volumen de cloruro de metileno. La solución cosechada se filtra a continuación usando un filtro de prensa. La torta de filtración se lava 2 veces con un volumen de un 10 % de cloruro de metileno.

El filtrado obtenido se decanta para retirar la fase de agua (acuosa). La fase remanente de cloruro de metileno rica en producto se concentra a continuación hasta un volumen de 44 l. A continuación se refina el concentrado usando un 20 % de volumen de concentrado (9 l) de cloruro de metileno y tierra de diatomeas sobre un filtro.

El concentrado refinado de 53 l se purifica adicionalmente para separar la Marcfortina A del resto de los componentes por cromatografía sobre gel de sílice y cristalización.

Antes de la cromatografía, al concentrado refinado se divide en cuatro alícuotas aproximadamente iguales. Cada alícuota se cromatografía sobre una columna de 9" (23 cm) de diámetro envasada recientemente preparada a partir de 25 kg de gel de sílice seco (volumen de lecho de 59 l). Las columnas cargadas se eluyen con 120 l de acetona al 10 % en cloruro de metileno, 120 l de acetona al 20 % en cloruro de metileno, 120 l de acetona al 30 % en cloruro de metileno, 160 l de acetona al 40 % en cloruro de metileno, y 130 l de acetona que recogen los eluatos al 30 y 40 % como fracciones de 20 l. Los eluatos se monitorizan por TLC, usando por ejemplo un sistema disolvente que comprende un 6 % de isopropanol y un 0,3 % de hidróxido de amonio en cloruro de metileno para revelar placas de gel de sílice Whatman LK6DF. Las fracciones de Marcfortina A que contienen Marcfortina D se concentran. Un gramo de este material se disuelve en ácido fórmico (20 ml, 93 %) y se mantiene a 20-25 °C durante 16 h. Después de que se retiren los componentes volátiles a presión reducida, el residuo se somete a cromatografía sobre gel de sílice (MeOH:CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> 1:20) para obtener marcfortina D (100 mg) en forma de un sólido de color blanco. La estructura del producto se puede confirmar mediante espectroscopía por RMN y espectrometría de masas. HRMS (FAB) M/Z [M+H] calculado para C<sub>28</sub>H<sub>35</sub>N<sub>3</sub>O<sub>3</sub> + H: 462,2756; medido: 462,2739.

#### Procedimiento 1A Producción y aislamiento de Marcfortinas A y C.

##### Procedimiento primario de fermentación de semilla:

Las fermentaciones de semilla se inoculan usando tacos de agar de *Penicillium* sp. UC 7780 (NRRL 18887) aislado almacenados sobre nitrógeno líquido. Se descongelan tres tacos y se usan como inóculo para 100 ml de medio de semilla GS-7. GS-7 está compuesto por glucosa y harina de semilla de algodón (comercializada con el nombre comercial "Pharmamedia" por Traders Protein, Procter & Gamble Oilseed Products Co., Memphis, TN, EE. UU.) añadido cada uno a una concentración de 25 g/l en agua corriente. Después de la formulación, el pH de GS-7 se ajusta a 7,2 usando NH<sub>4</sub>OH. El medio se trata en autoclave en volúmenes de 100 ml en matraces de fermentación no apantallados de 500 ml durante 30 min. El GS-7 estéril se inocula como se ha descrito anteriormente y se agita 250 rpm durante 35-58 h a 23 °C.

##### Procedimiento de fermentación de producción (matraz agitador):

Los cultivos de semilla madura se usan como inóculo para el medio de producción a razón de un 1 % de semilla. El medio de producción se compone de 45 g de glucosa, 25 g de caseína digerida enzimáticamente (comercializado con el nombre comercial Peptonized Milk Nutrient por Sheffield Products, Norwich, N.Y., EE. UU.), y 2,5 g de extracto de levadura (comercializado con el nombre comercial BACTO Yeast Extract Código: 0127 por Difco Laboratories, Detroit, MI) por litro de agua corriente. Después de la formulación, el pH del medio de producción se ajusta a 7,0 usando hidróxido potásico. A continuación el medio se trata en autoclave durante 30 min en volúmenes de 100 ml contenidos en matraces de fermentación no apantallados de 500 ml. El medio de producción estéril se

inocula como se ha descrito anteriormente, y se agita durante 7-14 días a 250 rpm a 21 °C.

Procedimiento de fermentación de producción (tanques Labraferm):

5 Los cultivos de semilla madura se usan como inóculo para el medio de producción estéril a razón de un 0,5 % de semilla. El medio de producción se ha descrito anteriormente. Después de ajustar el pH a 7,0 usando KOH, se tratan en autoclave 10 l de este medio durante 90 min en tanques Labraferm de 12 l (New Brunswick Scientific Co., Inc.). Los tanques se inoculan a razón de un 0,5 % de semilla y se agitan a 500 rpm a 20 °C durante 5-9 días. El caudal de aire se mantiene a 10-15 l/min.

Aislamiento de Marcfortinas A y C:

10 Se macera el caldo de fermentación completo (35 l) en una mezcladora comercial grande Waring Blender y a continuación se mezcla con un volumen igual de cloruro de metileno. La mezcla se almacena durante una noche con refrigeración y a continuación se somete a centrifugación para romper la emulsión. Se trasvasa la fase clara resultante de cloruro de metileno y se evapora a presión reducida. Una solución concentrada del residuo (37,4 g) en cloruro de metileno se aplica a una columna de gel de sílice (1 kg) envasada en suspensión de cloruro de metileno. La columna se eluye con concentraciones crecientes de acetona en cloruro de metileno (10 %, 20 %, 30 %, 40 %, y 15 50 % de acetona). Las fracciones se monitorizan por TLC y las fracciones apropiadas se evaporan y cristalizan a partir de acetona para obtener Marcfortina A y Marcfortina C.

Procedimiento 1B Producción y aislamiento de Marcfortinas A y C

Procedimiento de fermentación de semilla:

20 Las fermentaciones de semilla se inoculan usando tacos de agar de *Penicillium* sp. UC 7780 (NRRL 18887) aislado almacenados sobre nitrógeno líquido. Los tacos se descongelan y se usan como inóculo para 100 ml de medio de semilla GS-7. GS-7 está compuesto por glucosa y harina de semilla de algodón (comercializado con el nombre comercial "Pharmamedia" by Traders Protein, Procter & Gamble Oilseed Products Co., Memphis, TN, EE. UU.) añadido cada uno a una concentración de 25 g/l de agua corriente. Después de la formulación, el pH del GS-7 se ajusta a 7,2 usando  $\text{NH}_4\text{OH}$ . El medio se trata en autoclave en volúmenes de 100 ml en matraces de fermentación no apantallados de 500 ml durante 30 min. El GS-7 estéril se inocula como se ha descrito anteriormente y se agita a 250 rpm durante 35-58 h a 23 °C.

Procedimiento de fermentación de producción (matraz agitador):

30 Los cultivos de semilla madura se usan como inóculo para el medio de producción a razón de un 1 % de semilla. El medio de producción está compuesto por 20 g de glucosa, 15 ml de glicerol, 20 g de harina de semilla de algodón (comercializada con el nombre comercial "Pharmamedia" por Traders Protein, Procter & Gamble Oilseed Products Co., Memphis, TN, EE. UU.), 10 g de harina de habas de soja, y 3 g de  $\text{K}_2\text{HPO}_4$  por litro de agua corriente. Después de la formulación, el pH del medio de producción se ajusta a 6,8 usando hidróxido potásico. A continuación este medio se trata en autoclave durante 30 min en volúmenes de 100 ml contenidos en matraces de fermentación no apantallados de 500 ml. El medio de producción estéril se inocula como se ha descrito anteriormente, y se agita 35 durante 7-14 días a 250 rpm a 21 °C.

Procedimiento de fermentación de producción (tanques Labraferm):

40 Los cultivos de semilla madura se usan como inóculo para el medio de producción estéril a razón de un 0,5 % de semilla. El medio de producción se ha descrito anteriormente. Después de ajustar el pH a 7,0 usando KOH, se tratan en autoclave 10 l de este medio durante 90 min en tanques Labraferm de 12 l (New Brunswick Scientific Co., Inc.). Los tanques se inoculan a razón de un 0,5 % de semilla y se agitan a 500 rpm a 20 °C durante 5-9 días. El caudal de ahí que se mantiene a 10-15 l/min.

Aislamiento de Marcfortinas A y C:

45 Se macera el caldo de fermentación completo (35 l) a baja velocidad en una mezcladora comercial grande Waring Blender y a continuación se mezcla con un volumen igual de cloruro de metileno. La mezcla se almacena durante una noche con refrigeración y a continuación se somete a centrifugación para romper la emulsión. Se trasvasa la fase clara resultante de cloruro de metileno y se evapora a presión reducida. Una solución concentrada del residuo (37,4 g) en cloruro de metileno se aplica a una columna de gel de sílice (1 kg) envasada en suspensión de cloruro de metileno. La columna se eluye con cantidades crecientes de acetona en cloruro de metileno (10 %, 20 %, 30 %, 40 %, y 50 % de acetona). Las fracciones se monitorizan por TLC y las fracciones apropiadas se evaporan y se 50 cristalizan a partir de acetona para obtener Marcfortina A y Marcfortina C.

Síntesis de marcfortinas 14-sustituidas

El tratamiento de marcfortina A (Fórmula 1a, Gráfico I) con yoduro de cianógeno produce una mezcla (Fórmula 5) de 16 $\alpha$ -yodo-17 $\beta$ -cianomarcfortina A y 16 $\beta$ -yodo-17 $\alpha$ -cianomarcfortina A que se puede separar por cromatografía sobre gel de sílice. La deshidroyodación de esta mezcla con hidróxido potásico en metanol conduce a 16,17-deshidro-17-

cianomarcfortina A (Fórmula 6) que se oxida con dióxido de selenio a 17-cetomarcfortina A (Fórmula 7). La introducción de un doble enlace entre C15 y C16 se consigue por selenación de la posición 16 (cloruro de fenil selenilo y LDA) seguido de oxidación del producto intermedio de selenio con peróxido de hidrógeno. La eliminación posterior de ácido fenilselénico proporciona 15,16-deshidro-17-cetomarcfortina A (Fórmula 8). Este compuesto es un producto intermedio clave en la síntesis de 14 $\alpha$ -hidroximarcfortina A (Fórmula 10) en la que se puede convertir mediante cualquiera de dos rutas sintéticas distintas.

En la primera ruta, la oxidación alílica en la posición 14 de este material usando bis(trimetilsilil)amida potásica y 2-fenilsulfonil-3-feniloxaziridina se acompaña de la oxidación de la posición 16 para obtener una mezcla de la 14 $\alpha$ -hidroxi-15,16-deshidro-17-cetomarcfortina A (Fórmula 9a) requerida y 14,15-deshidro-16-hidroxi-17-cetomarcfortina A (Fórmula 9b). Estos dos productos se separan por cromatografía sobre gel de sílice. El compuesto de Fórmula 9a se reduce por medio de hidruro de litio y aluminio en THF a 14 $\alpha$ -hidroximarcfortina A (Fórmula 10), un compuesto de título de la divulgación de la presente invención. De forma alternativa, el compuesto de Fórmula 8 (Gráfico J) se oxida con dióxido de selenio en dioxano para proporcionar una mezcla 2:1 de 14 $\alpha$ -hidroxi-15,16-deshidro-17-cetomarcfortina A (Fórmula 9a) y 15,16-deshidro-14,17-dicetomarcfortina A (Fórmula 11). Estas se separan por medio de cromatografía sobre gel de sílice. Cada uno de estos compuestos se convierte independientemente en 14 $\alpha$ -hidroxi-17-cetomarcfortina A (Fórmula 12a): el compuesto de Fórmula 9a por reducción del doble enlace 15,16 con trietilborohidruro de litio; el compuesto de Fórmula 11 por reducción del carbonilo de la posición 14 con borohidruro de litio. En el último caso, también se produce una cantidad igual de 14 $\beta$ -hidroxi-17-cetomarcfortina A (Fórmula 12b) que se puede retirar por cromatografía. El compuesto de fórmula 12a se reduce con complejo de borano tetrahidrofurano (THF) para obtener 14 $\alpha$ -hidroximarcfortina A (Fórmula 10).

La 14 $\alpha$ -hidroxi-15,16-deshidro-17-cetomarcfortina A (Fórmula 9a, Gráfico K) se reduce con trietilborohidruro de litio a 14 $\alpha$ -hidroxi-17-cetomarcfortina A (Fórmula 12a). Esta se transforma por medio de una oxidación de Swern usando cloruro de oxalilo y DMSO en 14,17-dicetomarcfortina A (Fórmula 13). El tratamiento con bromuro de metilmagnesio en una reacción de Grignard produce una mezcla de 14 $\alpha$ -hidroxi-14 $\beta$ -metil-17-cetomarcfortina A (Fórmula 14a) y 14 $\beta$ -hidroxi-14 $\alpha$ -metil-17-cetomarcfortina A (Fórmula 14b) que se separa por cromatografía sobre gel de sílice. La relación de los productos depende del disolvente usado: el cloruro de metileno proporciona una relación 6:1, mientras que el THF proporciona una relación > 50:1, respectivamente. La reducción del compuesto de Fórmula 13a con hidruro de litio y aluminio proporciona 14 $\alpha$ -hidroxi-14 $\beta$ -metilmarcfortina A (Fórmula 15).

La oxidación de Swern de 14 $\alpha$ -hidroximarcfortina A (Fórmula 10, Gráfico I) proporciona 14-cetomarcfortina A (Fórmula 16), que se reduce con borohidruro sódico a 14- $\beta$ -hidroximarcfortina A (Fórmula 17). El tratamiento de 14-cetomarcfortina A (Fórmula 16) con bromuro de etilmagnesio en una reacción de Grignard produce 14 $\alpha$ -hidroxi-14-etilmarcfortina A (Fórmula 19). El tratamiento de 14 $\alpha$ -hidroximarcfortina A (Fórmula 10) con ácido m-cloroperóxibenzoico produce N-óxido de 14 $\alpha$ -hidroximarcfortina A (Fórmula 18). La 14 $\beta$ -metilmarcfortina A se puede preparar a partir de 14 $\alpha$ -hidroxi-14 $\beta$ -metil-marcfortina A por medio de una deshidroxilación. De ese modo, la 14 $\alpha$ -hidroxi-14 $\beta$ -metilmarcfortina A se trata con tionoformiato de fenilo en presencia de una base. Este derivado de tionoformiato de 14 $\alpha$ -hidroxi-14 $\beta$ -metilmarcfortina A se reduce con hidruro de tri-n-butilestaño para producir 14 $\beta$ -metilmarcfortina A.

De forma alternativa, la 14 $\alpha$ -hidroximarcfortina A se puede sintetizar a partir de marcfortina A (Gráfico M). El tratamiento de marcfortina A con bicarbonato sódico y yodo en tetrahidrofurano acuoso produce 17-cetomarcfortina A (Fórmula 7), que se puede disulfenilar usando LDA y disulfuro de fenilo para obtener 16-ditiofenil-17-cetomarcfortina A (Fórmula 20, GRÁFICO M) con un rendimiento de un 60 % a partir de la marcfortina A. La oxidación con ácido m-cloroperóxibenzoico produce 16-tiofenil-16-sulfoxifenil-17-cetomarcfortina A (Fórmula 21), que sufre una eliminación en tolueno a reflujo para producir 15,16-deshidro-16-tiofenil-17-cetomarcfortina A (Fórmula 22). El tratamiento posterior con ácido m-cloroperóxibenzoico produce 15,16-deshidro-16-sufoxifenil-17-cetomarcfortina A (Fórmula 23), que experimenta una transposición usando dietilamina en metanol para producir 15,16-deshidro-14 $\alpha$ -hidroxi-17-cetomarcfortina A (Fórmula 9a).

La 14 $\alpha$ -hidroxi-15 $\alpha$ -metilmarcfortina A (Fórmula 35, Gráfico N) se puede sintetizar a partir de 15,16-deshidro-14 $\alpha$ -hidroxi-17-cetomarcfortina A (Fórmula 9a, Gráfico N). De ese modo, se trata 15,16-deshidro-14 $\alpha$ -hidroxi-17-cetomarcfortina A (Fórmula 9a) con bromuro de metilmagnesio o dimetilcuprato de litio para producir 15 $\alpha$ -metil-14 $\alpha$ -hidroxi-17-cetomarcfortina A (Fórmula 34), que se reduce con complejo de borano-sulfuro de dimetilo para producir 15 $\alpha$ -metil-14 $\alpha$ -hidroximarcfortina A (Fórmula 35). La 15 $\alpha$ -metil-14 $\alpha$ -hidroxi-17-cetomarcfortina A (Fórmula 34) se transforma por medio de una oxidación de Swern usando cloruro de oxalilo y DMSO en 15 $\alpha$ -metil-14,17-dicetomarcfortina A (Fórmula 36). El tratamiento con bromuro de metilmagnesio en una reacción de Grignard produce 15 $\alpha$ -metil-14 $\alpha$ -hidroxi-14 $\beta$ -metil-17-cetomarcfortina A (Fórmula 37), que se reduce con complejo de borano-sulfuro de dimetilo para producir 15 $\alpha$ -metil-14 $\alpha$ -hidroxi-14 $\beta$ -metilmarcfortina A (Fórmula 38).

Estos procedimientos que se han descrito anteriormente se pueden usar para producir derivados 14-sustituídos de marcfortina B, C y D.

## PREPARACIÓN 1 16-Yodo-17-cianomarcfortina A en forma de una mezcla de diastereómeros (Fórmula 5)

Se añade yoduro de cianógeno (11,7 g, 76,5 mmol) a una solución de marcfortina A (10,5 g, 22 mmol) en  $\text{CHCl}_3$  (150 ml) y la mezcla de reacción se calienta a reflujo hasta que se ha consumido toda la marcfortina A (aproximadamente 5 h). La solución de color negro resultante se enfría a 20-25 °C, se diluye con  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (100 ml), se lava con  $\text{NaHCO}_3$  sat, y a continuación se lava con una solución de  $\text{Na}_2\text{SO}_3$ . La fase orgánica se separa, se seca sobre  $\text{MgSO}_4$ , y se concentra hasta sequedad. El sólido en bruto resultante se somete a cromatografía sobre gel de sílice (EtOAc:hexano 3:2) para obtener 16-Yodo-17-cianomarcfortina A (12,5 g, 90 %) en forma de un sólido pulverulento de color blanco. La estructura del producto se puede confirmar por espectroscopía por resonancia magnética nuclear y espectrometría de masas.

