

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 483 265**

51 Int. Cl.:

C07H 15/24	(2006.01) C12P 19/44	(2006.01)
A61K 31/704	(2006.01) C12P 19/46	(2006.01)
C12N 1/21	(2006.01)	
C12N 15/76	(2006.01)	
C12N 9/10	(2006.01)	
A61P 35/00	(2006.01)	
A61P 19/08	(2006.01)	
A61P 19/00	(2006.01)	
A61P 25/00	(2006.01)	
C12R 1/465	(2006.01)	

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **04.02.2008 E 08718462 (8)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **23.04.2014 EP 2151448**

54 Título: **Derivados glicosilados de mitramicina, su procedimiento de obtención y sus usos**

30 Prioridad:

06.02.2007 ES 200700378

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

06.08.2014

73 Titular/es:

**UNIVERSITY OF KENTUCKY RESEARCH
FOUNDATION (50.0%)
144 ATECC BUILDING
LEXINGTON, KY 40506-0286, US y
UNIVERSIDAD DE OVIEDO (50.0%)**

72 Inventor/es:

**ROHR, JÜRGEN;
BAIG, IRFAN;
SALAS FERNÁNDEZ, JOSÉ ANTONIO;
FERNÁNDEZ BRAÑA, ALFREDO;
MÉNDEZ FERNÁNDEZ, CARMEN y
PÉREZ SOLARES, MARÍA**

74 Agente/Representante:

ILLESCAS TABOADA, Manuel

ES 2 483 265 T3

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

DESCRIPCIÓN

Derivados glicosilados de mitramicina, su procedimiento de obtención y sus usos

- 5 La presente divulgación se adscribe al campo farmacéutico y en concreto se refiere a compuestos con aplicación en oncología, con estructura química derivada de mitramicina y que se obtienen por fermentación de microorganismos.

ESTADO DE LA TÉCNICA

- 10 La mitramicina (MTM) es un fármaco antitumoral producido por microorganismos del género *Streptomyces*, incluyendo *Streptomyces argillaceus* ATCC 12956. Este fármaco es el representante más importante del grupo del ácido aureólico, y es empleado para el tratamiento del carcinoma testicular, la enfermedad de Paget y la hipercalcemia causada por lesiones óseas asociadas al cáncer (*Oncology* 1973, 28, 147-163; *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 1993, 195, 1245-1253; *Treat. Endocrinol.* 2002, 1, 241-257; *Treat. Endocrinol.* 2003, 2, 273-292). La MTM es además un agente
- 15 neuroprotector que podría ser útil para el tratamiento de enfermedades neurológicas tales como accidente cerebrovascular, esclerosis lateral amiotrófica, enfermedad de Parkinson, enfermedad de Huntington, esclerosis múltiple y encefalitis vírica (*J. Neurosci.* 2004, 24, 10335-10342; *J. Biol. Chem.* 2006, 281, 16672-16680). Además, la MTM presenta actividad antibiótica (*Antibiot. Chemother.* 1962, 12, 182-186).

- 20 La estructura química de la MTM se muestra en la Fig. 1. El grupo de compuestos del ácido aureólico incluye MTM, cromomicina A₃, olivomicina A, UCH9 y durhamicina (*Appl. Microbiol. Biotechnol.* 2006, 73, 1-14). Todos ellos contienen un núcleo tricíclico de origen policetídeo, con una cadena lateral altamente funcionalizada en el carbono 3. El residuo en el carbono 7 puede ser un átomo de hidrógeno o un alquilo de cadena corta. Asimismo, estos compuestos poseen 4-6 desoxiazúcares unidos en forma de trisacárido o tetrasacárido (en el carbono 2) y monosacárido o disacárido (en el
- 25 carbono 6). Los compuestos del ácido aureólico difieren en la naturaleza y el modo de unión de sus cadenas glucídicas, que contienen diferentes 2,6-didesoxiazúcares. Estas variaciones estructurales son las responsables de las sutiles diferencias que existen entre los miembros del grupo en cuanto a su unión al ADN y su perfil de actividad biológica. Es bien conocido que el patrón de glicosilación de los fármacos antitumorales que actúan uniéndose al ADN, como es el caso de la MTM, tiene gran importancia en su actividad biológica (*Biopolymers* 2000, 54, 104-114). Por ello, la obtención de nuevos derivados de MTM con patrones glicosídicos alterados puede generar fármacos con actividad mejorada.

- El conjunto de genes responsables de la biosíntesis de MTM ha sido ampliamente estudiado (*Appl. Microbiol. Biotechnol.* 2006, 73, 1-14). La biosíntesis de MTM en *Streptomyces argillaceus* incluye la condensación de 10 unidades de acil-coenzima A para generar un intermediario tetracíclico, denominado premitramicinona (Fig. 2). A continuación, 5 unidades de desoxiazúcares son añadidas de forma sucesiva, generándose intermediarios tetracíclicos con 3 azúcares y con 5 azúcares. Las glicosiltransferasas MtmGIII y MtmGIV son responsables de la formación del trisacárido, mientras que las glicosiltransferasas MtmGI y MtmGII catalizan la formación del disacárido. Finalmente, la ruptura de uno de los anillos, seguida de la reducción de un grupo ceto en la cadena lateral, genera la MTM.

- 40 Actualmente existe una gran necesidad de nuevos agentes antitumorales, con actividad mejorada, con menos efectos secundarios indeseables y con mayor selectividad, en comparación con los fármacos actualmente en uso. Tradicionalmente, la industria farmacéutica ha desarrollado nuevos fármacos mediante dos vías fundamentales: (1) búsqueda de nuevos productos naturales, y (2) síntesis y/o modificación química de determinados compuestos. Estos métodos siguen siendo útiles, pero suelen requerir inversiones muy importantes de recursos (tiempo, dinero, energía),
- 45 pues normalmente es necesario analizar miles de productos para encontrar un nuevo compuesto prometedor. El desarrollo de la tecnología del ADN recombinante ha abierto un interesante campo de investigación para la generación de nuevos compuestos bioactivos mediante la manipulación de genes implicados en la biosíntesis de agentes antitumorales, principalmente de bacterias del grupo de los actinomicetos (*Trends Biotechnol.* 2001, 19, 449-456; *J. Mol. Microbiol. Biotechnol.* 2005, 9, 77-85; *Curr. Opin. Drug Discov. Devel.* 2005, 8, 748-756; *J. Ind. Microbiol. Biotechnol.* 2006, 33, 560-568; *Curr. Opin. Microbiol.* 2006, 9, 252-260). Estas técnicas también pueden ser usadas para mejorar la producción de compuestos naturales ya conocidos, pues las cepas naturales suelen producir bajas concentraciones del metabolito de interés.

- 50 MTM, otros ácidos aureólicos y compuestos similares también se divulgan en el *J. of Biol. Chem.*, 2000, 275(5), 3065-3074; *Chem. & Biol.* 2004, 11, 8-10; *Annals of Neurology* 2001, 49(3), 345-354; *Bioorganicheskaya Khimiya* 1991, 17(3) 410-416; y *Chem. of Natural Compounds* 1971, 7(5) 625-628.

- V. Adams et al. 2005 AAPS Annual Meeting and Exposition, noviembre de 2005, divulga cepas de *Streptomyces argillaceus* modificados con plásmidos pLNBIV y pFL845.

60

DESCRIPCIÓN DE LA INVENCION

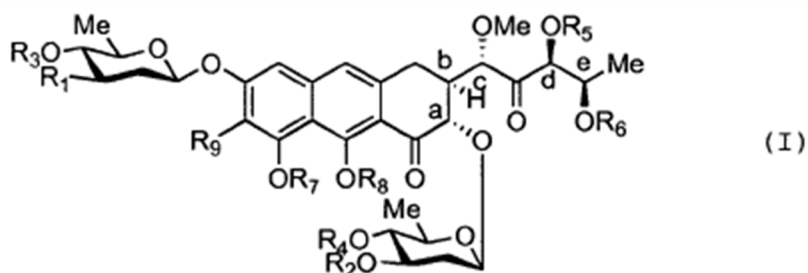
- La presente divulgación incluye nuevas cepas bacterianas derivadas de *Streptomyces argillaceus*. Estas cepas son obtenidas mediante la introducción de ciertos ácidos nucleicos adicionales en cepas bacterianas existentes, las cuales
- 65 pueden ser: (a) *Streptomyces argillaceus*, o bien (b) cepas derivadas de *Streptomyces argillaceus*. Las cepas del apartado (b) pueden obtenerse (entre otros métodos) mediante la inactivación de uno (o varios) de los genes

responsables de la biosíntesis de mitramicina, y son útiles para la obtención de derivados de MTM (US 2005/0192432 A1; *J. Am. Chem. Soc.* 2003, 125, 5745-5753; *J. Am. Chem. Soc.* 2002, 124, 1606-1614; *Mol. Gen. Genet.* 2001, 264, 827-835; *FEMS Microbiol. Lett.* 2000, 186, 61-65; *Mol. Gen. Genet.* 2000, 262, 991-1000; *J. Biol. Chem.* 2000, 275, 3065-3074; *Mol. Gen. Genet.* 1999, 261, 216-225; *Chem. Biol.* 1999, 6, 19-30; *J. Bacteriol.* 1999, 181, 642-647; *J. Bacteriol.* 1998, 180, 4929-4937; *J. Bacteriol.* 1997, 179, 3354-3357; *Mol. Gen. Genet.* 1996, 251, 692-698; *Gene* 1996, 172, 87-91). Un ejemplo de cepa del apartado (b), que puede ser utilizada en la presente descripción, es *Streptomyces argillaceus* M7U1, que fue obtenida a partir de *Streptomyces argillaceus* mediante inactivación del gen *mtmU* (*Mol. Gen. Genet.* 2001, 264, 827-835). El gen *mtmU* codifica una 4-cetorreductasa implicada en biosíntesis de D-oliosa, y su inactivación resulta en acumulación de premitramicinona y premitramicina A. Otro ejemplo de cepa del apartado (b) es *Streptomyces argillaceus* M7W1, que fue obtenida a partir de *Streptomyces argillaceus* mediante inactivación del gen *mtmW* (US 2005/0192432 A1; *J. Am. Chem. Soc.* 2003, 125, 5745-5753). El gen *mtmW* codifica una cetorreductasa, y su inactivación resulta en acumulación de desmicarosil-MTM-SK, MTM-SA, MTM-SDK, y MTM-SK.

La introducción de ácidos nucleicos en *Streptomyces argillaceus* (o en cepas derivadas) se puede realizar mediante transformación de protoplastos, conjugación, u otros métodos conocidos (tales como lo descritos en *Practical Streptomyces genetics*, The John Innes Foundation, Norwich, Gran Bretaña, 2000), de tal forma que los ácidos nucleicos son replicables en el organismo, bien en forma de elemento extracromosómico o bien integrados en el cromosoma del organismo. Dichos ácidos nucleicos codifican enzimas para la biosíntesis de diferentes azúcares; dichos azúcares no son producidos normalmente por *Streptomyces argillaceus*. Ejemplos de ácidos nucleicos utilizables para la presente descripción son los contenidos en los siguientes plásmidos (los cuales son citados a modo de ejemplos): pLNBIV (*Chem. Biol.* 2002, 9, 721-729; *J. Nat. Prod.* 2002, 65, 1685-1689), pRHAM (*J. Mol. Microbiol. Biotechnol.* 2000, 2, 271-276), pLN2 (*Chem. Biol.* 2002, 9, 721-729), pLNR (*Chem. Biol.* 2002, 9, 721-729), y pFL845 (*Chem. Commun. (Camb.)* 2005 Mar 28;(12):1604-6). Los plásmidos citados contienen ácidos nucleicos que codifican enzimas para la biosíntesis de los siguientes azúcares (en forma de derivados NDP), respectivamente: L-digitoxosa, L-rhamnosa, L-olivosa, D-olivosa, y D-amicetosa. Sin embargo, otros ácidos nucleicos pueden usarse, que codifiquen enzimas para la biosíntesis de otros azúcares no citados.

Las cepas bacterianas de este documento pueden ser cultivadas en cualquier medio adecuado, en condiciones que permitan su crecimiento, tal como se describe en *Gene* 1996, 172, 87-91; *J. Bacteriol.* 1998, 180, 4929-4937; *J. Am. Chem. Soc.* 2003, 125, 5745-5753. Tras varios días de incubación, estos cultivos contienen una cantidad elevada de células (micelio), junto con una mezcla de compuestos, incluyendo derivados de MTM. A continuación, los cultivos son sometidos a procesos para la separación de una fase líquida (sobrenadante) y una fase sólida (micelio). Seguidamente las dos fases son sometidas, separadamente, a diversos procedimientos que pueden incluir extracción con diversos solventes orgánicos, y varios tipos de cromatografías (tales como HPLC, cromatografía líquida de alto rendimiento), con el fin de obtener los derivados de MTM en forma de compuestos puros. Los derivados de MTM son agentes antitumorales y también actúan como agentes neuroprotectores.