## 10 PREPARACIÓN 2 16,17-Deshidro-17-cianomarcfortina A (Fórmula 6)

Se disuelve 16-Yodo-17-cianomarcfortina A (9,5 g, 15 mmol en MeOH (150 ml), y se añade KOH acuoso (45 %, 3 ml). La mezcla de reacción se agita a 20-25 °C durante 2 h. Se añade agua y el precipitado de color blanco resultante se recoge por filtración, se lava con agua, y se seca durante una noche al vacío para obtener 16,17-Deshidro-17-cianomarcfortina A (6,6 g, 75 %) en forma de un polvo de color blanco. La estructura del producto se puede confirmar por espectroscopía por resonancia magnética nuclear y espectrometría de masas. MS (FAB) M/Z [M+H]: 501.

## PREPARACIÓN 3 17-Cetomarcfortina A (Fórmula 7)

Se añade dióxido de selenio (2,9 g, 26 mmol) a una solución de 16,17-Deshidro-17-cianomarcfortina A (6,0 g, 10 mmol) en EtOH al 95 % (100 ml) y la mezcla de reacción se agita a 20-25 °C durante 2 h. La reacción se interrumpe por adición de  $\text{NaHCO}_3$  sat (100 ml). La mezcla resultante se extrae con  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (2 x 200 ml). Los extractos se combinan, se secan ( $\text{MgSO}_4$ ), y se concentran para obtener 7 g de producto en bruto. Este material se purifica por cromatografía sobre gel de sílice (EtOAc) para obtener 17-cetomarcfortina A (3,6 g, 75 %) en forma de un sólido de color blanco. La estructura del producto se puede confirmar por espectroscopía por resonancia magnética nuclear y espectrometría de masas. HRMS (FAB) M/Z [M+H] calculado para  $\text{C}_{28}\text{H}_{33}\text{N}_3\text{O}_5+\text{H}$ : 492,2498; medido: 492,2478.

De forma alternativa, y más preferentemente, el compuesto del título se puede sintetizar usando ácido p-toluenosulfónico. De ese modo, se añade monohidrato de ácido p-toluenosulfónico (1 g) a una solución de 16,17-deshidro-17-cianomarcfortina A (10 g) en MeOH al 95 % (50 ml) y la mezcla de reacción se agita a 20-25 °C durante 1 h. Se añade trietilamina (2 ml) a la mezcla y se evapora el disolvente. El residuo se tritura con solución acuosa al 10 % de carbonato sódico (100 ml) y el sólido se filtra y se seca para obtener el compuesto del título en forma de un sólido (90 % de rendimiento). La estructura del producto se puede confirmar por espectroscopía por resonancia magnética nuclear y espectrometría de masas.

## PREPARACIÓN 4 15,16-Deshidro-17-cetomarcfortina A (Fórmula 8)

Se prepara una solución de diisopropilamida de litio a partir de una solución de n-butil litio (1,6 M, 9,9 ml, 15,4 mmol) en hexano y diisopropilamina (2,2 ml, 15,7 mmol). Esta se diluye con tetrahidrofurano anhidro (THF, 20 ml) y se enfría a -78 °C. Se añade gota a gota una solución de 17-cetomarcfortina A (2,0 g, 4,1 mmol) en THF anhidro (20 ml) y la mezcla de reacción se deja calentar a -40 °C durante 1 h. La mezcla se enfría de nuevo a -78 °C y se trata gota a gota con cloruro de fenil selenio (19 mg, 5,2 mmol) en THF (10 ml). Después de 5 min la reacción se interrumpe con  $\text{NaHCO}_3$  sat, se extrae con  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ , se seca ( $\text{MgSO}_4$ ), y se concentra para obtener un sólido de color amarillo que se puede usar sin purificación adicional. Este material se disuelve en THF (150 ml) y se trata con  $\text{H}_2\text{O}_2$  (30 %, 1,5 ml) a 0 °C. Se retira del baño de refrigeración y la mezcla de reacción se agita durante 30 min a 20-25 °C. La reacción se interrumpe por adición de NaOH (1 N, 100 ml). La mezcla se extrae con  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (2 x 200 ml). Los extractos se combinan, se secan ( $\text{MgSO}_4$ ), y se concentran para obtener un producto en bruto. Este material se purifica por cromatografía sobre gel de sílice (EtOAc) para obtener 15,16-deshidro-17-cetomarcfortina A (1,3 g, 65 %) en forma de un sólido de color blanco. La estructura del producto se confirma mediante espectroscopía por resonancia magnética nuclear y espectrometría de masas. HRMS (FAB) M/Z [M+H] calculado para  $\text{C}_{28}\text{H}_{31}\text{N}_3\text{O}_5+\text{H}$ : 490,2342; medido: 490,2345.

PREPARACIÓN 5 14 $\alpha$ -Hidroxi-15,16-deshidro-17-cetomarcfortina A (Fórmula 9a) Usando Química de Oxaziridina

Una solución de bis(trimetilsilil)amida potásica en tolueno (0,5 M, 1 ml, 0,5 mmol) se añade gota a gota a una solución de 15,16-deshidro-17-cetomarcfortina A (66 mg, 0,14 mmol) en THF (2 ml) a -78 °C. La solución turbia de color amarillo pálido resultante se deja calentar a -40 °C durante 1 h. La mezcla de reacción se enfría -78 °C, se agita 15 min, y a continuación se trata mediante la adición gota a gota de una solución de 2-fenilsulfonil-3-feniloxaziridina (42 mg, 0,16 mmol) en THF (2 ml). La mezcla se agita 5 min después de que la reacción se interrumpa por adición de  $\text{NaHCO}_3$ . La mezcla se extrae con  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (2 x 25 ml). Los extractos se combinan, se secan ( $\text{MgSO}_4$ ), y se concentran para obtener un material en bruto. Este se purifica mediante cromatografía en capa fina preparativa (gel de sílice, EtOAc) para obtener 14 $\alpha$ -Hidroxi-15,16-deshidro-17-cetomarcfortina A (8 mg, 12 %) en forma de un sólido de color blanco. La estructura se puede confirmar mediante espectroscopía por resonancia magnética nuclear y espectrometría de masas. HRMS (FAB) M/Z [M+H] calculado para  $\text{C}_{28}\text{H}_{31}\text{N}_3\text{O}_6 + \text{H}$ : 506,2291;

medido: 506,2280. También se obtiene 14,15-Deshidro-16-hidroxi-17-cetomarcfortina A (14 mg, 20 %) a partir de la fase. Su estructura se puede confirmar mediante espectroscopía por resonancia magnética nuclear.

PREPARACIÓN 6 14 $\alpha$ -Hidroxi-15,16-deshidro-17-cetomarcfortina A (Fórmula 9a), 15,16-deshidro-14,17-dicetomarcfortina A (Fórmula 11) y 14,15-deshidro-16,17-dicetomarcfortina A (Fórmula 24) usando dióxido de selenio

- 5 Se disuelve 15,16-Deshidro-17-cetomarcfortina A (1,29 g, 2,6 mmol) en p-dioxano (30 ml) y se trata con dióxido de selenio (390 mg). La mezcla se calienta a reflujo durante 1 h y el disolvente se evapora al vacío. El residuo se tritura con cloruro de metileno (30 ml) y se filtra. El filtrado se concentra, y el residuo se somete a cromatografía sobre gel de sílice (MeOH:EtOAc 1:20) para obtener 14 $\alpha$ -hidroxi-15,16-deshidro-17-cetomarcfortina A (430 mg, 32 %) en forma de un sólido. También se obtiene 15,16-Deshidro-14,17-dicetomarcfortina A (Fórmula 11, 212 mg, 16 %) a partir de la cromatografía. También se obtiene 14,15-Deshidro-16,17-dicetomarcfortina A (Fórmula 24, 106 mg, 8 %) a partir de la cromatografía. La estructura de estos productos se puede confirmar mediante espectroscopía por resonancia magnética nuclear y espectrometría de masas.

PREPARACIÓN 7 15,16-deshidro-14,17-dicetomarcfortina A (Fórmula 11)

- 15 Se disuelve 14 $\alpha$ -Hidroxi-15,16-deshidro-17-cetomarcfortina A (60 mg, Fórmula 9a) en cloruro de metileno (10 ml) y se trata con dióxido de manganeso (60 mg). La mezcla se agita a 20-25 °C durante 1 h y se concentra. La cromatografía en capa fina preparativa del residuo sobre gel de sílice (50 % de cloruro de metileno en EtOAc) proporcionó 15,16-deshidro-14,17-dicetomarcfortina A (Fórmula 11, 35 mg, 60 %). La estructura de estos productos se puede confirmar mediante espectroscopía por resonancia magnética nuclear y espectrometría de masas.

PREPARACIÓN 8 14 $\alpha$ -hidroximarcfortina A (Fórmula 10)

- 20 Se disuelve 14 $\alpha$ -Hidroxi-15,16-deshidro-17-cetomarcfortina A (20 mg, 0,040 mmol) en THF (5 ml) y se trata con una solución de hidruro de litio y aluminio (1 M, 0,11 ml, 0,11 mmol) en THF a 0 °C. La mezcla se agita durante 0,5 h a 0 °C después de añadir una solución de NaHCO<sub>3</sub> (10 %). La mezcla se extrae con CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (2 x 10 ml). Los extractos se combinan, se secan (MgSO<sub>4</sub>), y el disolvente se retira a presión reducida. La cromatografía en capa fina preparativa del residuo sobre gel de sílice (10 % de MeOH en EtOAc) proporciona el compuesto del título. HRMS (FAB, M/Z) [M+H] calculado para C<sub>28</sub>H<sub>35</sub>N<sub>3</sub>O<sub>5</sub> + H = 494,2655, medido = 494,2653.

PREPARACIÓN 9 14 $\alpha$ -Hidroxi-17-cetomarcfortina A (Fórmula 12a)

- 30 Se disuelve 14 $\alpha$ -Hidroxi-15,16-deshidro-17-cetomarcfortina A (fórmula 9a, 50 mg, 0,1 mmol) en THF (5 ml) y se trata con una solución de trietilborohidruro de litio en THF (1 M, 0,7 ml) a -78°. La mezcla se agita durante 0,5 h a -78 °C. La reacción se interrumpe por adición de MeOH (1 ml), y la mezcla se concentra. El sólido resultante se somete a cromatografía sobre gel de sílice (MeOH:CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> 1:20) para obtener 14 $\alpha$ -hidroxi-17-cetomarcfortina A (43 mg, 86 %) en forma de un sólido de color blanco. La estructura del producto se puede confirmar mediante espectroscopía por RMN y espectrometría de masas. HRMS (FAB) M/Z [M+H] calculado para C<sub>28</sub>H<sub>33</sub>N<sub>3</sub>O<sub>6</sub> + H: 508,2447; medido: 508,2437.

- 35 PREPARACIÓN 10 Preparación de 14 $\alpha$ -hidroxi-17-cetomarcfortina A (Fórmula 12a) a partir de 15,16-deshidro-14,17-dicetomarcfortina A (Fórmula 11)

- 40 Se disuelve 15,16-Deshidro-14,17-dicetomarcfortina A (470 mg, 0,93 mmol) en THF y se trata con una solución de borohidruro de litio en THF (1 M, 2 ml) a temperatura ambiente. La mezcla se agita durante 2 h después de añadir una solución de NaHCO<sub>3</sub> (10 %). La mezcla se extrae con CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (2 x 20 ml). Los extractos se combinan, se secan (MgSO<sub>4</sub>), y el disolvente se evapora. El residuo contiene una mezcla de los dos epimeros que se separan fácilmente por cromatografía sobre gel de sílice (MeOH: EtOAc 1:20): 14 $\alpha$ -hidroxi-17-cetomarcfortina A (90 mg, 19 %) y 14 $\beta$ -hidroxi-17-cetomarcfortina A (94 mg, 20 %). La estructura de ambos productos se puede confirmar mediante espectroscopía por RMN y espectrometría de masas.

PREPARACIÓN 11 Preparación de 14 $\alpha$ -hidroximarcfortina A (Fórmula 10) a partir de 14 $\alpha$ -hidroxi-17-cetomarcfortina A (Fórmula 12a)

- 45 Se disuelve 14 $\alpha$ -Hidroxi-17-cetomarcfortina A (413 mg, 0,81 mmol) en THF (20 ml) y se trata con una solución de complejo de borano THF en THF (1 M, 2,43 ml) a 0 °C. La mezcla se agita durante 2,25 h. La mezcla se agita durante 0,5 h después de añadir MeOH (3 ml). Después de que se evapore el disolvente, el residuo se somete a cromatografía sobre gel de sílice (MeOH: EtOAc 1:16) para obtener 14 $\alpha$ -hidroximarcfortina A (250 mg, 92 % de rendimiento basado en el material de partida recuperado) y 14 $\alpha$ -hidroxi-17-cetomarcfortina A (material de partida, 140 mg, 34 %).

PREPARACIÓN 12 14,17-Dicetomarcfortina A (Fórmula 13)

Una solución de cloruro de oxalilo (40  $\mu$ l) en CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> anhidro (5 ml) se trata con dimetilsulfóxido (45  $\mu$ l) a -78 °C. La mezcla se agita durante 1 h a -78 °C. Se añade gota a gota una solución de 14 $\alpha$ -hidroxi-17-cetomarcfortina A (27

mg) en  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (2 ml). La mezcla de reacción se agita 20 min a  $-78\text{ }^\circ\text{C}$ . Se añade trietilamina (0,3 ml) a la mezcla de reacción que se deja calentar a temperatura ambiente durante 20 min. La mezcla se reparte entre  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  al 10 % (10 ml) y  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (10 ml). La fase orgánica se seca ( $\text{MgSO}_4$ ) y se concentra. El residuo se somete a cromatografía sobre gel de sílice ( $\text{MeOH}:\text{CH}_2\text{Cl}_2$  1:20) para obtener 14,17-Dicetomarcfortina A (22 mg, 80 %) en forma de un sólido de color blanco. La estructura del producto se puede confirmar mediante espectroscopía por RMN y espectrometría de masas. HRMS (FAB) M/Z [M+H] calculado para  $\text{C}_{28}\text{H}_{31}\text{N}_3\text{O}_6 + \text{H}$ : 506,2291; medido: 506,2280.

PREPARACIÓN 13 14 $\alpha$ -Hidroxi-14 $\beta$ -metil-17-cetomarcfortina A (Fórmula 14a)

Una solución de 14,17-Dicetomarcfortina A (16 mg, 0,032 mmol) en  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (5 ml) a  $-78\text{ }^\circ\text{C}$  se trata con una solución de bromuro de metilmagnesio (3 M, 0,16 ml, 0,48 mmol) en  $\text{Et}_2\text{O}$  a  $-78\text{ }^\circ\text{C}$ . La mezcla resultante se agita durante 0,5 h a  $-78\text{ }^\circ\text{C}$ . La reacción se interrumpe por adición de  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  al 10 % (unas pocas gotas). La mezcla se diluyó con  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (10 ml), se secó ( $\text{MgSO}_4$ ), y se concentró. El residuo se somete a cromatografía sobre gel de sílice ( $\text{MeOH}:\text{CH}_2\text{Cl}_2$  1:20) para obtener 14 $\alpha$ -hidroxi-14 $\beta$ -metil-17-cetomarcfortina A (8 mg, 50 %,  $R_f = 0,25$ ) en forma de un sólido de color blanco. La estructura del producto se puede confirmar mediante espectroscopía por RMN y espectrometría de masas. HRMS (FAB) M/Z [M+H] calculado para  $\text{C}_{29}\text{H}_{35}\text{N}_3\text{O}_6 + \text{H}$ : 522,2604; medido: 522,2620. También se obtiene a partir de la fase 14 $\beta$ -hidroxi-14 $\alpha$ -metil-17-cetomarcfortina A (1,2 mg, 7 %,  $R_f = 0,4$ ) en forma de un sólido de color blanco. La estructura del producto se puede confirmar mediante espectroscopía por RMN y espectrometría de masas. HRMS (FAB) M/Z [M+H] calculado para  $\text{C}_{29}\text{H}_{35}\text{N}_3\text{O}_6 + \text{H}$ : 522,2604; medido: 522,2630. La relación 6:1 de productos obtenida de ese modo se aumenta a más de 50:1 y el rendimiento aumenta a un 80 % cuando se usa THF en lugar de  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  como disolvente de reacción.

PREPARACIÓN 14 14 $\alpha$ -hidroxi-14 $\beta$ -metilmarcfortina A (Fórmula 15)

Una solución de 14 $\alpha$ -hidroxi-14 $\beta$ -metil-17-cetomarcfortina A (5 mg, 0,01 mmol) en THF (5 ml) se trata con una solución de hidruro de litio y aluminio (1 M, 0,03 ml, 0,03 mmol) en THF a  $0\text{ }^\circ\text{C}$ . La mezcla se agita durante 0,5 h a  $0\text{ }^\circ\text{C}$  después de añadir una solución de  $\text{NaHCO}_3$  (10 %). La mezcla se extrae con  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (2 x 5 ml). Los extractos se combinan, se secan ( $\text{MgSO}_4$ ), y el disolvente se evapora. La cromatografía en capa fina preparativa del residuo sobre gel de sílice ( $\text{MeOH}:\text{CH}_2\text{Cl}_2$  1:20) proporcionó 14 $\alpha$ -hidroxi-14 $\beta$ -metilmarcfortina A (2 mg, 40 %). La estructura del producto se puede confirmar mediante espectroscopía por RMN y espectrometría de masas. HRMS (FAB) M/Z [M+H] calculado para  $\text{C}_{29}\text{H}_{37}\text{N}_3\text{O}_5 + \text{H}$ : 508,2811; medido: 508,2816.