Asimismo, la presente descripción incluye compuestos caracterizados por la siguiente fórmula (I):

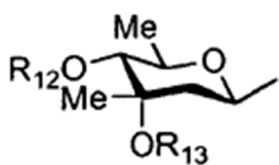


donde

R₁ es hidrógeno, hidroxilo (OH), un grupo hidroxilo protegido con un grupo protector, un monosacárido de fórmula (II)

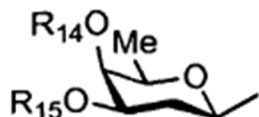


R₂ es hidrógeno, un grupo protector, un monosacárido de fórmula (III),



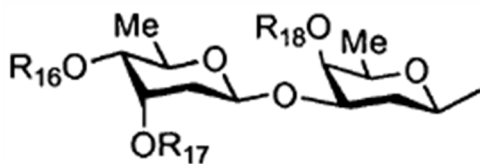
(III)

un monosacárido de fórmula (IV),



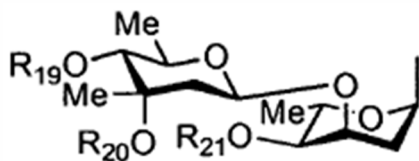
(IV)

un disacárido de fórmula (V),



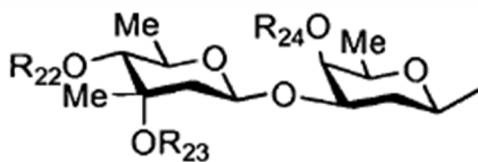
(V)

un disacárido de fórmula (VI),



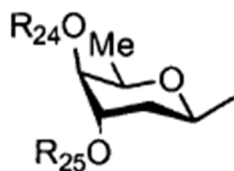
(VI)

o un disacárido de fórmula (VII).



(VII)

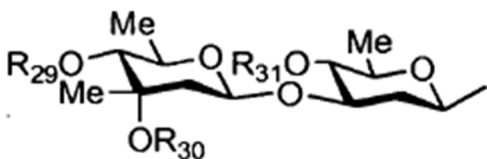
un monosacárido de fórmula (XIV),



(XIV)

un disacárido de fórmula (XV),

(XVI)

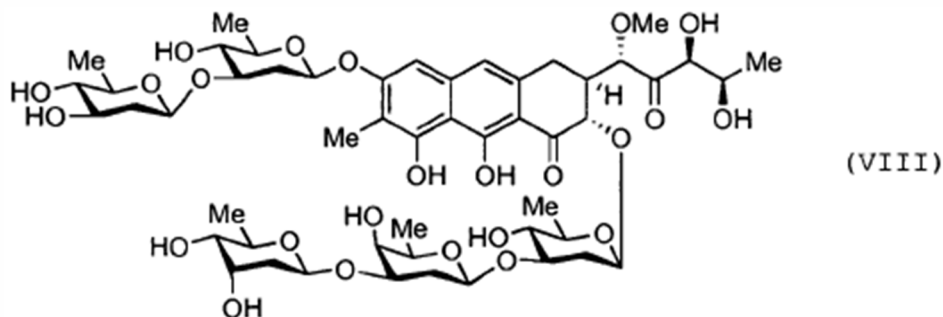


10 R₉ es hidrógeno, un grupo metilo, o un grupo alquilo; y la estereoquímica de los carbonos a, b, c, d y e es R, S o mezcla de ambos.

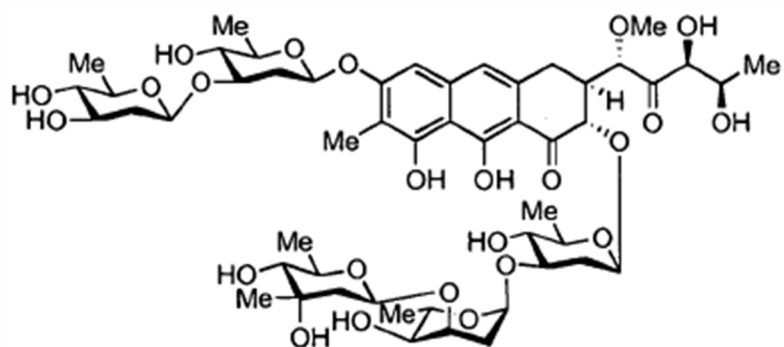
Los compuestos de fórmula (I) incluyen aquellos donde:

R₃, R₄, R₅, R₆, R₇, R₈, R₁₀, R₁₁, R₁₂, R₁₃, R₁₄, R₁₅, R₁₆, R₁₇, R₁₈, y R₁₉, R₂₀, R₂₁, R₂₂, R₂₃, R₂₄, R₂₅, R₂₆, R₂₇, R₂₈, R₂₉, R₃₀, R₃₁ son hidrógeno, R₉ es metilo, la estereoquímica en los carbonos a, b, c y d es S, y la estereoquímica en el carbono e es R.

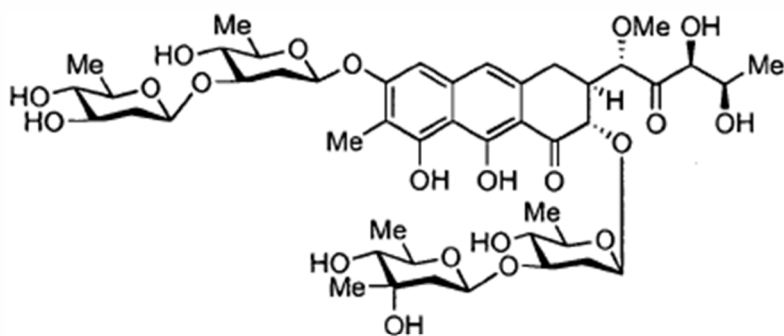
30



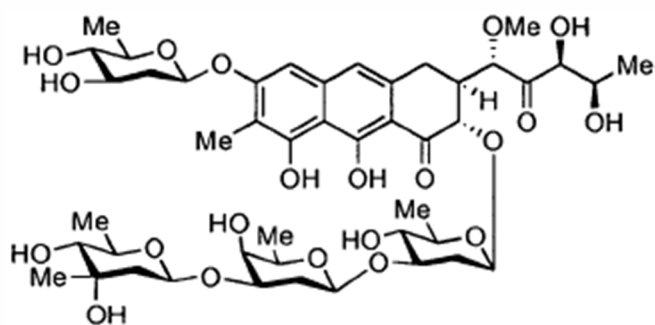
35



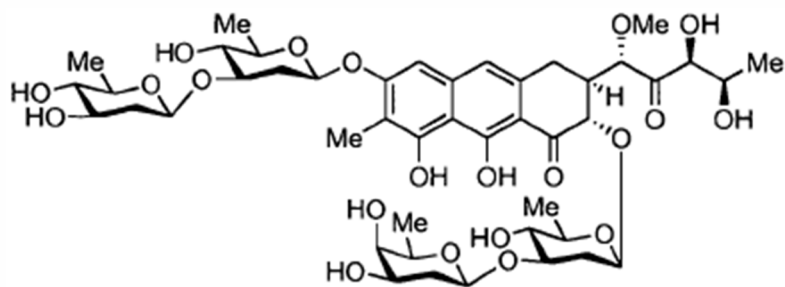
(IX)