PREPARACIÓN 15 14-Cetomarcfortina A (Fórmula 16)

Una solución de cloruro de oxalilo (150  $\mu\text{l}$ ) en  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  anhidro (20 ml) se trata con DMSO (170  $\mu\text{l}$ ) a  $-78\text{ }^\circ\text{C}$ . La mezcla se agita durante 1 h a  $-78\text{ }^\circ\text{C}$ . Se añade gota a gota una solución de 14 $\alpha$ -hidroximarcfortina A (110 mg) en  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (5 ml). La mezcla de reacción se agita 20 min a  $-78\text{ }^\circ\text{C}$ . Se añade trietilamina (1 ml) a la mezcla de reacción que se deja calentar a temperatura ambiente durante 20 min. La mezcla se reparte entre  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  al 10 % (20 ml) y  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (20 ml). La fase orgánica se seca ( $\text{MgSO}_4$ ) y se concentra. El residuo se somete a cromatografía sobre gel de sílice ( $\text{MeOH}:\text{CH}_2\text{Cl}_2$  1:25) para obtener 14-cetomarcfortina A (82 mg, 75 %) en forma de un sólido de color blanco. La estructura del producto se puede confirmar mediante espectroscopía por RMN y espectrometría de masas. HRMS (FAB) M/Z [M+H] calculado para  $\text{C}_{28}\text{H}_{33}\text{N}_3\text{O}_5 + \text{H}$ : 492,2498; medido: 492,2510.

PREPARACIÓN 16 14 $\beta$ -Hidroximarcfortina A (Fórmula 17)

Una solución de 14-cetomarcfortina A (10 mg) en MeOH (2 ml) se trata con borohidruro sódico (5 mg) a  $0\text{ }^\circ\text{C}$ . La mezcla se agita durante 0,5 h a  $0\text{ }^\circ\text{C}$  después de añadir una solución de  $\text{NaHCO}_3$  (10 %). La mezcla se extrae con  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (2 x 10 ml). Los extractos se combinan, se secan ( $\text{MgSO}_4$ ), y el disolvente se evapora. La cromatografía en capa fina preparativa del residuo sobre gel de sílice ( $\text{MeOH}:\text{EtOAc}$  1:16) proporciona 14 $\beta$ -hidroximarcfortina A (5 mg, 50 %). La estructura del producto se puede confirmar mediante espectroscopía por RMN y espectrometría de masas. HRMS (FAB) M/Z [M+H] calculado para  $\text{C}_{28}\text{H}_{35}\text{N}_3\text{O}_5 + \text{H}$ : 494,2655; medido: 494,2653.

PREPARACIÓN 17 N-óxido de 14 $\alpha$ -Hidroximarcfortina A (Fórmula 18)

Una solución de 14 $\alpha$ -hidroximarcfortina A (15 mg) en  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (3 ml) se trata con ácido m-cloroperóxibenzoico (15 mg) a  $0\text{ }^\circ\text{C}$ . Después de agitar la mezcla durante 0,5 h a  $0\text{ }^\circ\text{C}$ , se trata con trietilamina (30  $\mu\text{l}$ ) y se concentra. La cromatografía en capa fina preparativa del residuo sobre gel de sílice ( $\text{MeOH}:\text{CH}_2\text{Cl}_2$  1:8) proporciona N-óxido de 14 $\alpha$ -hidroximarcfortina A (12 mg, 80 %). La estructura del producto se puede confirmar mediante espectrometría de masas. HRMS (FAB) M/Z [M+H] calculado para  $\text{C}_{28}\text{H}_{35}\text{N}_3\text{O}_6 + \text{H}$ : 510,2604; medido: 510,2615.

PREPARACIÓN 18 14 $\alpha$ -Hidroxi-14 $\beta$ -etilmarcfortina A (Fórmula 19)

Una solución de 14-cetomarcfortina A (25 mg, 0,05 mmol) en THF (5 ml) a  $-78\text{ }^\circ\text{C}$  se trata con una solución de bromuro de etilmagnesio (3 M, 0,15 ml, 0,45 mmol) en  $\text{Et}_2\text{O}$  a  $-78\text{ }^\circ\text{C}$ . La mezcla resultante se agita durante 0,5 h a  $-78\text{ }^\circ\text{C}$ . La mezcla de reacción se deja calentar a temperatura ambiente durante 20 min. La reacción se interrumpe por adición de  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  al 10 % (unas pocas gotas). La mezcla se diluyó con  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (10 ml), se secó ( $\text{MgSO}_4$ ), y se concentró. El residuo se somete a cromatografía sobre gel de sílice ( $\text{MeOH}:\text{CH}_2\text{Cl}_2$  1:20) para obtener 14 $\alpha$ -hidroxi-

14β-etilmarcfortina A (10 mg, 45 %) en forma de un sólido de color blanco. La estructura del producto se puede confirmar mediante espectroscopía por RMN y espectrometría de masas. HRMS (FAB) M/Z [M+H] calculado para C<sub>30</sub>H<sub>39</sub>N<sub>3</sub>O<sub>5</sub> + H: 522,2968; medido: 522,2983.

PREPARACIÓN 19 Preparación de 14β-metilmarcfortina A a partir de 14α-hidroxi-14β-metilmarcfortina A

5 Una solución de bis(trimetilsilil)amida potásica en tolueno (0,5 M, 1 ml, 0,5 mmol) se añade gota a gota a una solución de 14α-hidroxi-14β-metilmarcfortina A (66 mg, 0,14 mmol) en THF (2 ml) a -78 °C. La solución turbia de color amarillo pálido resultante se deja calentar a -40 °C durante 1 h. La mezcla de reacción se enfría a -78 °C, se agita 15 min, y a continuación se trata mediante la adición gota a gota de una solución de clorotioformiato de fenilo (0,094 ml, 0,7 mmol) en THF (2 ml). Después de 10 min se retira el baño de hielo seco. Después de reaccionar durante un período adicional de 3 h, la reacción se interrumpe por adición de NaHCO<sub>3</sub>. La mezcla se extrae con CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (2 x 25 ml). Los extractos se combinan, se secan (MgSO<sub>4</sub>), y se concentran para obtener un material en bruto. Este se purifica por cromatografía en capa fina preparativa (gel de sílice, EtOAc) para obtener 14α-O-fenoxitiocarbonil-14β-metilmarcfortina A.

15 A una solución de 14α-O-fenoxitiocarbonil-14β-metilmarcfortina A (64 mg, 0,1 mmol) en tolueno (5 ml) se añade AIBN (3,3 mg) seguido de la adición de hidruro de tributilestano (54 μL, 0,2 mmol). La mezcla se calienta a reflujo durante 3 h. Después de evaporar el disolvente, el residuo se purifica por cromatografía en capa fina preparativa (gel de sílice, EtOAc) para obtener 14β-metilmarcfortina A. La estructura se puede confirmar mediante espectroscopía por resonancia magnética nuclear y espectrometría de masas.

PREPARACIÓN 20 Síntesis alternativa de 17-cetomarcfortina A (Fórmula 7)

20 A marcfortina A (65 g, 0,136 mol) y bicarbonato sódico (137 g, 1,63 mol) en tetrahidrofurano (THF, 2 l) y agua (1,25 l) a reflujo se añade yodo (206 g, 0,81 mol) gota a gota en THF (1,25 l) durante un período de una hora. (De forma alternativa, la mezcla se puede agitar a temperatura ambiente durante 16 horas). Después de permitir que se enfríe lentamente a temperatura ambiente (2,5 h), la reacción se interrumpe con tiosulfato sódico saturado (Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub>, 1,5 l) y se extrae con acetato de etilo (2 x 1 l). Las fases orgánicas combinadas se lavan con tiosulfato sódico saturado (1 l), se secan (MgSO<sub>4</sub>), se filtran, se evaporan y se secan durante una noche en un horno de vacío (65 °C) para obtener 62 g de 17-cetomarcfortina A en bruto (Fórmula 7) en forma de un sólido de color amarillo. RMN <sup>1</sup>H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 7,68 (s, 1H), 6,80 (d, 1H), 6,70 (d, 1H), 6,32 (d, 1H), 4,90 (d, 1H), 3,75 (c, 2H), 3,23 (t, 1H), 3,09 (s, 3H), 2,80 (d, 1H), 2,65 (d, 1H), 2,49-2,21(m, 2H), 2,08 (d, 1H), 1,98-1,45 (m, 5H), 1,46 (s, 3H), 1,44 (s, 3H), 1,09 (s, 3H), 0,90 (s, 3H).

30 De forma alternativa, se puede usar ICl en lugar de yodo.

PREPARACIÓN 21 16-Ditiofenil-17-cetomarcfortina A (Fórmula 20)

35 La 17-cetomarcfortina A en bruto (5 g, 10,2 mmol) se añade a través de una cánula en THF (150 ml) a -78 °C a una solución de LDA que se preparó por adición gota a gota de n-BuLi (1,6 M, 24,8 ml, 0,04 mol) a diisopropil amina (5,7 ml, 0,041 mol) a 0 °C en THF (100 ml). La mezcla de reacción se deja calentar lentamente a -50 °C durante una hora. La mezcla turbia de color rojo-marrón resultante se trata a continuación con disulfuro de fenilo (4,4 g, 0,02 mol). La reacción se interrumpe inmediatamente con una solución saturada de bicarbonato sódico (100 ml) y se extrae con cloruro de metileno (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, 300 ml). La fase orgánica se secó (MgSO<sub>4</sub>), se concentró (8 g), y se cromatografió sobre gel de sílice (120 g, 60 % de acetato de etilo / hexano como eluyente) para proporcionar el compuesto del título en forma de un sólido de color blanquecino (4,4 g, 61 % a partir de marcfortina A). FAB-MS 708 (M<sup>+</sup>+ H); RMN <sup>1</sup>H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 7,74 (s, 1H), 7,71 (d, 2H), 7,64 (d, 2H), 7,45-7,30 (m, 6H), 6,81 (d, 1H), 6,72 (d, 1H), 6,32 (d, 1H), 4,91 (d, 1H), 3,70 (c, 2H), 3,16 (t, 1H), 3,01 (s, 3H), 2,75 (d, 1H), 2,53 (dt, 1H), 2,35 (dt, 1H), 2,15-1,50 (m, 5H), 1,47 (s, 3H), 1,45 (s, 3H), 1,06 (s, 3H), 0,82 (s, 3H).

PREPARACIÓN 22 16-Tiofenil-16-sulfoxifenil-17-cetomarcfortina A (Fórmula 21)

45 A 16-ditiofenil-17-cetomarcfortina A (10 g, 14 mmol) en CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (250 ml) a -78 °C en una atmósfera de nitrógeno se añade gota a gota ácido m-cloroperoxibenzoico (m-CPBA, 64 %, 4,2 g, 15,5 mmol) en CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (200 ml) durante 15 minutos. La reacción se interrumpe inmediatamente con tiosulfato sódico saturado (200 ml), se diluye con NaHCO<sub>3</sub> saturado (200 ml), y se extrae con CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (200 ml). El secado (MgSO<sub>4</sub>), seguido de concentración a presión reducida proporciona 11 g de 16-tiofenil-16-sulfoxifenil-17-cetomarcfortina A en bruto (Fórmula 21). RMN <sup>1</sup>H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 8,0-7,29 (m, 11H), 6,80 (d, 1H), 6,70 (d, 1H), 6,31 (d, 1H), 4,90 (d, 1H), 3,68 (d, 1H), 3,41 (d, 1H), 3,14 (t, 1H), 3,07 (s, 3H), 2,82 (dt, 1H), 2,80-2,65 (m, 2H), 2,16 (dt, 1H), 2,05-1,1 (m, 4H), 1,47 (s, 3H), 1,43 (s, 3H), 0,96 (s, 3H), 0,83 (s, 3H).

PREPARACIÓN 23 16-Tiofenil-15,16-deshidro-17-cetomarcfortina A (Fórmula 22)

55 La 16-tiofenil-16-sulfoxifenil-17-cetomarcfortina A en bruto (Fórmula 21, 11 g) se calienta a reflujo en tolueno (250 ml) durante 45 minutos, se enfría a temperatura ambiente, se diluye con bicarbonato sódico saturado (300 ml) y se extrae con EtOAc (300 ml). La fase orgánica se seca (MgSO<sub>4</sub>) y se concentra para obtener 10,6 g de 16-tiofenil-

15,16-deshidro-17-cetomarcfortina A en bruto (Fórmula 22). FAB-MS 598 ( $M^+ + H$ ); HRMS M/Z ( $M^+ + H$ ,  $C_{34}H_{35}N_3O_5S + H_1$ ), calc. 598,2376, obs. 598,2387. RMN  $^1H$  (300 MHz,  $CDCl_3$ ) 8,18 (s, 1H), 7,55-7,45 (m, 2H), 7,29-7,45 (m, 3H), 6,83 (d, 1H), 6,70 (d, 1H), 6,34 (d, 1H), 5,92 (dt, 1H), 4,91 (d, 1H), 3,87 (c, 2H), 3,30 (dd, 1H), 3,21 (t, 1H), 3,08 (s, 3H), 2,80 (d, 1H), 2,35 (dd, 1H), 2,10 (d, 1H), 2,03 (dd, 1H), 1,78 (dd, 1H), 1,46 (s, 3H), 1,44 (s, 3H), 1,11 (s, 3H), 0,88 (s, 3H).

PREPARACIÓN 24 16-Sulfoxifenil-15,16-deshidro-17-cetomarcfortina A (Fórmula 23)

A la 16-tiofenil-15,16-deshidro-17-cetomarcfortina A en bruto (Fórmula 22, 10,6 g) en cloruro de metileno (300 ml) a -78 °C se añade gota a gota m-CPBA (64 %, 2,8 g) en  $CH_2Cl_2$  (125 ml). La reacción se interrumpe con tiosulfato sódico saturado (300 ml) y bicarbonato sódico saturado (300 ml), y a continuación se extrae con cloruro de metileno (300 ml). La fase orgánica se seca ( $MgSO_4$ ), se filtra y se concentra para obtener 13 g de 16-sulfoxifenil-15,16-deshidro-17-cetomarcfortina A en bruto (Fórmula 23). RMN  $^1H$  (300 MHz,  $CDCl_3$ ) 7,75-7,3 (m, 5H), 6,81 (s, 1H), 6,75-6,6 (m, 2H), 6,31 (d, 1H), 4,90 (d, 1H), 3,78-3,58 (m, 2H), 3,22 (t, 1H), 2,98 (s, 3H), 2,88-2,45 (m, 2H), 2,12-1,55 (m, 5H), 1,46 (s, 3H), 1,44 (s, 3H), 1,12 (s, 3H), 0,88 (s, 3H).

PREPARACIÓN 25 14 $\alpha$ -Hidroxi-15,16-deshidro-17-cetomarcfortina A (Fórmula 9a)

A la 16-sulfoxifenil-15,16-deshidro-17-cetomarcfortina A en bruto (Fórmula 23, 13 g) en MeOH acuoso (10/1, 300 ml) se añade dietilamina (15 ml). Después de calentar a reflujo durante 0,5 h la mezcla de reacción se enfría a temperatura ambiente, se diluye con agua (450 ml), y se extrae con  $CH_2Cl_2$  (500 ml). El secado ( $MgSO_4$ ), seguido de concentración y cromatografía sobre gel de sílice (130 g, 30 % de acetona /  $CH_2Cl_2$  como eluyente) produce 14 $\alpha$ -hidroxi-15,16-deshidro-17-cetomarcfortina A (Fórmula 9a, 3,6 g, 50 % de rendimiento a partir de 16-ditiofenil-17-cetomarcfortina A) en forma de un sólido de color blanco.

PREPARACIÓN 26 14 $\alpha$ -Hidroxi-14 $\beta$ -vinilmarcfortina A (Fórmula 30)

Una solución de 14-cetomarcfortina A (200 mg, 0,4 mmol) en THF (5 ml) a -78 °C se trata con una solución de bromuro de vinilmagnesio (1 M, 4,0 ml, 4 mmol) en THF a -78 °C. La mezcla resultante se agita durante 2 h a -78 °C y se calienta a temperatura ambiente. Se agita a temperatura ambiente durante 2 h. La reacción se interrumpe por adición de  $Na_2CO_3$  al 10 % (3 ml). La mezcla se diluyó con  $CH_2Cl_2$  (30 ml), se lavó con solución saturada de cloruro de amonio, se secó ( $MgSO_4$ ), y se concentró. El residuo se somete a cromatografía sobre gel de sílice (hexano:acetona 6:4) para obtener 14 $\alpha$ -hidroxi-14 $\beta$ -vinilmarcfortina A (120 mg, 60 %,  $R_f = 0,45$ ) en forma de un sólido de color blanco. RMN  $^1H$  (300 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$  7,86 (s, NH), 6,78 y 6,67 (d, J = 8,1 Hz,  $C_4-H$  y  $C_5-H$ ), 6,32 (d, J = 7,7 Hz,  $C_{24}-H$ ), 6,58 (dd, J = 17,4, 10,9 Hz, 1H, vinilo), 5,43 (d, J = 17,4 Hz, 1H, vinilo), 5,18 (d, J = 10,9 Hz, 1H, vinilo), 4,89 (d, J = 7,7 Hz,  $C_{25}-H$ ), 3,7 (a, 1H), 3,11 (s, 3H, N-Me), 2,95 (t, 1H,  $C_{20}-H$ ), 2,8-1,5 (m, 12H), 1,44 (s, 6H,  $C_{27}-H$  y  $C_{28}-H$ ), 1,08 (s, 3H), 0,82 (s, 3H). MS (FAB) M/Z [ $M + H$ ]: 520.

PREPARACIÓN 27 N-óxido de 14 $\alpha$ -Hidroxi-14 $\beta$ -metilmarcfortina A (Fórmula 32)

Una solución de 14 $\alpha$ -hidroximarcfortina A (30 mg) en  $CH_2Cl_2$  (3 ml) se trata con ácido m-cloroperoxisbenzoico (20 mg) a 0 °C. Después de agitar la mezcla durante 0,5 h, se repartió a continuación entre bicarbonato sódico acuoso al 5 % (10 ml) y cloruro de metileno (20 ml). Las fases se separan y la fase acuosa se extrae con cloruro de metileno (10 ml). Los extractos combinados se secan con sulfato de magnesio, se filtran, y se evaporan al vacío a 0 °C, se tratan con trietilamina (30  $\mu$ L) y se concentran para producir el compuesto del título en forma de un sólido (20 mg). RMN  $^1H$  (300 MHz,  $CD_3OD$ )  $\delta$  6,91 y 6,70 (d, J = 8,1 Hz,  $C_4-H$  y  $C_5-H$ ), 6,36 (d, J = 7,7 Hz,  $C_{24}-H$ ), 4,91 (d, J = 7,7 Hz,  $C_{25}-H$ ), 4,08 y 3,76 (c AB, J = 12,9 Hz, 2H,  $C_{12}-H$ ), 3,5-3,1 (m, 4H), 3,12 (s, 3H, N-Me), 2,8-1,6 (m, 7H), 1,46 y 1,44 (2s, 6H,  $C_{27}-H$  y  $C_{28}-H$ ), 1,50 (s, 3H,  $C_{14}-Me$ ), 1,20 (s, 3H), 0,93 (s, 3H).

PREPARACIÓN 28 14 $\alpha$ -Hidroxi-15 $\alpha$ -metilmarcfortina A (Fórmula 35)

Se disuelve 14 $\alpha$ -Hidroxi-15 $\alpha$ -metil-17-cetomarcfortina A (90 mg, 0,18 mmol) en THF (10 ml) y se trata con complejo de borano sulfuro de dimetilo (12 M, 0,18 ml) a 0 °C. La mezcla se agita durante 2 h a 0 °C, a continuación se añade MeOH (0,4 ml) y se agita durante un período adicional de 1 h. Después de evaporar el disolvente, el residuo se somete a cromatografía sobre gel de sílice (acetona: cloruro de metileno 30:70) para obtener 14 $\alpha$ -hidroxi-15 $\alpha$ -metilmarcfortina A (20 mg) en forma de un sólido. RMN  $^1H$  (300 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$  8,39 (s, NH), 6,79 y 6,70 (d, J = 8,1 Hz,  $C_4-H$  y  $C_5-H$ ), 6,36 (d, J = 7,7 Hz,  $C_{24}-H$ ), 4,91 (d, J = 7,7 Hz,  $C_{25}-H$ ), 3,81 (a, 1H,  $C_{14}-H$ ), 3,67 (d, 1H, J = 11,7 Hz,  $C_{12}-H$ ), 3,03 (t, 1H,  $C_{20}-H$ ), 3,11 (s, 3H, N-Me), 2,68 y 1,86 (d, 2H, J = 15,7 Hz,  $C_{10}-H$ ), 2,7-1,2 (m, 8H), 1,44 (2s, 6H,  $C_{27}-H$  y  $C_{28}-H$ ), 1,02 (d, 3H, J = 6,8 Hz,  $C_{15}-Me$ ), 1,11 (s, 3H), 0,85 (s, 3H). HRMS (FAB) M/Z [ $M+H$ ] calculado para  $C_{29}H_{37}N_3O_5 + H$ : 508,2811; medido: 508,2840.

PREPARACIÓN 29 14,17-diceto-15 $\alpha$ -metilmarcfortina A (Fórmula 36)

Una solución de cloruro de oxalilo (40  $\mu$ l) en  $CH_2Cl_2$  anhidro (5 ml) se trata con DMSO (45  $\mu$ l) a -78 °C. La mezcla se agita durante 1 h a -78 °C. Se añade gota a gota una solución de 14 $\alpha$ -hidroxi-15 $\alpha$ -metil-17-cetomarcfortina A (27 mg) en  $CH_2Cl_2$  (2 ml). La mezcla de reacción se agita 20 min a -78 °C. Se añade trietilamina (0,3 ml) a la mezcla de reacción que se deja calentar a temperatura ambiente durante 20 min. La mezcla se reparte entre  $Na_2CO_3$  al 10 %

(10 ml) y  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (10 ml). La fase orgánica se seca ( $\text{MgSO}_4$ ) y se concentra. El residuo se somete a cromatografía sobre gel de sílice ( $\text{MeOH}:\text{CH}_2\text{Cl}_2$  1:20) para obtener 14,17-Dicetomarcfortina A (22 mg, 80 %) en forma de un sólido de color blanco. La estructura del producto se puede confirmar mediante espectroscopía por RMN y espectrometría de masas. HRMS (FAB) M/Z [M+H] calculado para  $\text{C}_{28}\text{H}_{31}\text{N}_3\text{O}_6 + \text{H}$ : 506,2291; medido: 506,2280.

5 PREPARACIÓN 30 14 $\alpha$ -hidroxi-14 $\beta$ -metil-15 $\alpha$ -metil-17-cetomarcfortina A (Fórmula 37)

Una solución de 14,17-Diceto-15 $\alpha$ -metilmarcfortina A (25 mg, 0,05 mmol) en  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (5 ml) a -78 °C se trata con una solución de bromuro de metilmagnesio (3 M, 0,2 ml, 0,6 mmol) en  $\text{Et}_2\text{O}$  a -78 °C. La mezcla resultante se agita durante 0,5 h a -78 °C. La reacción se interrumpe por adición de  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  al 10 % (unas pocas gotas). La mezcla se diluyó con  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (10 ml), se secó ( $\text{MgSO}_4$ ), y se concentró. El residuo se somete a cromatografía sobre gel de sílice ( $\text{MeOH}:\text{CH}_2\text{Cl}_2$  1:25) para obtener 14 $\alpha$ -hidroxi-14 $\beta$ -metil-15 $\alpha$ -metil-17-cetomarcfortina A (16 mg, 62 %) en forma de un sólido de color blanco. RMN  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  8,13 (s, 1H), 6,78 (d, 1H), 6,70 (d, 1H), 6,33 (d, 1H), 4,91 (d, 1H), 3,75 (c, 2H), 3,16 (t, 1H), 3,05 (s, 3H), 2,78 (d, 1H), 2,68-2,57 (m, 1H), 2,42-2,0 (m, 6H), 1,64 (s, 3H), 1,45 (s, 3H), 1,44 (s, 3H), 1,11 (s, 3H), 1,04 (d, 3H), 0,92 (d, 3H).

PREPARACIÓN 31 14 $\alpha$ -hidroxi-14 $\beta$ -metil-15 $\alpha$ -metilmarcfortina A (Fórmula 38)

15 Se disuelve 14 $\alpha$ -Hidroxi-14 $\beta$ -metil-15 $\alpha$ -metil-17-cetomarcfortina A (15 mg, 0,028 mmol) en THF (10 ml) y se trata con complejo de borano sulfuro de dimetilo (10 M, 0,02 ml) a 0 °C. La mezcla se agita durante 2 h a 0 °C, a continuación se añade MeOH (0,4 ml) y se agita durante un periodo adicional de 1 h. Después de evaporar el disolvente, el residuo se somete a cromatografía sobre gel de sílice (acetona: cloruro de metileno 30:70) para obtener 14 $\alpha$ -hidroxi-14 $\beta$ -metil-15 $\alpha$ -metilmarcfortina A (4 mg, 29 %) en forma de un sólido. RMN  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  7,82 (s, 1H), 6,79 (d, 1H), 6,67 (d, 1H), 6,33 (d, 1H), 4,90 (d, 1H), 3,65 (d, 1H), 3,09 (s, 3H), 2,98 (t, 1H), 2,69 (d, 1H), 2,60-2,22 (m, 7H), 2,06 (dd, 1H), 1,87 (d, 1H), 1,85-1,75 (m, 1H), 1,44 (s, 6H), 1,43 (s, 3H), 1,10 (s, 3H), 0,94 (d, 3H), 0,86 (s, 3H).

**Ejemplo 1 Solo como referencia 15 $\alpha$ -Etil-14 $\alpha$ -Hidroxi-17-oxomarcfortina A (II)**

25 A yoduro de cobre (I) (0,18 g, 0,95 mmol) en THF (10 ml) a 0 °C se añade gota a gota bromuro de etilmagnesio (1 M en THF, 2 ml, 2 mmol). Después de 0,25 h de agitación a 0 °C la reacción se trata gota a gota con 14 $\alpha$ -hidroxi-15,16-deshidro-17-oxomarcfortina A (I, 0,1 g, 0,2 mmol) en THF (5 ml) a 0 °C. La mezcla de reacción se interrumpe 1 h después con cloruro de amonio (saturado, 25 ml) y a continuación se extrae con acetato de etilo (2 x 25 ml). Los extractos orgánicos combinados se secan con sulfato de magnesio, se filtran, y se concentran a presión reducida para obtener un residuo. El residuo se cromatografía (gel de sílice; metanol/cloruro de metileno (4/96)) para obtener el compuesto del título. RMN (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) 7,75, 6,80, 6,70, 6,32, 4,91, 4,66, 3,75, 3,20, 3,06, 2,79, 2,09, 2,40-1,50, 1,48, 1,44, 1,11, 1,02 y 0,90  $\delta$ ; MS (FAB, M/Z) [M + H] = 536.

**Ejemplo 2 Solo como referencia 15 $\alpha$ -Etil-14 $\alpha$ -hidroximarcfortina A (III)**

35 Se disuelve 15 $\alpha$ -etil-14 $\alpha$ -hidroxi-17-oxomarcfortina A (I, Ejemplo 1, 40 mg, 0,075 mmol) en THF (5 ml) y se trata con complejo de borano sulfuro de dimetilo (10 M, 0,08 ml, 0,8 mmol) a 0 °C. La mezcla se agita durante 1 h a 0 °C, a continuación se inactiva con metanol (0,2 ml) y se agita durante un periodo adicional de 0,25 h a 20-25 °C. El disolvente se retira para obtener un residuo que se cromatografía (gel de sílice; metanol/cloruro de metileno (4/96)) para obtener el compuesto del título. RMN (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) 7,85, 6,80, 6,67, 6,33, 4,90, 3,92, 3,67, 3,10, 3,01, 2,69, 1,87, 2,65 - 1,20, 1,45, 1,44, 1,12, 0,97 y 0,88  $\delta$ ; HRMS (FAB, M/Z) [M + H] calculado para  $\text{C}_{30}\text{H}_{39}\text{N}_3\text{O}_5 + \text{H}$  = 522,2968, medido = 522,2958.

40 **Ejemplo 3 Solo como referencia 14 $\alpha$ -Hidroxi-15 $\alpha$ -vinil-17-oxomarcfortina A (IV)**

Siguiendo el procedimiento general del Ejemplo 1 y realizando variaciones no críticas excepto por el uso de bromuro de vinilmagnesio (1 M en THF, 39,5 ml, 0,04 mol) en lugar de bromuro de etilmagnesio, se obtiene el compuesto del título. RMN (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) 7,69, 6,80, 6,71, 6,32, 4,91, 6,11-5,95, 5,32-5,20, 4,50, 3,21, 3,08, 3,07-3,0, 2,80, 2,10, 2,66, 2,32, 2,20-1,80, 1,46, 1,44, 1,11 y 0,89  $\delta$ .

45 **Ejemplo 4 Solo como referencia 14 $\alpha$ -Hidroxi-15 $\alpha$ -(1',2'-dihidroxi-17-oxomarcfortina A (V)**

Se combinan una solución de tetróxido de osmio (2,5/97,5) en 2-metil-2-propanol, (1,9 ml), N-óxido de 4-metilmorfolina (1,9 g, 0,016 mol) y 14 $\alpha$ -hidroxi-15 $\alpha$ -vinil-17-oxomarcfortina A (IV, Ejemplo 3, 1,9 g, 0,0035 mol) y se agitan durante 6 h a 20-25 °C en acetona/agua (9/1, 100 ml). La reacción se reparte entre agua (200 ml) y cloruro de metileno (250 ml). La fase orgánica se seca sobre sulfato de magnesio, se filtra, y se concentra a presión reducida para obtener un residuo. El residuo se cromatografía (gel de sílice; metanol/cloruro de metileno (10/90)) para obtener el compuesto del título. HRMS (FAB, M/Z) [M + H] calculado para  $\text{C}_{30}\text{H}_{37}\text{N}_3\text{O}_8 + \text{H}$  = 568,2659, medido = 568,2670.

**Ejemplo 5 Solo como referencia** **14 $\alpha$ -Hidroxi-15 $\alpha$ -hidroximetil-17-oxomarcfortina A (VI)**

A 14 $\alpha$ -hidroxi-15 $\alpha$ -(1',2'-dihidroxietil)-17-oxomarcfortina A (V, Ejemplo 4, 1 g, 1,8 mmol) en etanol (100 ml) a 0 °C se añade gota a gota peryodato sódico (0,68 g en 40 ml de agua). Después de 10 minutos de agitación a 0 °C, se añade borohidruro sódico y la mezcla resultante se agita durante un periodo adicional de 10 minutos a 0 °C. La mezcla de reacción se inactiva con solución salina (150 ml) y se extrae con cloruro de metileno (200 ml). El extracto orgánico se seca con sulfato de magnesio, se filtra, y se concentra a presión reducida para obtener un residuo que se cromatografía (gel de sílice; metanol/cloruro de metileno (5/95)) para obtener el compuesto del título. RMN (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) 7,73, 6,81, 6,71, 6,32, 4,92, 4,72, 4,06, 3,83, 3,76, 3,21, 3,06, 2,90-2,30, 2,80, 2,10, 2,22, 2,01, 1,46, 1,44, 1,12 y 0,89  $\delta$ ; MS (FAB, M/Z) [M + H] = 538.

**Ejemplo 6 Solo como referencia** **15 $\alpha$ -Fluorometil-14 $\alpha$ -hidroxi-17-oxomarcfortina A (VII)**

Se combinan 14 $\alpha$ -hidroxi-15 $\alpha$ -hidroximetil-17-oxomarcfortina A (VI, Ejemplo 5, 0,06 g, 0,1 mmol), fluoruro de tetrabutilamonio (1 M en THF, 0,66 ml, 0,66 mmol) y fluoruro de p-toluenosulfonilo (0,075 g, 0,43 mol) y se calientan a reflujo en THF (10 ml) durante 0,5 h. La mezcla se enfría y se concentra. El concentrado se cromatografía (gel de sílice) para obtener el compuesto del título. RMN (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) 7,93, 6,80, 6,70, 6,32, 4,90, 4,80-4,50, 4,67, 3,75, 3,21, 3,06, 2,78, 2,15, 2,70-1,50, 1,46, 1,44, 1,12 y 0,89  $\delta$ .

**Ejemplo 7 Solo como referencia** **15 $\alpha$ -Fluorometil-14 $\alpha$ -hidroximarcfortina A (VII)**

Se disuelve 15 $\alpha$ -Fluorometil-14 $\alpha$ -hidroxi-17-oxomarcfortina A (VII, Ejemplo 6, 15 mg, 0,027 mmol) en THF (5 ml) y se trata con complejo de borano-tetrahidrofurano (1 M en THF, 0,15 ml, 0,15 mmol) a 0 °C. La mezcla se agita durante 1,5 h a 0 °C, a continuación se inactiva con metanol (0,75 ml) y se agita durante un periodo adicional de 0,25 h a 20-25 °C. El disolvente se retira para obtener un residuo. El residuo se cromatografía (gel de sílice; metanol/cloruro de metileno (5/95)) para obtener el compuesto del título. RMN (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) 7,57, 6,80, 6,68, 6,33, 4,90, 4,75-4,30, 4,09, 4,80, 3,50, 3,12, 3,05, 2,70, 1,88, 2,80-1,40, 1,45, 1,44, 1,12 y 0,86  $\delta$ ; HRMS (FAB, M/Z) [M + H] calculado para C<sub>29</sub>H<sub>36</sub>FN<sub>3</sub>O<sub>5</sub> + H = 526,2717, medido = 526,2727.

**Ejemplo 8 Solo como referencia** **14,15-Deshidro-15-metilmarcfortina A (IX)**

Se añade gota a gota trifluoruro de dietilaminoazufre (DAST, 0,15 ml, 1,1 mmol) a 20-25 °C a 14 $\alpha$ -hidroxi-15 $\alpha$ -metilmarcfortina A (III, n<sub>1</sub> = 0, 0,2 g, 0,39 mmol) que se disuelve en cloruro de metileno (15 ml). Después de 5 min de agitación, la mezcla de reacción se reparte entre agua (25 ml) y cloruro de metileno (25 ml). La fase orgánica se seca sobre sulfato de magnesio, se filtra, se concentra a presión reducida, y se cromatografía (gel de sílice) para obtener el compuesto del título. RMN (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) 7,67, 6,81, 6,68, 6,33, 4,90, 5,46, 3,66, 3,14, 3,10, 2,70, 1,88, 2,75-2,54, 2,30, 1,92, 1,78, 1,46, 1,44, 1,12 y 0,86  $\delta$ .

**Ejemplo 9 Solo como referencia** **14,15-Deshidro-16 $\alpha$ -hidroxi-15-metilmarcfortina A (X)**

Se calientan a reflujo dióxido de selenio (8 mg, 0,07 mmol) y 14,15-deshidro-15-metilmarcfortina A (IX, Ejemplo 8, 30 mg, 0,06 mmol) en p-dioxano durante 1,5 h. La concentración a presión reducida seguido de cromatografía (gel de sílice) proporciona el compuesto del título. RMN (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) 7,60, 6,81, 6,69, 6,32, 4,90, 5,55, 3,75, 2,53, 3,67, 3,14, 3,10, 2,88-2,70, 2,30, 1,90, 1,95-1,50, 1,46, 1,45, 1,11, y 0,87  $\delta$ ; MS (FAB, M/Z) [M + H] = 506.