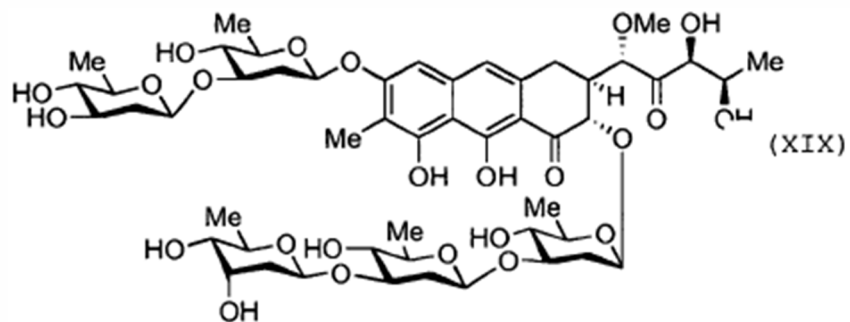
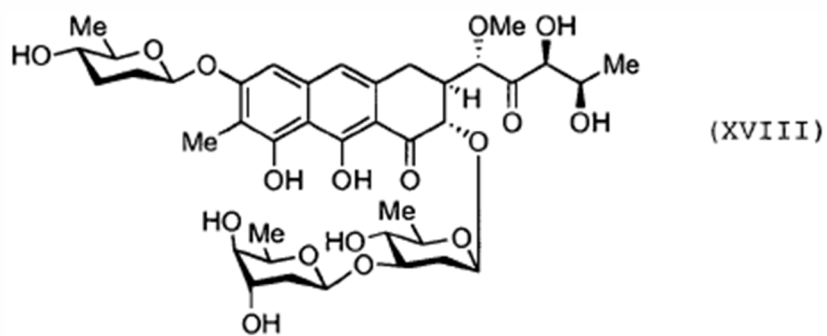
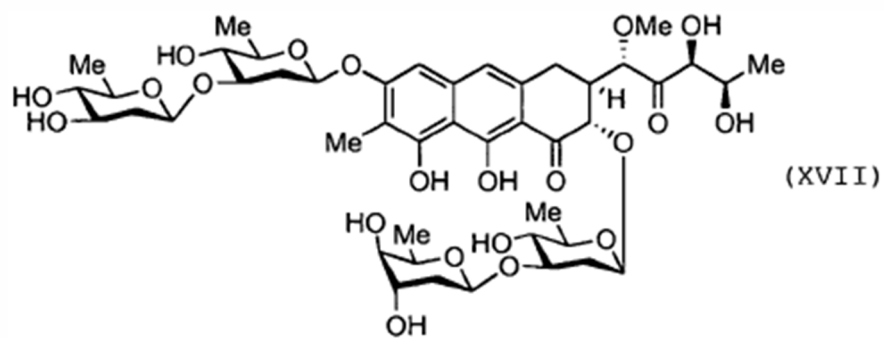
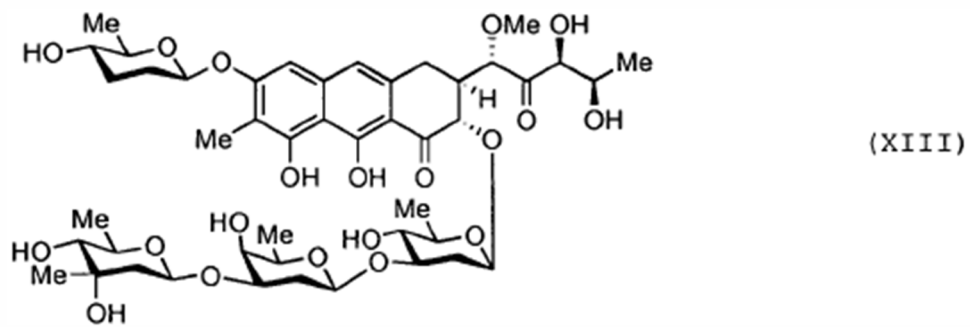
(X)

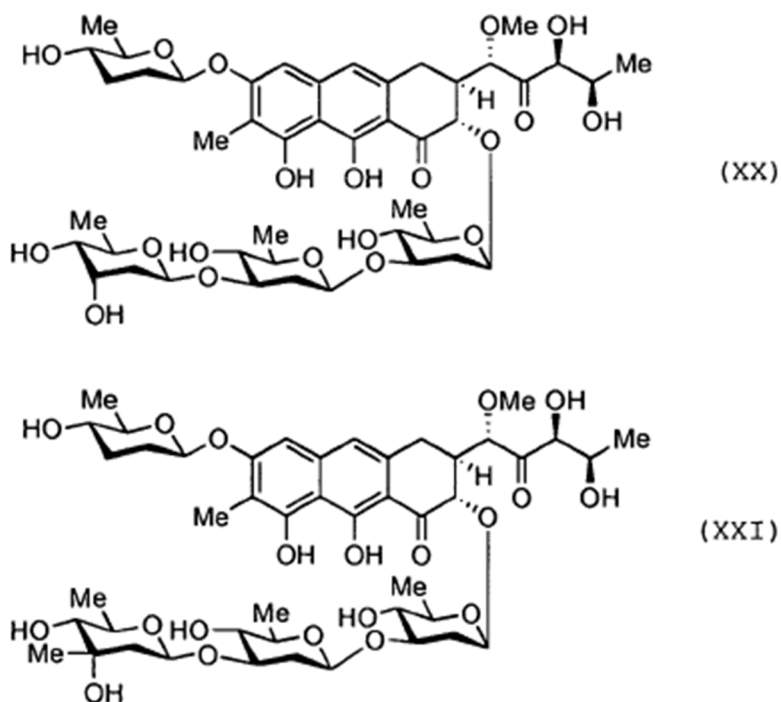


(XI)



(XII)





Los compuestos descritos en este documento son inhibidores de crecimiento de tumores y son por tanto útiles en el tratamiento del cáncer.

- 5 De esta forma, están incluidas en la presente descripción las composiciones farmacéuticas que comprenden una cantidad efectiva de un compuesto de fórmula I o una sal o solvato farmacéuticamente aceptable del mismo junto con un excipiente farmacéuticamente aceptable.
- 10 Está también incluido en la presente descripción el uso de un compuesto de fórmula I o una sal o solvato farmacéuticamente aceptable del mismo en la manufacturación de un medicamento.
- Está también incluido en la presente descripción el uso de un compuesto de fórmula I o una sal o solvato farmacéuticamente aceptable del mismo para inhibir el crecimiento de un tumor.
- 15 Tal como es usado aquí, "inhibir" significa disminuir, hacer más lento, o detener. Por tanto, un compuesto de esta invención puede disminuir, hacer más lento, o detener el crecimiento de una célula tumoral. Tal como es usado aquí, "crecimiento" significa aumento en tamaño, o proliferación, o ambos. Por tanto, un compuesto de esta invención puede inhibir el aumento de tamaño de una célula tumoral y/o puede impedir que la célula tumoral se divida y aumente el número de células tumorales. Una "célula tumoral" es una célula que constituye un neoplasma (crecimiento nuevo), el cual puede ser canceroso (maligno) o no canceroso (benigno). Una célula tumoral cancerosa puede invadir los tejidos normales a su alrededor y los vasos sanguíneos/linfáticos y formar metástasis en tejidos alejados del tumor original. Por el contrario, una célula tumoral no cancerosa puede crecer y comprimir los tejidos normales adyacentes pero no puede invadir tejidos normales y vasos sanguíneos/linfáticos, y tampoco puede formar metástasis en tejidos alejados del tumor original.
- 20
- 25 Está también incluido en la presente descripción el uso de un compuesto de fórmula I o una sal o solvato farmacéuticamente aceptable del mismo para tratar el cáncer.
- Está también incluido en la presente descripción el uso de un compuesto de fórmula I o una sal o solvato farmacéuticamente aceptable del mismo en la manufacturación de un medicamento con actividad antitumoral.
- 30
- Está también incluido en la presente descripción el uso de un compuesto de fórmula I o una sal o solvato farmacéuticamente aceptable del mismo en la manufacturación de un medicamento para el tratamiento del cáncer.
- 35 Está también incluido en la presente descripción un método de tratamiento de un sujeto, incluyendo un ser humano, diagnosticado con cáncer, que consiste en tratar a dicho sujeto con una cantidad terapéuticamente efectiva de un compuesto de fórmula I o una sal o solvato farmacéuticamente aceptable.
- 40 Tal como es usado aquí, un "sujeto" puede incluir animales domesticados (por ejemplo, gatos, perros, etc.), ganado (por ejemplo, vacas, caballos, cerdos, ovejas, cabras, etc.), animales de laboratorio (por ejemplo, ratones, conejos, cobayas,