**Ejemplo 10 Solo como referencia** **14 $\alpha$ -hidroxi-16,17-dioxo-15 $\alpha$ -metilmarcfortina A (XI)**

Se disuelve 14 $\alpha$ -Hidroxi-15 $\alpha$ -metilmarcfortina A (III, 100 mg) en dioxano/agua (3/1: 20 ml) y se trata con platino sobre carbono (10 %, 1 g). La mezcla resultante se pone en atmósfera de oxígeno (usando un globo) y se agita durante 16 h a 20-25 °C. Después de retirar el catalizador por filtración la solución se reparte entre solución acuosa de bicarbonato sódico (10 %) y cloruro de metileno. La fase orgánica se separa, se seca sobre sulfato de magnesio y se concentra. El concentrado se somete a cromatografía (gel de sílice; metanol/cloruro de metileno (5/95)). Cuando las fracciones apropiadas se mezclan y se concentran se obtienen cuatro compuestos: (1) 14 $\alpha$ -hidroxi-16,17-dioxo-15 $\alpha$ -metilmarcfortina A, RMN (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) 8,35, 6,82, 6,71, 6,32, 4,90, 4,53, 3,90, 3,76, 3,4-3,3, 3,26, 3,00, 2,80, 2,14, 2,20, 1,98, 1,45, 1,43, 1,31, 1,12 y 0,86  $\delta$ ; HRMS (FAB, M/Z) [M + H] calculado para C<sub>28</sub>H<sub>33</sub>N<sub>3</sub>O<sub>7</sub> + H = 536,2397, medido = 536,2392; (2) 14 $\alpha$ -hidroxi-16-oxo-15 $\alpha$ -metilparahercuamida B, RMN (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) 7,81, 6,82, 6,72, 6,33, 4,91, 4,94, 3,73, 3,53, 3,4-3,3, 3,26, 3,06, 2,82, 2,04, 2,9-2,8, 1,9-2,1, 1,46, 1,44, 1,27, 1,11 y 0,88  $\delta$ ; HRMS (FAB, M/Z) [M + H] calculado para C<sub>28</sub>H<sub>33</sub>N<sub>3</sub>O<sub>6</sub> + H = 508,2447, medido = 508,2453; (3) 14 $\alpha$ -hidroxi-17-oxo-15 $\alpha$ -metilmarcfortina A, RMN (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) 7,89, 6,80, 6,71, 6,32, 4,91, 4,35, 3,65, 3,20, 3,06, 2,79, 2,09, 1,9-2,5, 1,46, 1,44, 1,13, 1,12 y 0,88  $\delta$ ; (4) 14 $\alpha$ -hidroxi-16-hidroxi-17-oxo-15 $\alpha$ -metilmarcfortina A, HRMS (FAB, M/Z) [M + H] calculado para C<sub>29</sub>H<sub>35</sub>N<sub>3</sub>O<sub>7</sub> + H = 538,2553, medido = 538,2544.

**Ejemplo 11 Solo como referencia** **14 $\alpha$ -hidroxi-16-oxo-15 $\alpha$ -metilparahercuamida B (XII)**

Se disuelve 14 $\alpha$ -Hidroxi-16,17-dioxo-15 $\alpha$ -metilmarcfortina A (XI, Ejemplo 10) en cloruro de metileno (5 ml) y se trata con ácido m-cloroperbenzoico (65 % puro, 30 mg). La mezcla resultante se agita a 20-25 °C durante 1,5 h. La mezcla se reparte entre cloruro de metileno (20 ml) y carbonato potásico (10 %, solución acuosa, 20 ml). La fase

orgánica se separa, se seca sobre sulfato de magnesio y se concentra. El concentrado se cromatografía (gel de sílice; metanol/cloruro de metileno (5/95)) para obtener el compuesto del título. RMN (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 7,81, 6,82, 6,72, 6,33, 4,91, 4,94, 3,73, 3,53, 3,4-3,3, 3,26, 3,06, 2,82, 2,04, 2,9-2,8, 1,9-2,1, 1,46, 1,44, 1,27, 1,11 y 0,88 δ.

**5 Ejemplo 12 Solo como referencia 14α-Hidroxi-15α-metilparahercuamida B (XIII)**

Se trata hidruro de litio y aluminio (1 M, solución en THF, 0,21 ml) en THF (10 ml) a -60 °C con cloruro de aluminio (15 mg, 3 porciones). La mezcla se agita y se calienta a -25 °C y se añade lentamente 14α-hidroxi-16-oxo-15α-metilparahercuamida B (XII, Ejemplo 11) (20 mg, 2 ml en THF). La mezcla se agita a -25 °C durante 20 min. Se añade a la mezcla metanol (0,8 ml) seguido de cianoborohidruro sódico (50 mg). La mezcla resultante se calienta a 20-25 °C y se concentra. El concentrado se reparte entre cloruro de metileno (20 ml) y carbonato potásico (solución acuosa al 10 %, 20 ml). La fase orgánica se separa, se seca sobre sulfato de magnesio y se concentra. El concentrado se somete a cromatografía (gel de sílice; acetona/hexano (40/60)) para obtener el compuesto del título. RMN (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 7,56, 6,82, 6,69, 6,32, 4,90, 4,42, 3,64, 2,62, 3,08, 3,04, 2,9-1,5, 1,46, 1,45, 1,12, 1,08 y 0,86 δ; HRMS (FAB, M/Z) [M + H] calculado para C<sub>28</sub>H<sub>35</sub>N<sub>3</sub>O<sub>5</sub> + H = 494,2662, medido = 494,2655.

**15 Ejemplo 13 Solo como referencia 16,17-dioxomarcfortina A (XV), 16-oxoparahercuamida B (XVI), 15-hidroxi-16-oxoparahercuamida B, 15,16-dioxoparahercuamida B**

Se disuelve marcfortina A (XIV, 1,1 g, 2,3 mmol) en dioxano/agua (3/1, 150 ml) y se trata con platino sobre carbono (10 %, 10 g). La mezcla resultante se agita en atmósfera de oxígeno (globo de oxígeno) a 20-25 °C durante 48 h. El catalizador se retira por filtración y la mezcla resultante se reparte entre cloruro de metileno y agua. La fase orgánica se separa, se seca sobre sulfato de magnesio, se filtra, y se evapora a presión reducida para obtener un residuo. El residuo se cromatografía (gel de sílice; acetona/cloruro de metileno, 30/70) para obtener:

- (1) 16,17-dioxomarcfortina A, RMN (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 7,69, 6,81, 6,74, 6,32, 4,92, 3,95, 3,80, 3,32, 3,15, 3,14-2,70, 2,19-1,86, 1,47, 1,45, 1,12 y 0,88 δ;
- (2) 16-oxoparahercuamida B, RMN (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 7,81, 6,80, 6,71, 6,32, 4,91, 3,74, 3,52, 3,29, 3,08, 3,0-2,85, 2,80, 2,00, 2,55-2,49, 2,08-1,75, 1,46, 1,44, 1,10 y 0,88 δ; HRMS (FAB, M/Z [M+H]) calculado para C<sub>27</sub>H<sub>31</sub>N<sub>3</sub>O<sub>5</sub> + H = 478,2342, medido = 478,2384;
- (3) 15-hidroxi-16-oxoparahercuamida B, RMN se complica por los diastereómeros. HRMS (FAB M/Z [M+H]) calculado para C<sub>27</sub>H<sub>31</sub>N<sub>3</sub>O<sub>6</sub> + H = 494,2291, medido = 494,2292;
- (4) 15,16-dioxoparahercuamida B, RMN (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 7,60, 6,83, 6,74, 6,32, 4,92, 4,12, 3,84-3,70, 3,46, 3,14, 2,89, 2,13, 2,50, 2,25, 1,95, 1,47, 1,45, 1,11 y 0,90 δ; HRMS (FAB M/Z [M+H]) calculado para C<sub>27</sub>H<sub>29</sub>N<sub>3</sub>O<sub>6</sub> + H = 492,2134, medido = 492,2141.

**Ejemplo 14 Solo como referencia 14,15-Deshidro-16-oxoparahercuamida B (XVII)**

Una mezcla de diisopropilamida de litio que se prepara a partir de n-butil litio (1,6 M en hexano, 1,2 mmol, 0,78 ml) y diisopropilamina (1,3 mmol, 0,17 ml) en THF (4 ml) se enfría a -60 °C. Se añade el gota a gota una mezcla de 16-oxo-parahercuamida B (XVI, Ejemplo 13, 0,15 g, 0,3 mmol) en THF (1,5 ml) y la mezcla de reacción se dejó calentar a -20 °C durante 0,25 h. La mezcla se trata gota a gota con cloruro de fenilselenilo (0,075 g, 0,39 mmol) en THF (1 ml), y a continuación se inactiva 5 min después con bicarbonato sódico saturado (20 ml). La mezcla de reacción se extrae con cloruro de metileno (30 ml), se seca sobre sulfato de magnesio, se filtra y se concentra a presión reducida para obtener un sólido que se usa sin purificación adicional. Este material se disuelve en THF (8 ml) y se trata con peróxido de hidrógeno (30 %, 0,12 ml) a 0 °C. El baño de refrigeración se retira y la mezcla de reacción se agita durante 0,25 h a 20-25 °C. La reacción se interrumpe con hidróxido sódico (1N, 10 ml), se extrae con cloruro de metileno (30 ml), se seca sobre sulfato de magnesio, se filtra, se concentra a presión reducida y se somete a cromatografía (gel de sílice; metanol/cloruro de metileno, (5/95)) para obtener el compuesto del título. RMN (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 7,78, 7,36, 6,25, 6,81, 6,70, 6,32, 4,91, 3,96, 3,60, 3,36, 3,09, 2,88, 2,09, 2,36, 1,56, 1,46, 1,45, 1,06 y 0,88 δ; HRMS (FAB, M/Z) [M+H] calculado para C<sub>27</sub>H<sub>29</sub>N<sub>3</sub>O<sub>5</sub> + H = 476,2185, medido = 476,2195.

**Ejemplo 15 Solo como referencia 14α-Hidroxi-15α-metil-2-desoxomarcfortina A (XXI)**

A 14α-hidroxi-15α-metil-17-oxomarcfortina A (XIX, 21 g, 0,04 mol) en THF (1,3 l) a 0 °C se añade gota a gota complejo de borano sulfuro de dimetilo (12 M, 40 ml, 0,48 mol). La mezcla resultante se agita durante 2,5 h a 0 °C y a continuación se inactiva gota a gota lentamente con metanol (50 ml). El disolvente se retira a presión reducida para obtener un residuo que se somete a cromatografía (gel de sílice; metanol/cloruro de metileno, 3/97) para obtener 14α-hidroxi-15α-metilmarcfortina A y 14α-hidroxi-15α-metil-2-desoxomarcfortina A. RMN (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 6,66, 6,40, 6,29, 4,79, 3,92, 3,41, 3,78, 3,55, 2,92, 2,62, 2,35, 2,25, 2,26, 2,15, 2,10-1,40, 1,40, 1,04, 1,02, 0,89, 0,91; HRMS (FAB, m/z) [M+H] calculado para C<sub>29</sub>H<sub>39</sub>N<sub>3</sub>O<sub>4</sub> + H = 494,3019, medido = 494,3208.

**Ejemplo 16 Solo como referencia 2-Desoxomarcfortina A (XXIII)**

A marcfortina A (XXII, 0,16 g, 0,335 mmol) en THF (25 ml) a 0 °C se añade gota a gota complejo de alano-N,N-dimetiletilamina (0,5 M, 2,6 ml, 13,4 mmol). La mezcla resultante se agita durante 1 h a 0 °C y a continuación se

inactiva gota a gota lentamente con metanol (5 ml). El disolvente se retira a continuación a presión reducida para obtener un residuo que se sometió a cromatografía (gel de sílice; acetona/cloruro de metileno, 30/70) para obtener el compuesto del título. RMN (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  6,67, 6,40, 6,29, 4,79, 3,91, 3,40, 3,57, 2,36, 2,95, 2,30-2,05, 1,95-1,25, 1,39, 0,88, 0,85; CMR ( $\text{CDCl}_3$ , 100 MHz)  $\delta$  175,40, 146,26, 143,77, 139,74, 137,06, 126,78, 120,11, 114,88, 114,19, 79,67, 63,66, 61,13, 61,05, 60,74, 56,23, 54,68, 45,77, 41,92, 32,15, 31,94, 31,83, 30,30, 26,28, 26,19, 23,38, 21,13, 19,75; HRMS (FAB, m/z)  $[\text{M}+\text{H}]$  calculado para  $\text{C}_{28}\text{H}_{37}\text{N}_3\text{O}_3 + \text{H} = 464,2913$ , medido = 464,2929.

#### **Ejemplo 17 C-2-desoxoparahercuamida A**

A parahercuamida A (0,05 g, 0,1 mmol) en tetrahidrofurano (THF, 6 ml) a 20-25 °C en una atmósfera de nitrógeno se añade gota a gota complejo de alano-N,N-dimetilamina (0,5 M en tolueno, 2 ml, 1 mmol). La mezcla de reacción resultante se agita durante 0,5 h y a continuación se inactiva con metanol (1 ml). La mezcla se concentra a presión reducida para obtener un residuo que se purifica por cromatografía (gel de sílice; acetona/cloruro de metileno (30/70)) para obtener el compuesto del título. RMN (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) 6,69, 6,30, 4,80, 3,94, 3,51, 3,39, 3,19, 2,92, 2,53, 2,38-2,12, 2,08, 1,95-1,74, 1,65, 1,43, 0,92 y 0,89  $\delta$ ; HRMS (FAB, M/Z  $[\text{M}+\text{H}]$ ) calculado para  $\text{C}_{28}\text{H}_{37}\text{N}_3\text{O}_4 + \text{H} = 480,2862$ , medido = 480,2869.

#### **Ejemplo 18 Solo como referencia N(1)-Fenoxicarbonilmarcfortina A (XXVII)**

Se agitan marcfortina A (XXVI, 2,4 g, 5,0 mmol) en THF (120 ml) e hidruro potásico (35 % en peso, 0,7 g, 6,2 mmol) durante 1 h a 20-25 °C. Se añade a esta mezcla cloroformiato de fenilo (1,2 ml, 9,6 mmol). La mezcla se agita durante 0,5 h, se inactiva con solución de carbonato potásico (10 %, 50 ml) y se extrae con acetato de etilo (150 ml). La fase orgánica se seca sobre sulfato de magnesio, se filtra, y se concentra. El residuo se tritura con éter/hexano y el precipitado se filtra, se recoge y se seca para obtener el compuesto del título en forma de un sólido. RMN (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) 0,89, 1,08, 1,2-3,0, 1,45, 1,49, 3,06, 3,69, 4,83, 6,26, 6,89 y 7,2-7,5  $\delta$ ; HRMS (FAB, m/z)  $[\text{M}+\text{H}]$  calculado para  $\text{C}_{35}\text{H}_{39}\text{N}_3\text{O}_6 + \text{H}^+ = 598,2917$ , medido = 598,2919.

#### **Ejemplo 19 Solo como referencia N(1)-terc-Butoxicarbonilmarcfortina A (XXVII)**

Se agitan marcfortina A (XXVI) en THF/cloruro de metileno (50 ml/50 ml) e hidruro potásico (35 % en peso, 0,62 g, 5,5 mmol) durante 1 h a 20-25 °C. Se añade a esta mezcla dicarbonato de di-terc-butilo (3,4 g, 15,6 mmol). La mezcla se agita durante 0,5 h, se inactiva con solución de carbonato potásico (10 %, 50 ml) y se extrae con acetato de etilo (150 ml). La fase orgánica se separa y se seca sobre sulfato de magnesio, se filtra, y se concentra. El concentrado se tritura con éter/hexano y el precipitado se filtra, se recoge y se seca para obtener el compuesto del título. RMN (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) 0,83, 1,05, 1,2-3,0, 1,46, 1,53, 1,59, 3,12, 3,67, 4,85, 6,28 y 6,82  $\delta$ ; HRMS (FAB, m/z)  $[\text{M}+\text{H}]$  calculado para  $\text{C}_{35}\text{H}_{43}\text{N}_3\text{O}_6\text{C} + \text{H}^+ = 578,3230$ , medido = 578,3230.

#### **Ejemplo 20 Solo como referencia N(1)-4'-Nitrofenoxicarbonilmarcfortina A (XXVII)**

Siguiendo el procedimiento general de los Ejemplos 18 y 19 y realizando variaciones no críticas excepto por el uso de cloroformiato de 4-nitrofenilo (423 mg, 2,1 mmol), se obtiene el compuesto del título. RMN (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) 0,89, 1,08, 1,2-3,0, 1,45, 1,49, 3,06, 3,69, 4,83, 6,26, 6,92, 7,50 y 8,33  $\delta$ ; HRMS (FAB, m/z)  $[\text{M}+\text{H}]$  calculado para  $\text{C}_{35}\text{H}_{38}\text{N}_4\text{O}_8 + \text{H}^+ = 643,2767$ , medido = 643,2766.

#### **Ejemplo 21 Solo como referencia N(1)-9'-Fluorenilmetiloxicarbonilmarcfortina A (XXVII)**

Siguiendo el procedimiento general de los Ejemplos 18-20 y realizando variaciones no críticas excepto por el uso de cloroformiato de 9-fluorenilmetilo (1,6 g, 6 mmol), se obtiene el compuesto del título. RMN seleccionado (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) 7,78, 7,66, 7,42, 6,89, 6,20, 4,82, 4,70-4,60, 4,39, 3,16, 2,85, 1,45 y 1,43  $\delta$ ; MS (FAB, m/z)  $[\text{M}+\text{H}] = 700$ .

#### **Ejemplo 22 Solo como referencia N(1)-terc-Butoxicarbonilparahercuamida A (XXVII)**

Se agitan parahercuamida A (XXV, 70 mg, 0,14 mmol) en THF (10 ml) e hidruro potásico (35 % en peso, 0,062 g, 0,55 mmol) durante 2 h a 20-25 °C. Se añade a esta mezcla dicarbonato de di-terc-butilo (86 mg, 0,42 mmol). La mezcla se agita durante 0,5 h, se inactiva con solución al 10 % de carbonato potásico (50 ml), y se extrae con acetato de etilo (150 ml). La fase orgánica se seca sobre sulfato de magnesio, se filtra y se concentra. El concentrado se purifica por cromatografía en capa fina preparativa (metanol/cloruro de metileno, 5/95) para obtener el compuesto del título. RMN (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) 0,89, 1,02, 1,42, 1,46, 1,59, 1,63, 1,2-3,3, 3,06, 3,69, 4,83, 6,26 y 6,80  $\delta$ .

#### **Ejemplo 23 Solo como referencia N(1)-4'-Nitrofenoxicarbonilparahercuamida A (XXVII)**

Siguiendo el procedimiento general del Ejemplo 22 y realizando variaciones no críticas excepto por el uso de cloroformiato de 4-nitrofenilo (814 mg, 4,2 mmol), se obtiene el compuesto del título. RMN (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) 0,85, 0,94, 1,2-3,9, 1,40, 1,47, 3,02, 4,79, 5,85, 6,18, 6,88, 7,35 y 8,29  $\delta$ ; HRMS (FAB, m/z)  $[\text{M}+\text{H}]$  calculado para  $\text{C}_{35}\text{H}_{38}\text{N}_4\text{O}_9 + \text{H}^+ = 659,2717$ , medido = 659,2732.