etc.) y pájaros. De manera preferente, el sujeto es un mamífero tal como un primate y, con mayor preferencia, un ser humano.

En general, una "cantidad efectiva" de un compuesto es aquella cantidad necesaria para conseguir el resultado deseado. Por ejemplo, la cantidad efectiva de un compuesto incluido en la presente descripción trata el cáncer mediante la inhibición del crecimiento de las células que constituyen el tumor, con lo que previene la invasión de tejidos normales y vasos sanguíneos/linfáticos por parte de las células tumorales y, por tanto, previene metástasis. Ejemplos de cánceres que pueden ser tratados incluyen, pero no están limitados a, pulmón, colon, ovario, próstata, testículo, melanoma, riñón, mama, sistema nervioso central y leucemia. La expresión "composición farmacéutica aceptable" consiste en un material adecuado biológicamente, es decir, que el material puede ser administrado al sujeto sin causarle efectos biológicos sustancialmente dañinos.

Las dosis o cantidades de los compuestos descritos en este documento deben ser suficientemente grandes para producir el efecto deseado. Sin embargo, la dosis no debe ser tan grande que cause efectos secundarios adversos, por ejemplo reacciones cruzadas indeseadas, reacciones anafilácticas, y similares. Generalmente, la dosis variará con la edad, condición, sexo y el grado de la enfermedad del sujeto, y puede ser determinada por cualquier experto en la materia. La dosis puede ser ajustada por cada médico, en base a la condición clínica del sujeto implicado. La dosis, régimen de dosificación y ruta de la administración pueden variarse. Las dosis y el régimen de dosificación actualmente empleados para la MTM proporcionan una guía para las dosis y el régimen de dosificación que pueden emplearse para los nuevos derivados de MTM (ver por ejemplo *Cancer Treat. Rep.* 1979, 63, 1835-1838; *Ann. Intern. Med.* 1975, 83, 659-660).

Está también incluido en la presente descripción el uso de un compuesto de fórmula I o una sal o solvato farmacéuticamente aceptable del mismo en la manufacturación de un medicamento para el tratamiento de la enfermedad de Paget.

Está también incluido en la presente descripción un método de tratamiento de un sujeto, incluyendo un ser humano, diagnosticado con la enfermedad de Paget, que consiste en tratar a dicho sujeto con una cantidad terapéuticamente efectiva de un compuesto de fórmula I o una sal o solvato farmacéuticamente aceptable. El sujeto puede ser un mamífero, preferentemente un ser humano, y el compuesto puede ser, entre otras vías, administrado parenteralmente.

Está también incluido en la presente descripción el uso de un compuesto de fórmula I o una sal o solvato farmacéuticamente aceptable del mismo en la manufacturación de un medicamento para el tratamiento de la hipercalcemia.

Está también incluido en la presente descripción un método de tratamiento de un sujeto, incluyendo un ser humano, diagnosticado con hipercalcemia, que consiste en tratar a dicho sujeto con una cantidad terapéuticamente efectiva de un compuesto de fórmula I o una sal o solvato farmacéuticamente aceptable. El sujeto puede ser un mamífero, preferentemente un ser humano, y el compuesto puede ser, entre otras vías, administrado parenteralmente.

Está también incluido en la presente descripción el uso de un compuesto de fórmula I o una sal o solvato farmacéuticamente aceptable del mismo en la manufacturación de un medicamento para el tratamiento de la hipercalcemia.

Está también incluido en la presente descripción un método de tratamiento de un sujeto, incluyendo un ser humano, diagnosticado con hipercalcemia, que consiste en tratar a dicho sujeto con una cantidad terapéuticamente efectiva de un compuesto de fórmula I o una sal o solvato farmacéuticamente aceptable. El sujeto puede ser un mamífero, preferentemente un ser humano, y el compuesto puede ser, entre otras vías, administrado parenteralmente.

Está también incluido en la presente descripción el uso de un compuesto de fórmula I o una sal o solvato farmacéuticamente aceptable del mismo en la manufacturación de un medicamento para el tratamiento de enfermedades neurológicas.

Está también incluido en la presente descripción un método de tratamiento de un sujeto, incluyendo un ser humano, diagnosticado con una enfermedad neurológica, que consiste en tratar a dicho sujeto con una cantidad terapéuticamente efectiva de un compuesto de fórmula I o una sal o solvato farmacéuticamente aceptable. El sujeto puede ser un mamífero, preferentemente un ser humano, y el compuesto puede ser, entre otras vías, administrado parenteralmente.

Ejemplos de enfermedades neurológicas que pueden ser tratadas incluyen, pero no están limitados a, enfermedades neurodegenerativas tales como las de Parkinson, Alzheimer, y Huntington.

Los compuestos incluidos en la presente descripción pueden ser útiles para la investigación en bioquímica o biología celular. Por ejemplo, los compuestos pueden ser útiles para bloquear la expresión de c-Src (y otros enzimas dependientes de Sp1) en osteoclastos u otros tipos celulares.

Cualquiera de los compuestos descritos aquí puede ser utilizado terapéuticamente formando parte de una composición farmacéutica aceptable. Cualquier experto en la materia puede crear composiciones farmacéuticas aceptables, las cuales pueden consistir en soluciones estériles en agua, soluciones salinas, o soluciones tamponadas a pH fisiológico. Cualquiera de los compuestos descritos aquí puede ser preparado en forma de composición farmacéutica. Las composiciones farmacéuticas pueden incluir diversos agentes transportadores, espesantes, diluentes, tamponantes, conservantes, tensoactivos, y otros, además del compuesto de la invención. Las composiciones farmacéuticas pueden incluir también ingredientes activos tales como agentes antimicrobianos, antiinflamatorios, anestésicos, etc.