**Ejemplo 24 Solo como referencia N(1)-4'-Nitrofenoxicarbonil-14 $\alpha$ -hidroxi-14 $\beta$ -metilmarcfortina A (XXVII)**

5 Se agitan 14 $\alpha$ -hidroxi-14 $\beta$ -metilmarcfortina A (XXVI, n = 2, R<sub>14</sub> = Me, R<sub>15</sub> = H, R<sub>16</sub> = OH, 0,188 g, 0,37 mmol) en THF (30 ml) e hidruro sódico (60 % en peso, 0,075 g, 1,875 mmol) durante 2 h a 20-25 °C. Se añade a esta mezcla cloroforniato de 4-nitrofenilo (150 mg, 0,74 mmol). La mezcla se agita durante 0,5 h, se inactiva con solución tampón de pH 7 (15 ml) y se extrae con acetato de etilo (50 ml). La fase orgánica se separa y se seca sobre sulfato de magnesio, se filtra y se concentra para obtener el compuesto del título. RMN (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) 0,92, 1,07, 1,2-3,0, 1,44, 1,47, 1,48, 3,13, 3,67, 4,87, 6,25, 6,92, 7,50 y 8,35  $\delta$ ; HRMS (FAB, m/z) [M+H] calculado para C<sub>36</sub>H<sub>42</sub>N<sub>4</sub>O<sub>9</sub> + H<sup>+</sup> = 673,2873, medido = 673,2866.

10 **Ejemplo 25 Solo como referencia N(1)-4'-Nitrofenoxicarbonil-14 $\alpha$ -hidroxi-15 $\alpha$ -metilmarcfortina A (XXVII)**

15 Siguiendo los procedimientos generales de los Ejemplos 18-24 y realizando variaciones no críticas excepto por el uso de 14 $\alpha$ -hidroxi-15 $\alpha$ -metilmarcfortina A (XXVI, n = 2, R<sub>14</sub> = H, R<sub>15</sub> = Me, R<sub>16</sub> = OH, 1,98 g, 3,9 mmol) y cloroforniato de 4-nitrofenilo (150 mg, 0,74 mmol), se obtiene el compuesto del título. RMN (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) 0,92, 1,02, 1,09, 1,2-3,0, 1,44, 1,47, 3,14, 3,68, 3,95, 4,87, 6,24, 6,92, 7,50 y 8,34  $\delta$ ; HRMS (FAB, m/z) [M+H] calculado para C<sub>36</sub>H<sub>40</sub>N<sub>4</sub>O<sub>9</sub> + H<sup>+</sup> = 673,2873, medido = 673,2866.

**Ejemplo 26 Solo como referencia N(1)-Fenoxicarbonil-2 $\alpha$ -hidroxi-2-desoxomarcfortina A (XXVIII)**

20 Se disuelve N(1)-fenoxicarbonilmarcfortina A (Ejemplo 18, 2,4 g, 4,0 mmol) en metanol (100 ml) y se trata con borohidruro sódico (540 mg) a 0 °C durante 15 min. La mezcla de reacción se inactiva con carbonato potásico (10 %, 100 ml). El precipitado resultante se seca para obtener el compuesto del título. RMN (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) 0,85, 0,92, 1,3-2,7, 1,37, 1,48, 3,06, 3,18, 3,43, 3,61, 4,75, 5,87, 6,28, 6,84 y 7,2-7,5  $\delta$ ; HRMS (FAB, m/z) [M+H] calculado para C<sub>35</sub>H<sub>41</sub>N<sub>3</sub>O<sub>6</sub> + H<sup>+</sup> = 600,3073, medido = 600,3080.

**Ejemplo 27 Solo como referencia N(1)-4'-Nitrofenoxicarbonil-2 $\alpha$ -hidroxi-2-desoxomarcfortina A (XXVIII)**

25 Siguiendo el procedimiento general del Ejemplo 26 y usando N(1)-4'-Nitrofenoxicarbonilmarcfortina A (Ejemplo 20, 0,5 g, 0,78 mmol), se obtiene el compuesto del título. RMN (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) 0,82, 0,89, 1,3-2,7, 1,39, 1,47, 3,06, 3,18, 3,59, 4,78, 5,85, 6,20, 6,84, 7,36 y 8,28  $\delta$ ; HRMS (FAB, m/z) [M+H] calculado para C<sub>35</sub>H<sub>40</sub>N<sub>4</sub>O<sub>8</sub> + H<sup>+</sup> = 645,2924, medido = 649,2925.

30 **Ejemplo 28 Solo como referencia N(1)-9'-Fluorenilmetiloxicarbonil-2 $\alpha$ -hidroxi-2-desoxomarcfortina A (XXVIII)**

Siguiendo el procedimiento general del Ejemplo 26 y realizando variaciones no críticas excepto por el uso de N(1)-9'-fluorenilmetiloxicarbonilmarcfortina A (Ejemplo 21, 30 mg, 0,043 mmol), se obtiene el compuesto del título. RMN seleccionado (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) 7,88-7,20, 6,72, 6,64, 6,38, 4,76, 4,28, 3,01, 2,85 y 2,60  $\delta$ .

35 **Ejemplo 29 Solo como referencia N(1)-4'-Nitrofenoxicarbonil-2 $\alpha$ -hidroxi-2-desoxoparahercuamida A (XXVIII)**

Siguiendo el procedimiento general del Ejemplo 26 y realizando variaciones no críticas excepto por el uso de N(1)-4'-Nitrofenoxicarbonilparahercuamida A (Ejemplo 23, 1,0 g, 1,52 mmol) se obtiene el compuesto del título. RMN (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) 0,85, 0,93, 1,3-2,7, 1,40, 1,47, 1,63, 3,02, 3,2-3,6, 4,79, 5,85, 6,18, 6,88, 7,35 y 8,28  $\delta$ ; HRMS (FAB, m/z) [M+H] calculado para C<sub>35</sub>H<sub>40</sub>N<sub>4</sub>O<sub>9</sub> + H<sup>+</sup> = 661,2873, medido = 661,2877.

40 **Ejemplo 30 Solo como referencia N(1)-4'-Nitrofenoxicarbonil-14 $\alpha$ -hidroxi-14 $\beta$ -metil-2 $\alpha$ -hidroxi-2-desoxomarcfortina A (XXVIII)**

45 Siguiendo el procedimiento general del Ejemplo 26 y realizando variaciones no críticas excepto por el uso de N(1)-4'-Nitrofenoxicarbonil-14 $\alpha$ -hidroxi-14 $\beta$ -metilmarcfortina A (Ejemplo 24, 180 mg, 0,27 mmol), se obtiene el compuesto del título. RMN (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) 0,85, 0,91, 1,3-2,7, 1,40, 1,45, 1,48, 3,09, 3,1-3,7, 4,79, 5,88, 6,21, 6,87, 7,36 y 8,29  $\delta$ ; HRMS (FAB, m/z) [M+H] calculado para C<sub>36</sub>H<sub>42</sub>N<sub>4</sub>O<sub>9</sub> + H<sup>+</sup> = 675,3030, medido = 675,3031.

**Ejemplo 31 Solo como referencia N(1)-4'-Nitrofenoxicarbonil-14 $\alpha$ -hidroxi-15 $\alpha$ -metil-2 $\alpha$ -hidroxi-2-desoxomarcfortina A (XXVIII)**

50 Siguiendo el procedimiento general del Ejemplo 26 y realizando variaciones no críticas excepto por el uso de N(1)-4'-Nitrofenoxicarbonil-14 $\alpha$ -hidroxi-15 $\alpha$ -metilmarcfortina A (Ejemplo 25, 2 g, 2,97 mmol), se obtiene el compuesto del título. RMN (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) 0,85, 0,92, 1,01, 1,3-2,7, 1,39, 1,48, 3,05, 3,1-3,7, 4,79, 5,86, 6,19, 6,87, 7,36 y 8,29  $\delta$ ; HRMS (FAB M/Z) [M+H] calculado para C<sub>36</sub>H<sub>42</sub>N<sub>4</sub>O<sub>9</sub> + H<sup>+</sup> = 675,3030; medido = 675,3036.

**Ejemplo 32 Solo como referencia 1,2-Deshidromarcfortina A (XXIX)**

Procedimiento A.

5 Se disuelve N(1)-Fenoxicarbonil-2 $\alpha$ -hidroxi-2-desoxomarcfortina A (XXVIII, Ejemplo 26, 1 g, 1,67 mmol) en glime (15 ml) y se trata con hidróxido sódico (1 N, 20 ml). La mezcla se calienta a reflujo durante 1-2 h. Después de enfriar la mezcla a 20-25 °C, se añade carbonato potásico (10 %, 60 ml). El precipitado resultante se recoge y se seca para obtener el compuesto del título. RMN (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) 0,67, 1,25, 1,3-2,7, 1,44, 1,47, 3,04, 3,70, 4,91, 6,48, 6,95 y 8,18  $\delta$ ; HRMS (FAB M/Z) [M+H] calculado para C<sub>28</sub>H<sub>35</sub>N<sub>3</sub>O<sub>3</sub> + H<sup>+</sup> = 462,2756, medido = 462,2762.

Procedimiento B.

10 Se disuelve N(1)-4'-Nitrofenoxicarbonil-2 $\alpha$ -hidroxi-2-desoxomarcfortina A (XXVIII, Ejemplo 27, 50 mg, 0,08 mmol) en glime (1 ml), y se trata con hidróxido sódico (1 N, 1 ml). La mezcla se agita durante 1 h a 20-25 °C. Después de añadir carbonato potásico (10 %, 5 ml) a la mezcla, esta se extrae con acetato de etilo (20 ml). La fase orgánica se separa y se seca sobre sulfato de magnesio y se concentra para obtener el compuesto del título.

Procedimiento C.

15 A N(1)-9'-fluorenilmetiloxicarbonil-2 $\alpha$ -hidroxi-2-desoxomarcfortina A (XXVIII, Ejemplo 28, 30 mg, 0,043 mmol) en DMF (3 ml) a 20-25 °C se añade gota a gota fluoruro de tetrabutilamonio (1,0 M en THF, 0,04 ml, 0,04 mmol). Después de 10 min de agitación, la mezcla de reacción se inactiva con carbonato potásico (10 %, 30 ml) y se extrae con acetato de etilo (30 ml). El extracto orgánico se seca sobre sulfato de magnesio, se filtra y se concentra para obtener un residuo que se cromatografía (gel de sílice; metanol/cloruro de metileno, 5/95) para obtener el compuesto del título.

**20 Ejemplo 33 1,2-Deshidroparahercuamida A (XXIX)**

25 Siguiendo los procedimientos generales del Ejemplo 32, procedimientos A y B y realizando variaciones no críticas excepto por el uso de N(1)-4'-nitrofenoxicarbonil-2 $\alpha$ -hidroxi-2-desoxoparahercuamida A (XXVII I, Ejemplo 29, 880 mg, 1,33 mmol), se obtiene el compuesto del título. RMN (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) 0,69, 1,22, 1,3-2,7, 1,43, 1,45, 1,66, 2,97, 3,22, 3,62, 4,90, 6,29, 6,94 y 8,13  $\delta$ ; HRMS (FAB M/Z) [M+H] calculado para C<sub>28</sub>H<sub>35</sub>N<sub>3</sub>O<sub>4</sub> + H<sup>+</sup> = 478,2705, medido = 478,2717.

**Ejemplo 34 Solo como referencia 1,2-Deshidro-14 $\alpha$ -hidroxi-14 $\beta$ -metilmarcfortina A (XXIX)**

30 Siguiendo los procedimientos generales del Ejemplo 32, procedimientos A y B y realizando variaciones no críticas excepto por el uso de N(1)-4'-Nitrofenoxicarbonil-14 $\alpha$ -hidroxi-15 $\alpha$ -metil-2 $\alpha$ -hidroxi-2-desoxomarcfortina A (XXVIII, Ejemplo 31, 150 mg, 0,22 mmol) se obtiene el compuesto del título. RMN (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) 0,68, 1,21, 1,3-2,7, 1,44, 1,46, 1,47, 3,05, 3,65, 4,91, 6,46, 6,93, y 8,19  $\delta$ .

**Ejemplo 35 Solo como referencia 1,2-Deshidro-14 $\alpha$ -hidroxi-15 $\alpha$ -metilmarcfortina A (XXIX)**

35 Siguiendo los procedimientos generales del Ejemplo 32, procedimientos A y B y realizando variaciones no críticas excepto por el uso de N(1)-4'-nitrofenoxicarbonil-14 $\alpha$ -hidroxi-15 $\alpha$ -metil-2 $\alpha$ -hidroxi-2-desoxomarcfortina A (XXVIII, Ejemplo 31, 2 g, 2,96 mmol), se obtiene el compuesto del título. RMN (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) 0,69, 1,04, 1,24, 1,3-2,7, 1,45, 1,47, 3,02, 3,69, 3,85, 4,92, 6,48, 6,95 y 8,19  $\delta$ .

**Ejemplo 36 Solo como referencia 2-Desoxomarcfortina A (XXIV)**

Procedimiento A.

40 Se disuelve 1,2-Deshidromarcfortina A (XXIV, Ejemplo 32, 220 mg, 0,48 mmol) en metanol (10 ml) y se trata con borohidruro sódico (30 mg) a 0 °C durante 15 min. La mezcla de reacción se inactiva con carbonato potásico (10 %, 20 ml). El precipitado resultante se seca para obtener el compuesto del título. RMN (400 MHz) es igual que para el Ejemplo 16.

Procedimiento B.

45 Se disuelve N(1)-*terc*-Butoxicarbonilmarcfortina A (XXVII, Ejemplo 19, 100 mg, 0,17 mmol) en diglime (5 ml) y se trata con borohidruro sódico (20 mg) a 20-25 °C. La mezcla se calienta a continuación a reflujo durante 0,5 h. Después de enfriar la mezcla a 20-25 °C, se añade carbonato potásico (10 %, 10 ml). El precipitado resultante se seca para obtener el compuesto del título.

**Ejemplo 37      2-Desoxoparahercuamida A (XXX)**

## Procedimiento A.

5 Se disuelve 1,2-Deshidroparahercuamida A (XXIX, Ejemplo 33, 1,5 g, 3,14 mmol) en metanol (30 ml) y se trata con borohidruro sódico (250 mg) a 0 °C durante 15 min. La mezcla de reacción se inactiva con carbonato potásico (10 %, 60 ml) y se extrae con acetato de etilo (100 ml). El extracto orgánico se seca sobre sulfato de magnesio, se filtra y se concentra para obtener un residuo que se cromatografía (gel de sílice; metanol/cloruro de metileno, 5/95) para obtener el compuesto del título. RMN (400 MHz) es igual que para el Ejemplo 17.

## Procedimiento B.

10 Se disuelve N(1)-*terc*-Butoxicarbonilparahercuamida A (XXVII, Ejemplo 22, 30 mg, 0,05 mmol) en glime (2 ml) y se trata con borohidruro sódico (20 mg) a 20-25 °C. La mezcla se calienta a continuación a reflujo durante 4 h. Después de enfriar la mezcla a 20-25 °C, se añade carbonato potásico (10 %, 5 ml), y se extrae con acetato de etilo (10 ml). La fase orgánica se seca sobre sulfato de magnesio, se filtra y se concentra para obtener un residuo que se cromatografía (gel de sílice; metanol/cloruro de metileno, 5/95) para obtener el compuesto del título.

## Procedimiento C.

15 A parahercuamida A (XXVI, 1 g, 2 mmol) en THF (destilado a partir de benzofenona y potasio metálico, 40 ml) en una atmósfera de nitrógeno se añade hidruro sódico (al 60 % en aceite, 0,24 g, 6 mmol) en una porción. La mezcla de reacción resultante se agita durante 0,75 h a 20-25 °C, se enfría a 0 °C y se trata con cloroformiato de 9-fluorenilmetilo (0,8 g, 3 mmol) en una porción. La reacción se interrumpe 5 minutos después con una solución de tampón fosfato (pH = 7, adquirida en EM Science, 40 ml) se diluye con agua (40 ml) y se extrae con acetato de etilo (2 x 50 ml). Los extractos orgánicos combinados se secan sobre sulfato de magnesio, se filtran y se concentran a presión reducida para obtener N(1)-9'-fluorenilmetiloxicarbonilparahercuamida A en bruto (XXVII, 1,4 g, 2 mmol) que se disuelve en metanol, se enfría a 0 °C y se trata con borohidruro sódico (0,3 g, 7,9 mmol) en una porción. La reacción se interrumpe 10 minutos después con bicarbonato sódico (saturado, 100 ml) y se extrae con acetato de etilo (2 x 50 ml). Los extractos orgánicos combinados se secan sobre sulfato de magnesio, se filtran y se concentran a presión reducida para obtener N(1)-9'-fluorenilmetiloxicarbonil-2 $\alpha$ -hidroxi-2-desoxoparahercuamida A en bruto (XXVIII, 1,4 g, 2 mmol) que se disuelve en THF (50 ml) a 20-25 °C y se trata con fluoruro de tetrabutilamonio (1,0 M en THF, 8 ml, 8 mmol). Después de 0,5 h de agitación, la mezcla de reacción se inactiva con agua (50 ml) y se extrae con acetato de etilo (2 x 50 ml). Los extractos orgánicos combinados se secan sobre sulfato de magnesio, se filtran y se concentran a presión reducida para obtener 1,2-deshidroparahercuamida A (XXIX, 0,96 g, 2 mmol). Este compuesto se disuelve en metanol a 0 °C y se trata con borohidruro sódico (0,5 g, 13 mmol) en una porción. La reacción se interrumpe 10 minutos después con bicarbonato sódico (solución acuosa saturada, 100 ml) y se extrae con acetato de etilo (2 x 50 ml). Los extractos orgánicos combinados se secan sobre sulfato de magnesio, se filtran, se concentran a presión reducida y se cromatografían (gel de sílice; acetona/cloruro de metileno, 30/70) para obtener el compuesto del título.