Los compuestos descritos aquí pueden ser administrados al sujeto de varias maneras distintas, dependiendo de si se desea que el tratamiento sea local o sistémico, y dependiendo del área a ser tratada. Así, por ejemplo, un compuesto incluido en la presente descripción puede ser administrado en forma de solución oftálmica, de aplicación en la superficie del ojo. Además un compuesto puede ser administrado a un sujeto por vía vaginal, rectal, intranasal, oral, por inhalación, o por vía parenteral, ya sea por ruta intradermal, subcutánea, intramuscular, intraperitoneal, intrarrectal, intraarterial, intralinfática, intravenosa, intratecal e intratraqueal. La administración parenteral, si se emplea, se realiza generalmente mediante inyección. Los inyectables pueden ser preparados de diversas formas, tales como soluciones o suspensiones líquidas, formas sólidas adecuadas para ser disueltas o puestas en suspensión antes de la inyección, o como emulsiones. Otras formas de administración parenteral emplean sistemas de liberación lenta o sostenida, de tal forma que se consigue mantener una dosis constante (ver, por ejemplo, patente US 3,710,795). Las preparaciones para la administración parenteral incluyen soluciones estériles acuosas o no acuosas, suspensiones, y emulsiones, que además pueden contener tampones y aditivos diluentes y otros. Ejemplos de solventes no acuosos son: propilenglicol, polietilenglicol, aceites vegetales tales como el aceite de oliva, y ésteres orgánicos inyectables tales como etiloleato. Ejemplos de solventes acuosos son: agua, soluciones alcohólico-acuosas, emulsiones o suspensiones, incluyendo soluciones salinas y tamponadas. Ejemplos de vehículos parenterales son: solución de cloruro sódico, dextrosa de Ringer, cloruro de sodio y dextrosa, etc. También pueden estar presentes conservantes y otros aditivos, tales como, por ejemplo, agentes antimicrobianos, antioxidantes, quelantes, gases inertes, etc. Las formulaciones para administración tópica pueden incluir cremas, lociones, geles, gotas, supositorios, sprays, líquidos y polvos. También pueden ser necesarios o deseables ciertos transportadores farmacéuticos convencionales, bases acuosas, oleosas, o en polvo, espesantes, etc. Las composiciones para administración oral pueden incluir polvos o gránulos, suspensiones o soluciones en agua o medio no acuoso, cápsulas, o tabletas. Puede ser deseable la inclusión de agentes espesantes, saborizantes, diluentes, emulsionantes, dispersantes, etc.

A los efectos de la presente descripción, el término “derivado” de la mitramicina debe interpretarse como un compuesto cubierto por la fórmula general I. Del mismo modo, el término “prodroga” de la mitramicina debe interpretarse a los efectos de la presente descripción, como cualquier compuesto que libere, al circular en sangre o entrar en la célula, la mitramicina o un derivado, de acuerdo con la fórmula general I, de la misma.

Descripción de una forma de realización preferente. Sólo aquellos ejemplos cubiertos por las reivindicaciones son una parte de la invención.

Ejemplo 1. Obtención de la cepa bacteriana *Streptomyces argillaceus* (pLNBIV).

La cepa *Streptomyces argillaceus* (pLNBIV) se generó mediante la introducción del plásmido pLNBIV en *Streptomyces argillaceus* ATCC 12956. La introducción del plásmido se realizó mediante transformación de protoplastos, siguiendo procedimientos estándar (Kieser et al., Practical *Streptomyces* genetics, The John Innes Foundation, Norwich, Gran Bretaña, 2000). El plásmido pLNBIV ha sido descrito con anterioridad, y contiene una serie de genes que codifican la biosíntesis de nucleosidilidifosfato (NDP)-L-digitoxose (*Chem. Biol.* 2002, 9, 721-729; *J. Nat. Prod.* 2002, 65, 1685-1689). La cepa *Streptomyces argillaceus* (pLNBIV) fue depositada con fecha 15/11/2006 en la Colección Española de Cultivos Tipo (CECT), Universidad de Valencia, Campus de Burjassot, 46100 Burjassot (Valencia, España) con el número de acceso CECT 3384.

Ejemplo 2. Producción de desmicarosil-3D- β -D-digitoxosil-MTM (fórmula VIII), desoliosil-3C- β -L-digitoxosil-MTM (fórmula IX), desoliosil-3C- β -D-micarosil-MTM (fórmula X), y 3A-desolivosil-MTM (fórmula XI).

Para la purificación de los derivados de MTM, la cepa *S. argillaceus* (pLNBIV) fue cultivada en medio R5A empleando un método de cultivo en dos pasos, tal como se ha descrito anteriormente (*J. Bacteriol.* 1998, 180, 4929-4937). En el paso de producción, se emplearon 8 matraces Erlenmeyer de 2 litros, cada uno de ellos conteniendo 400 ml de medio, los cuales fueron incubados durante 5 días. Los cultivos fueron centrifugados y filtrados, y el caldo fue extraído en fase sólida tal como se ha descrito (*Chem. Biol.* 2002, 9, 519-531). Las fracciones obtenidas fueron analizadas por HPLC-MS empleando un equipo cromatográfico acoplado a un espectrómetro de masas ZQ4000 (Waters – Micromass), usando como solventes acetonitrilo y 0.1% ácido trifluoroacético (TFA) en agua, y una columna de fase reversa (Symmetry C18, 2.1 x 150 mm, Waters). Las muestras fueron eluidas con 10% acetonitrilo durante los primeros 4 min., seguido de un gradiente lineal 10-88% acetonitrilo durante 26 min., a un flujo de 0.25 ml/min. La detección y la caracterización espectral de los picos fue realizada con un detector de fotodiodos y software Empower (Waters). Los análisis de MS fueron hechos mediante ionización de electrospray en modo positivo, con un voltaje de capilar de 3 kV y voltajes de cono de 20 y 100 V. Aquellas fracciones que contenían derivados de MTM (que eluían entre 45 y 55 min.) fueron reunidas y secadas en vacío. Este extracto fue redisoluto y cromatografiado en una columna μ Bondapak C18 de

compresión radial (PrepPak Cartridge, 25 x 100 mm, Waters). Se empleó una elución isocrática con una mezcla de acetonitrilo y 0.1% TFA en agua (42:58), a 10 ml/min. La desmicarosil-3D-β-D-digitoxosil-MTM y la 3A-desolivosil-MTM fueron repurificadas en una columna semipreparativa (Symmetry C18, 7.8 x 300 mm, Waters) con elución isocrática con acetonitrilo y 0.1% TFA en agua (37:63), a 3 ml/min. La desoliosil-3C-α-L-digitoxosil-MTM y la desoliosil-3C-β-D-micarosil-MTM fueron también repurificadas empleando la misma columna y los mismos solventes, pero cambiando la mezcla a 45:55. En todos los casos, después de cada paso de purificación, los compuestos recogidos eran diluidos 4 veces con agua y eran desalados y concentrados mediante extracción en fase sólida, para ser finalmente liofilizados. De esta manera se obtuvieron 14.3 mg de desmicarosil-3D-β-D-digitoxosil-MTM (fórmula VIII), 5.8 mg de desoliosil-3C-α-L-digitoxosil-MTM (fórmula IX), 3.3 mg de desoliosil-3C-β-D-micarosil-MTM (fórmula X), y 10.9 mg de 3A-desolivosil-MTM (fórmula XI).