35

GRÁFICO A

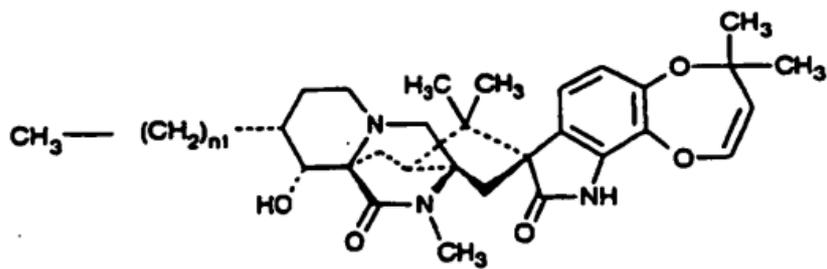
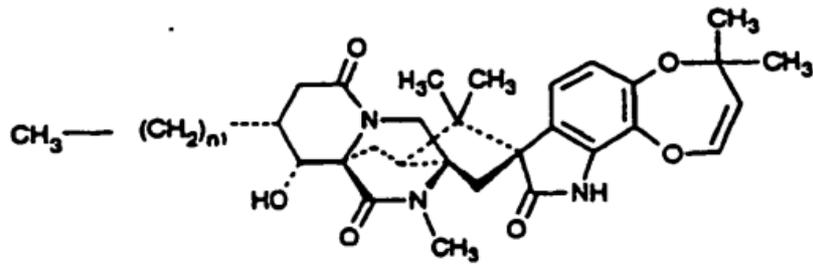
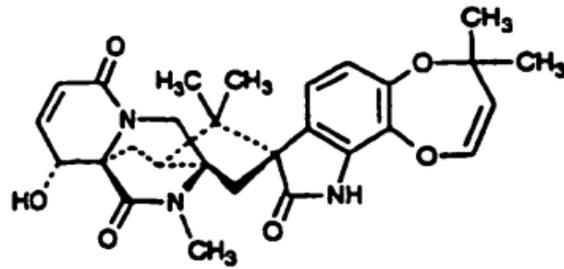


GRÁFICO D

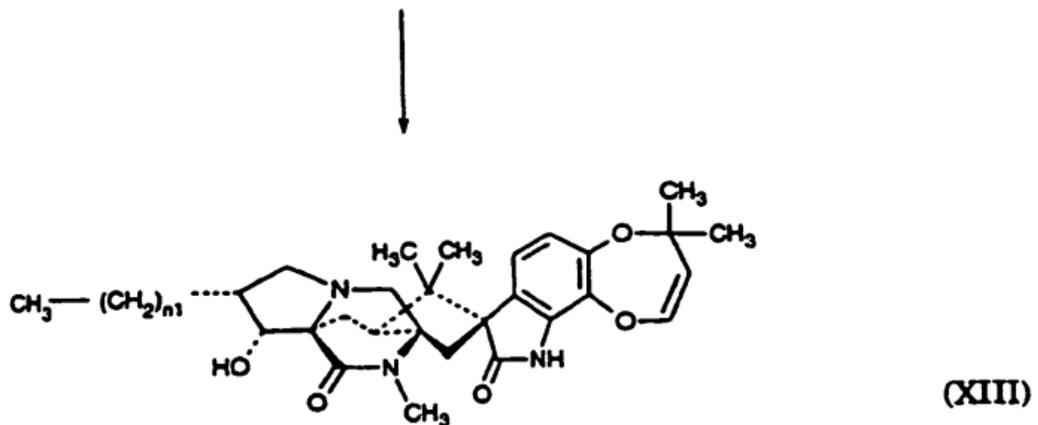
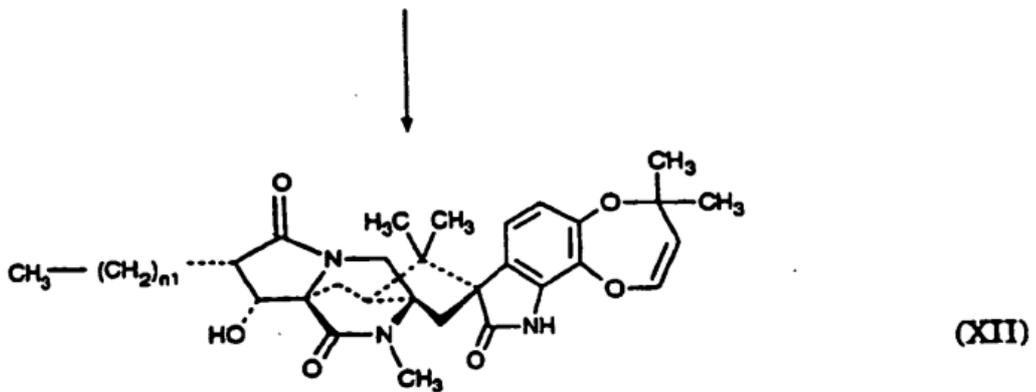
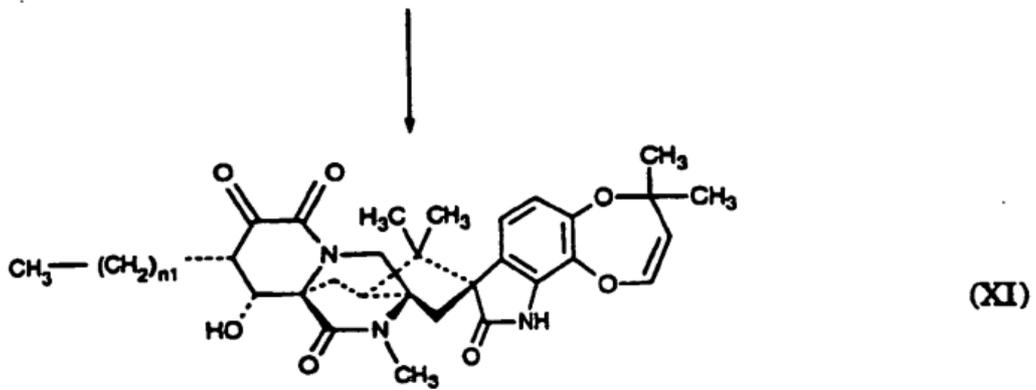
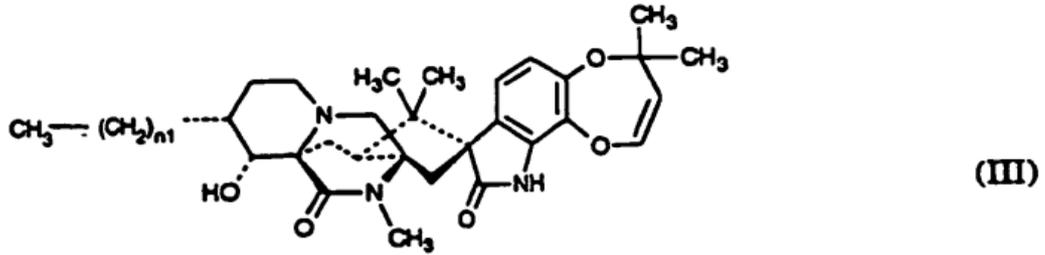
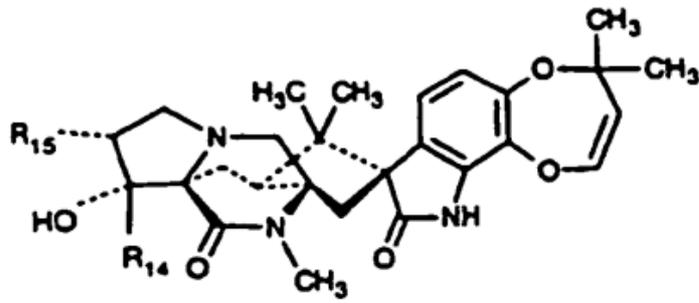
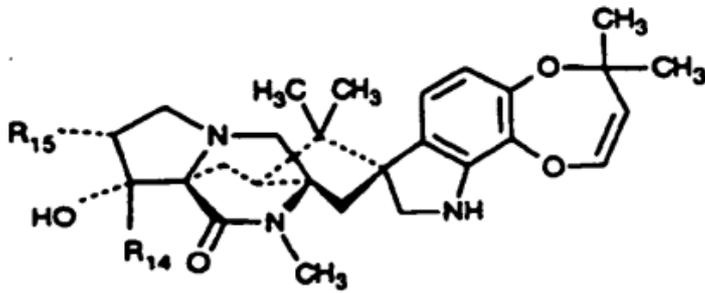


GRÁFICO H



(XXIV)



(XXV)

**GRÁFICO I**

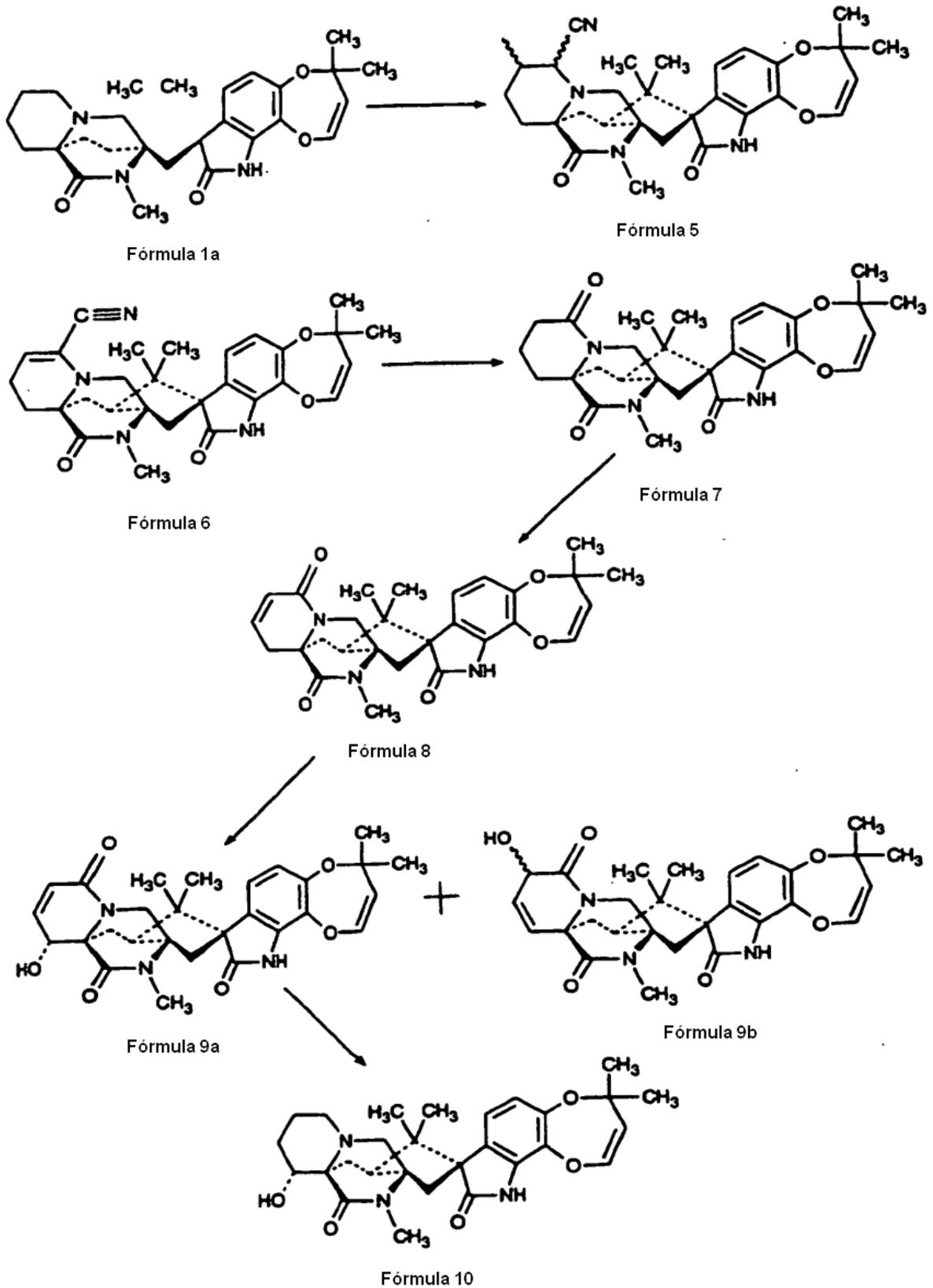


GRÁFICO J

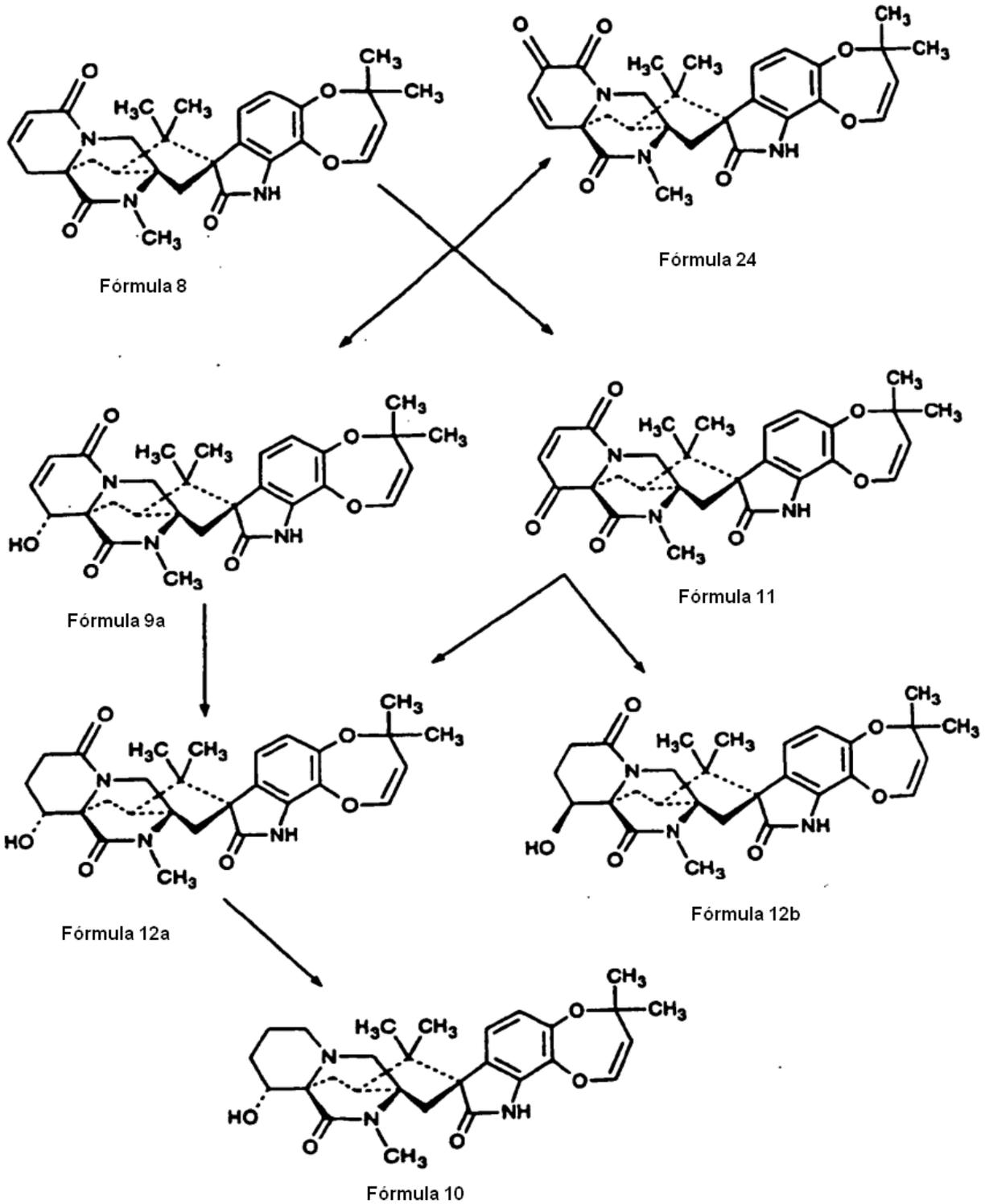


GRÁFICO K

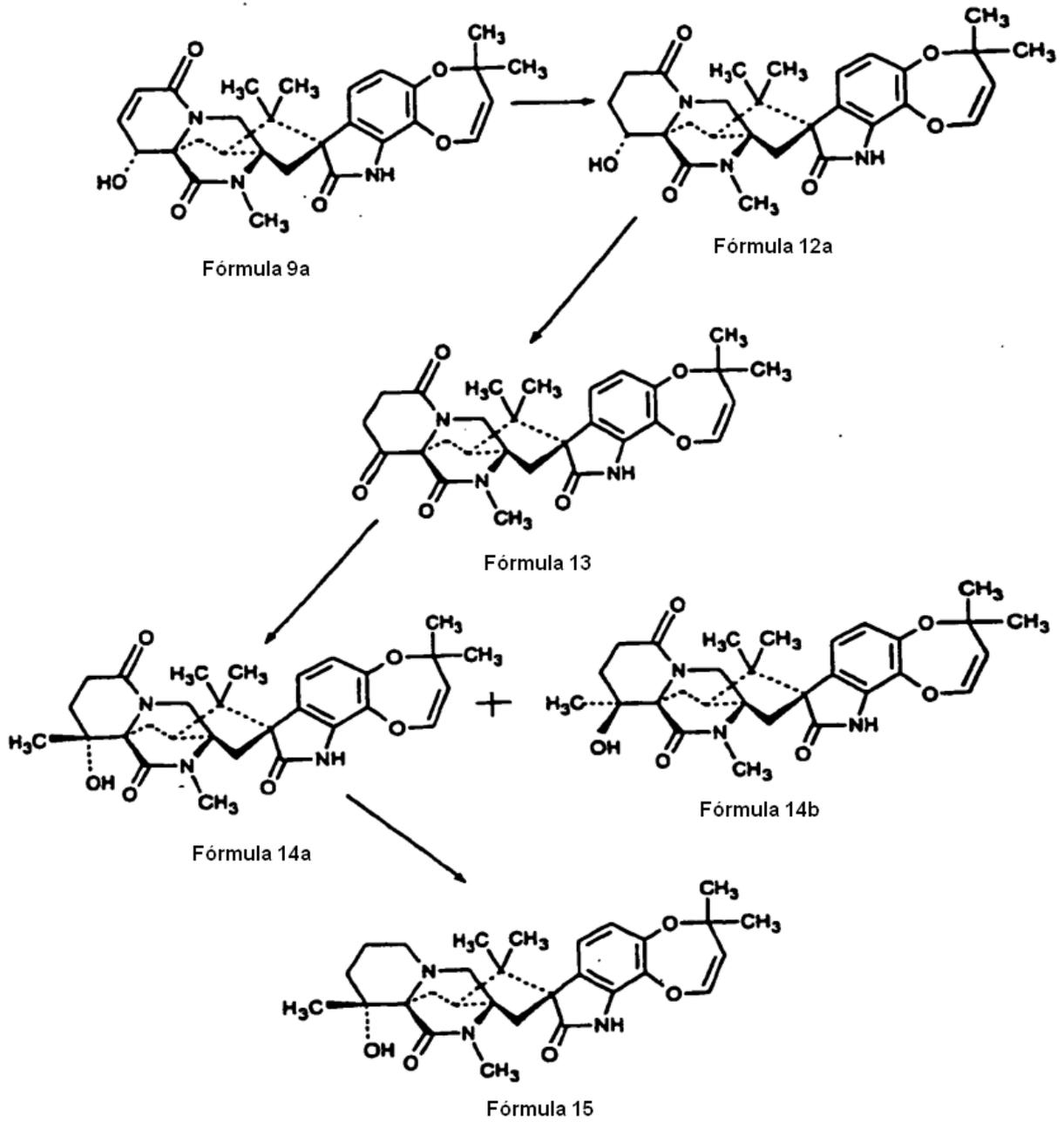
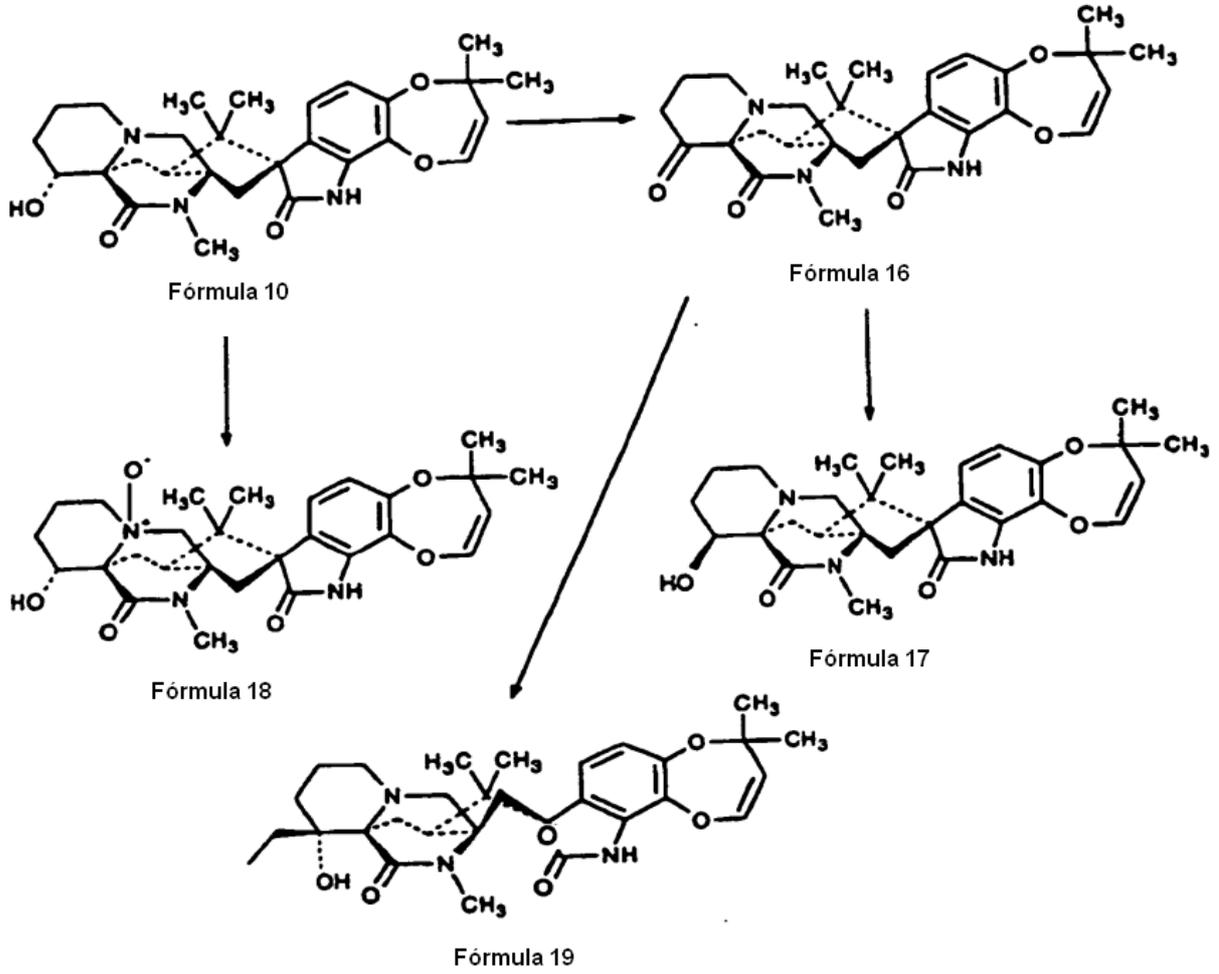


GRÁFICO L



**GRÁFICO M**

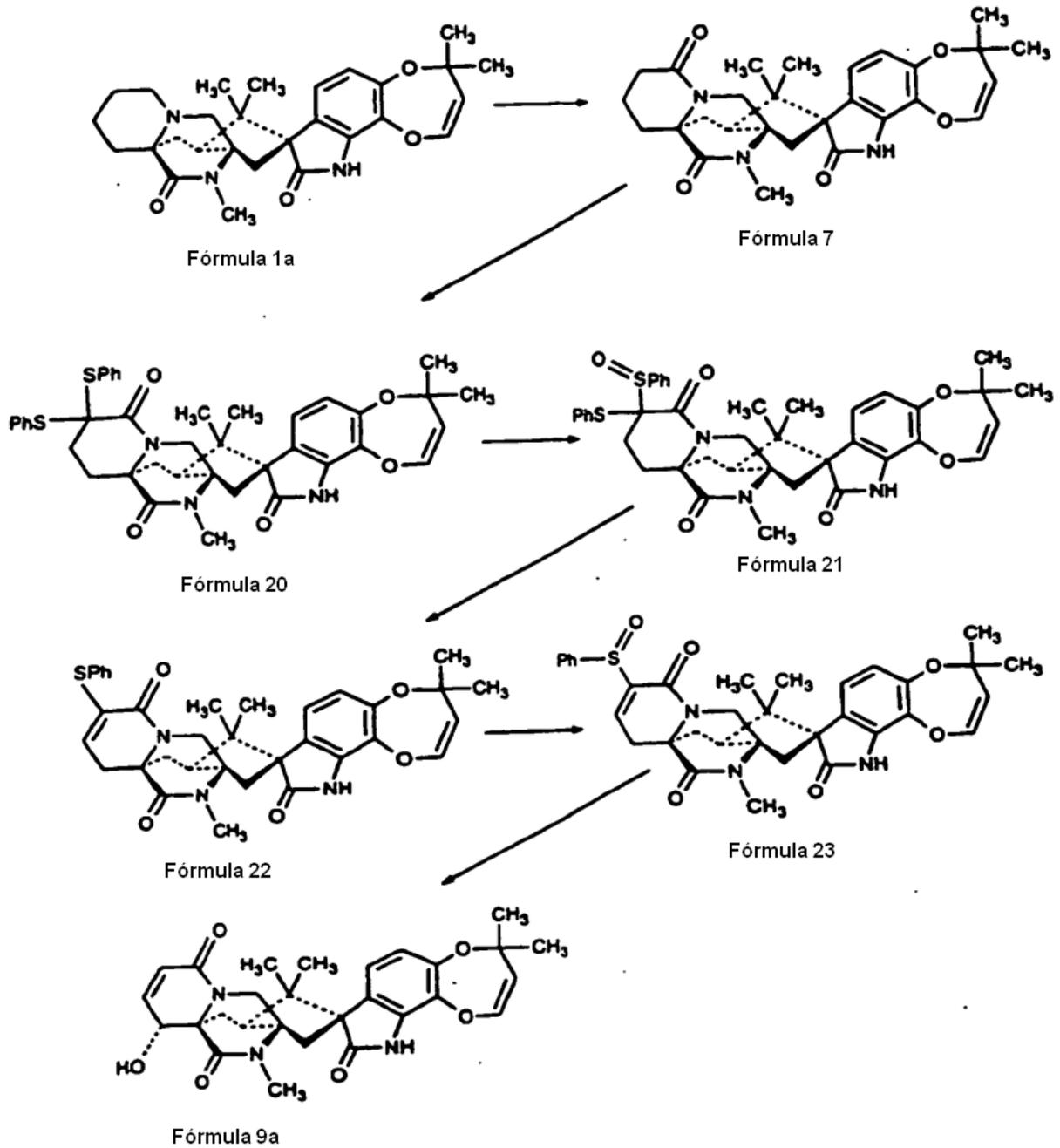


GRÁFICO N

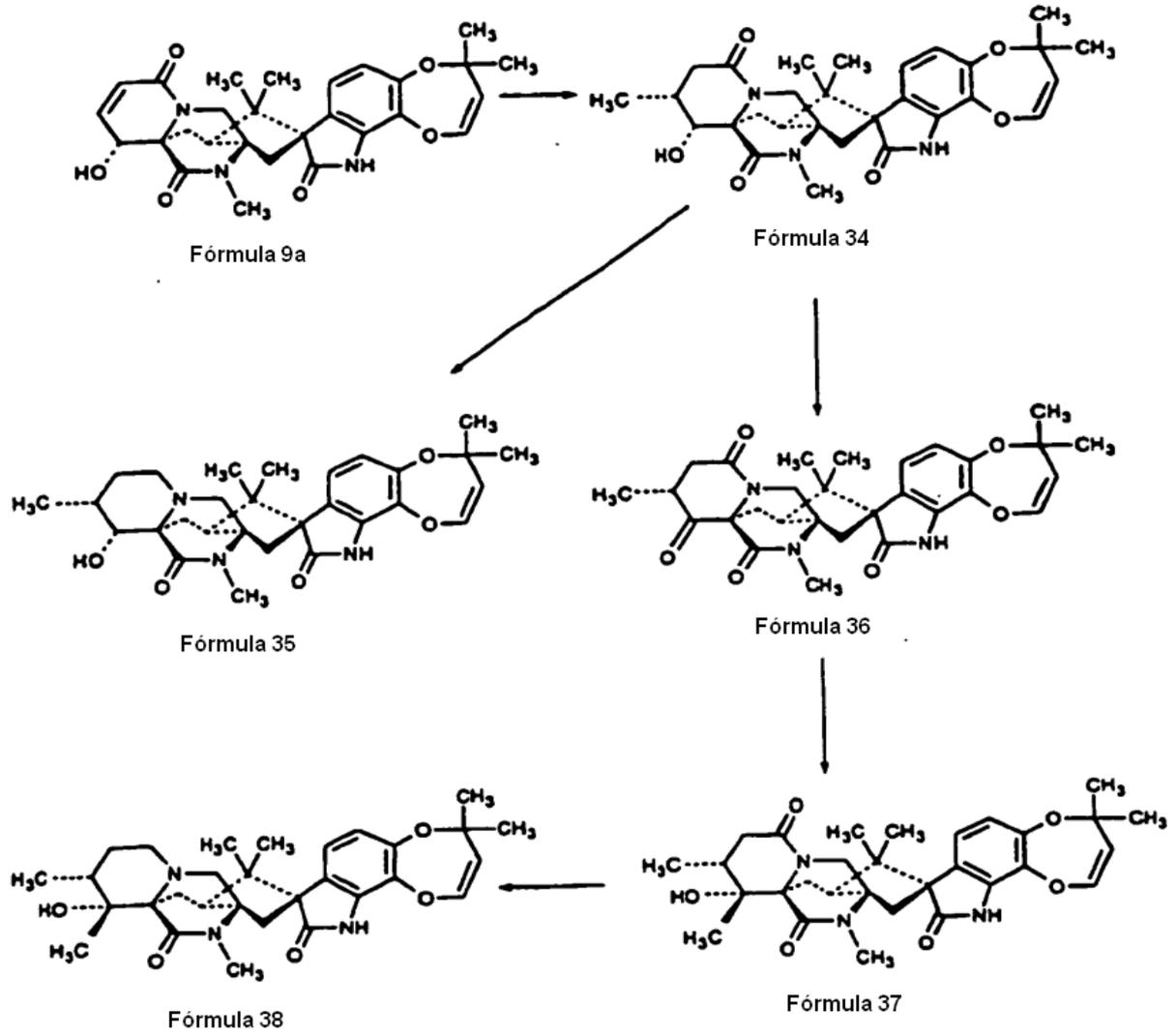
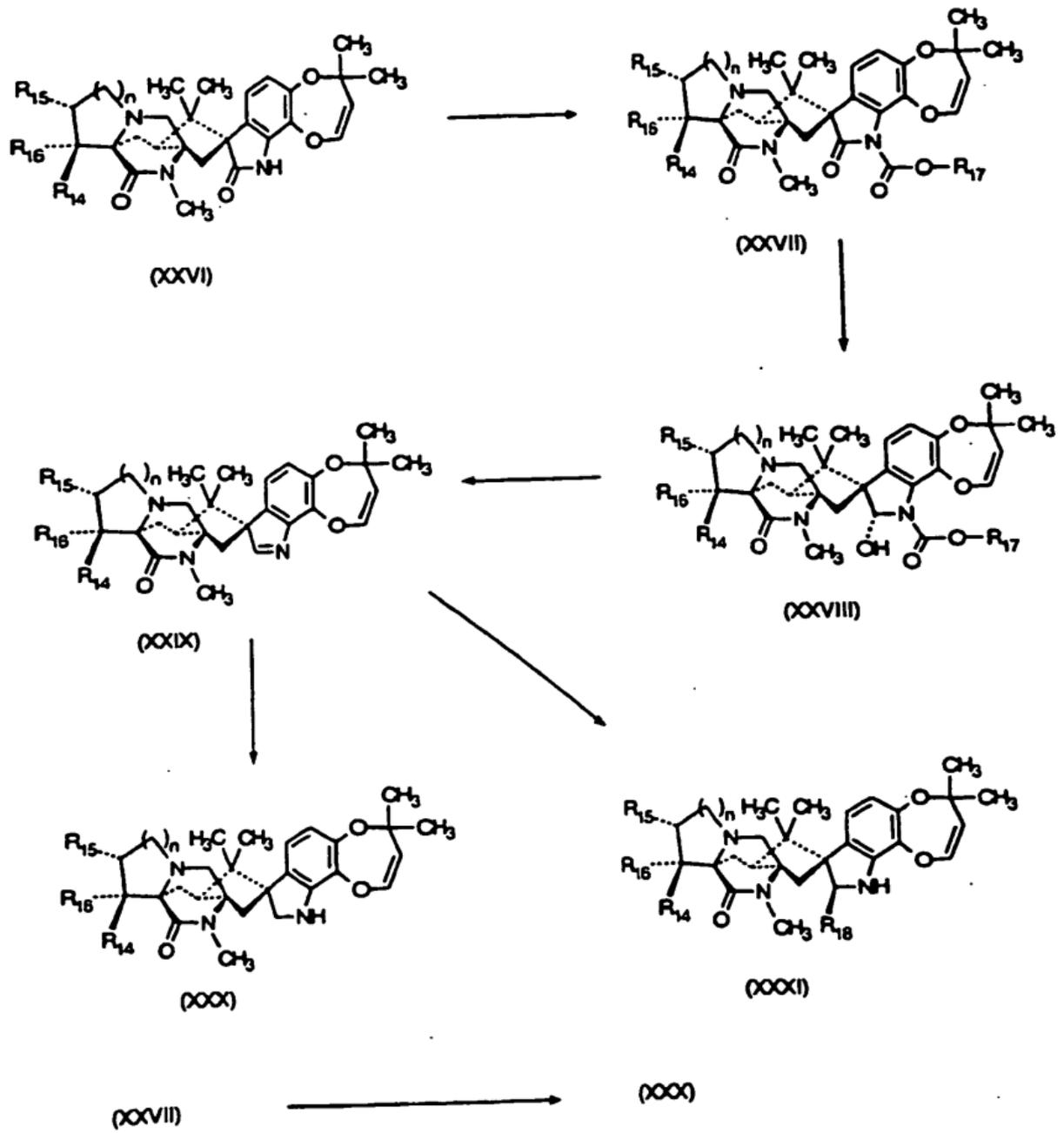
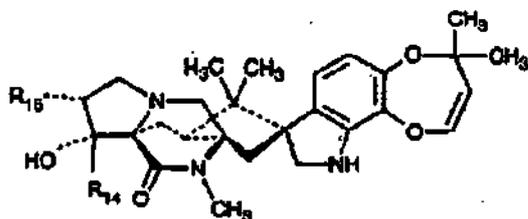


GRÁFICO O



## REIVINDICACIONES

1. Compuesto de fórmula (XXV)



(XXV)

en la que

5  $R_{14}$  es hidrógeno o alquilo  $C_{1-4}$ ; y

$R_{15}$  es hidrógeno o alquilo  $C_{1-4}$ ;

o un N-óxido o sal farmacéuticamente aceptables del mismo.

2. Compuesto de acuerdo con la reivindicación 1, en el que la sal farmacéuticamente aceptable es una sal de ácido metanosulfónico, ácido clorhídrico, ácido bromhídrico, ácido sulfúrico, ácido fosfórico, ácido nítrico, ácido benzoico, ácido cítrico, ácido tartárico, ácido fumárico, ácido maleico,  $CH_3-(CH_2)_{0-4}-COOH$  o  $HOOC-(CH_2)_{0-4}-COOH$ .

10

3. Compuesto de acuerdo con la reivindicación 1 que es 2-desoxoparahercuamida A.