Los productos se caracterizaron mediante espectroscopía de NMR y espectroscopía de masas. Los espectros de masas de ionización por electrospray (ESI-MS) fueron adquiridos empleando un espectrómetro de masas Thermo Finnigan LCQ, con introducción de la muestra por difusión directa. La espectrometría de masas FAB ("fast atom bombardment") de alta resolución, en modo positivo, fue adquirida empleando un espectrómetro de masas modelo VG70SQ (con "double focusing magnetic sector"). La espectrometría MS-MS sobre ion pseudomolecular fue realizada en ambos modos +ve y -ve para estudiar el patrón de fragmentación de la molécula. Los espectros UV fueron obtenidos con un espectrómetro Varian CARY50, y los espectros IR fueron obtenidos a partir de discos de KBr en un espectrómetro Nicolet Magna IR-560. Todos los datos de NMR fueron obtenidos en *pyridine d5*, empleando un instrumento Varian Inova de 400 MHz, excepto los espectros de ¹³C de banda ancha, que fueron obtenidos a 50.3 y 75.4 MHz en espectrómetros Varian Inova de 200 y 300 MHz, respectivamente. Los valores δ fueron ajustados en referencia a los picos del solvente (δ 8.74 ppm y δ 150.35 ppm para NMR de ¹H y de ¹³C, respectivamente). Todas las asignaciones de NMR están basadas en espectros de ¹H y de ¹³C empleando espectros de ¹H, ¹³C-HSQC y CIGAR-HMBC, espectros ¹H, ¹H-DQ-COSY y NOESY, lo que permitió asignar sin ambigüedades todas las señales de NMR. La desmicarosil-3D-β-D-digitoxosil-MTM (fórmula VIII) fue además estudiada mediante espectros 1D-TOCSY para identificar separadamente los patrones de spin de los azúcares. La estructura química de los compuestos se muestra en la Fig. 4.

Análisis NMR y MS de desmicarosil-3D-β-D-digitoxosil-MTM (fórmula VIII), C₅₁H₇₄O₂₄. ESI-MS negativo *m/z* (intensidad relativa): 1069 (100) [M-H], 1105/1107 (22) [M+Cl], 939 (7) [M-H-Azúcar 1A]. ESI-MS positivo *m/z* (intensidad relativa): 1093 (100) [M+Na], 1109 (11) [M+K], 833 (7) [M+H-{Azúcar 1A y 1B}+Na], 811 (16) [M+H-Azúcar 1A y 1B], 681 (14) [M+H-Trisacárido], 421 (18) [M+H-Tri y disacárido]. HR-FAB *m/z* [M+Na⁺]: calculado, 1093.4467; obtenido, 1093.4447. UV/Vis (Metanol) λ_{max} (ε): 412 (1532), 317 (1663), 279 (5112), 229 (5042) nm. IR (KBr) ν: 3420 (OH), 2920 (CH), 2848 (CH), 1716 (C=O), 1631 (C=O), 1514 (C=C), 1382, 1130, 1064 cm⁻¹. La Tabla 1 muestra los datos de ¹H-NMR y ¹³C-NMR.

Análisis NMR y MS de desoliosil-3C-α-L-digitoxosil-MTM (fórmula IX), C₅₂H₇₆O₂₄. ESI-MS negativo *m/z* (intensidad relativa): 1083 (100) [M-H], 1119/1121 (26) [M+Cl]. ESI-MS positivo *m/z* (intensidad relativa): 1107 (100) [M+Na⁺], 1123 (13) [M+K⁺], 847 (5) [M+H-{Disacárido}+Na], 825 (27) [M+H-Disacárido], 681 (11) [M+H-Trisacárido], 551 (34) [M+H-Azúcares 1A,1B,1D y 1E] y 421 (22) [M+H-Tri y disacárido]. HR-FAB *m/z* [M+Na⁺]: calculado, 1107.4603; obtenido, 1107.4624. UV/Vis (Metanol) λ_{max} (ε): 412 (2148), 317 (2491), 278 (6851), 230 (6420) nm. IR (KBr) ν: 3409 (OH), 2924 (CH), 2850 (CH), 1716 (C=O), 1634 (C=O), 1514 (C=C), 1374, 1126, 1064 cm⁻¹. La Tabla 2 muestra los datos de ¹H-NMR y ¹³C-NMR.

Análisis NMR y MS de desoliosil-3C-β-D-micarosil-MTM (fórmula X), C₄₆H₆₆O₂₁. ESI-MS negativo *m/z* (intensidad relativa): 953 (100) [M-H]. ESI-MS positivo *m/z* (intensidad relativa): 977 (100) [M+Na⁺], 993 (5) [M+K⁺], 695 (8) [M-Azúcar 1A y 1B], 681 (10) [M-Azúcar 1C y 1D] y 421 (20) [M+H-bis-disacárido]. HR-FAB *m/z* [M + Na⁺]: calculado, 977.3745; obtenido, 977.3948. UV/Vis (Metanol) λ_{max} (ε): 412 (1357), 316 (1629), 278 (3274), 230 (2982) nm. IR (KBr) ν: 3425 (OH), 2924 (CH), 2850 (CH), 1716 (C=O), 1631 (C=O), 1514 (C=C), 1374, 1122, 1064 cm⁻¹. La Tabla 3 muestra los datos de ¹H-NMR y ¹³C-NMR.

Análisis NMR y MS de 3A-desolivosil-MTM (fórmula XI), C₄₆H₆₆O₂₁. ESI-MS negativo *m/z* (intensidad relativa): 953 (100) [M-H], 989/991 (9) [M+Cl], 823 (5) [M-Azúcar 1B], 809 (8) [M+H-Azúcar 1D]. ESI-MS positivo *m/z* (intensidad relativa): 955 (100) [M+Na⁺], 993 (10) [M+K⁺], 833 (13) [M+H-{Azúcar 1D}+Na⁺], 825 (11) [M+H-Azúcar 1B], 695 (5) [M+H-Azúcar 1A y 1B], 681 (25) [M+H-Azúcar 1C y 1D], 551 (50) [M+H-Azúcares 1A,1B y 1D] y 421 (33) [M+H-Tri y monosacárido]. HR-FAB *m/z* [M+Na⁺]: calculado, 977.3735; obtenido, 977.3950. UV/Vis (Metanol) λ_{max} (ε): 412 (2178), 316 (2310), 278 (8099), 231 (7363) nm. IR (KBr) ν: 3421 (OH), 2924 (CH), 2850 (CH), 1716 (C=O), 1634 (C=O), 1514 (C=C), 1374, 1122, 1060 cm⁻¹. La Tabla 4 muestra los datos de ¹H-NMR y ¹³C-NMR.

Ejemplo 3. Obtención de la cepa bacteriana *Streptomyces argillaceus* (pFL845).

La cepa *Streptomyces argillaceus* (pFL845) se generó mediante la introducción del plásmido pFL845 en *Streptomyces argillaceus*. La introducción del plásmido se realizó mediante transformación de protoplastos, siguiendo procedimientos estándar (Kieser et al., Practical *Streptomyces* genetics, The John Innes Foundation, Norwich, Gran Bretaña, 2000). El plásmido pFL845 ha sido descrito con anterioridad, y contiene una serie de genes que codifican la biosíntesis de nucleosidildifosfato (NDP)-D-amicetosa (*Chem. Commun. (Camb)*. 2005 Mar 28;(12):1604-6). La cepa *Streptomyces*

argillaceus (pFL845) fue depositada con fecha 15/11/2006 en la Colección Española de Cultivos Tipo (CECT), Universidad de Valencia, Campus de Burjassot, 46100 Burjassot (Valencia, España) con el número de acceso CECT 3383.

5 Ejemplo 4. Producción de desmicarosil-MTM (fórmula XII) y 6-desdiolivosil-6-β-D-amicetosil-MTM (fórmula XIII).

Para purificar los nuevos derivados de mitramicina producidos por *S. argillaceus* (pFL845), se cultivó esta cepa en 8 matraces de 2 L conteniendo 400 ml de medio R5A suplementado con tioestreptona (5 µg/ml c.f.). Tras 6 días de incubación a 30°C, los cultivos se centrifugaron, filtraron y se realizó una extracción en fase sólida. Posteriormente el extracto se sometió a una primera cromatografía utilizando un cartucho µBondapak C18. La elución se realizó a 10 ml/min utilizando como fase móvil una mezcla de acetonitrilo y TFA en agua (42:58). A continuación se realizó una segunda cromatografía en Symmetry C18 (7.8 x 300), a 3 ml/min utilizando como fase móvil una mezcla de acetonitrilo y TFA en agua (37:63, para 845-1 P1; 42:58, para 845-1 P3). Se obtuvo el siguiente rendimiento: 16.1 mg de desmicarosil-MTM (fórmula XII), y 4.3 mg de 6-desdiolivosil-6-β-D-amicetosil-MTM (fórmula XIII). Los productos fueron caracterizados por HPLC-MS, de la forma descrita en el Ejemplo 2.

Análisis NMR y MS de desmicarosil-MTM (fórmula XII), C₄₅H₆₄O₂₁. Sólido amarillo amorfo. [α]_D²⁵ -25 (c 0.032, MeOH); ESI-MS negativo *m/z* (intensidad relativa): 939 (100) [M-H], 975/977 (28) [M+Cl], 809 (10) [M-H-{azúcar A}], 679 (5) [M-H-{Disacárido}]. ESI-MS positivo *m/z* (intensidad relativa): 963 (100) [M+Na⁺], 979 (10) [M+K⁺], 833 (9) [M+H-{Sugar A}+Na⁺], 811 (5) [M+H-azúcar A], 681 (20) [M+H-{disacárido}], 703 (8) [M+H-{Disacárido}+Na], 421 (15) [M+H-{bis-disacárido}]. HR-FAB *m/z* [M+Na⁺]: calculado, 963.3804; obtenido, 963.3793. UV/Vis (Metanol) λ_{max} (ε): 430(10,200), 316(6400), 281(50,400), 231(11,000) nm. IR (KBr)ν: 3421 (OH), 2924 (CH), 2850 (CH), 1716 (C=O), 1631 (C=O), 1514 (C=C), 1374, 1122, 1064 cm⁻¹. La Tabla 5 muestra los datos de ¹H-NMR y ¹³C-NMR.

Análisis NMR y MS de 6-desdiolivosil-6-β-D-amicetosil-MTM (fórmula XIII), C₄₆H₆₆O₂₀. Sólido amarillo amorfo. [α]_D²⁵ -22 (c 0.027, MeOH); ESI-MS negativo *m/z* (intensidad relativa): 937 (100) [M-H], 973/975 (23) [M+Cl], 823 (10) [M-H-{azúcar A}]. ESI-MS positivo *m/z* (intensidad relativa): 961 (100) [M+Na⁺], 977 (15) [M+K⁺], 825 (10) [M+H-{azúcar A}], 535 (9) [M+H-{Trisacárido}], 421 (12) [M+H-{Tri- y monosacárido}]. HR-FAB *m/z* [M+Na⁺]: calculado, 961.4053; obtenido, 961.4045. UV/Vis (Metanol) λ_{max} (ε): 430 (10,500), 316 (6,500), 281 (48,400), 230 (12,600). IR (KBr)ν: 3425 (OH), 2928 (CH), 2850 (CH), 1716 (C=O), 1631 (C=O), 1514 (C=C), 1374, 1122, 1064 cm⁻¹. La Tabla 6 muestra los datos de ¹H-NMR y ¹³C-NMR.

Ejemplo 5. Obtención de la cepa bacteriana *Streptomyces argillaceus* (pFL942).

La cepa *Streptomyces argillaceus* (pFL942) se generó mediante la introducción del plásmido pFL942 en *Streptomyces argillaceus*. La introducción del plásmido se realizó mediante transformación de protoplastos, siguiendo procedimientos estándar (Kieser et al., Practical *Streptomyces* genetics, The John Innes Foundation, Norwich, Gran Bretaña, 2000). El plásmido pFL942 ha sido descrito con anterioridad, y contiene una serie de genes que codifican la biosíntesis de nucleosidilidifosfato (NDP)-L-micarosa (*Chemistry & Biology*, 2004, (11):1709-18). La cepa *Streptomyces argillaceus* (pFL942) fue depositada con fecha 04/02/08 en la Colección Española de Cultivos Tipo (CECT), Universidad de Valencia, Campus de Burjassot, 46100 Burjassot (Valencia, España) con el número de acceso CECT 7368.

Ejemplo 6. Producción de desoliosil-desmicarosil-3C-β-D-boivinosil-MTM (fórmula XVII) y desmicarosil-3D-β-D-digitoxosil-MTM (fórmula VIII).

Para purificar los nuevos derivados de mitramicina producidos por *S. argillaceus* (pFL942), se cultivó esta cepa en medio sólido R5A. Se inocularon uniformemente 100 placas de agar con esporas y tras 6 días de incubación a 28°C, los cultivos se extrajeron 3 veces con acetato de etilo. Posteriormente el extracto se sometió a una primera cromatografía utilizando un cartucho de compresión radial µBondapak C18. La elución se realizó a 10 ml/min utilizando como fase móvil una mezcla de acetonitrilo y TFA en agua (50:50). A continuación se realizó una segunda cromatografía en una columna Sunfire PrepC18 (10 x 250mm, Waters), a 7 ml/min utilizando como fase móvil una mezcla de acetonitrilo y 0.1% TFA en agua (37:63). Las fracciones de HPLC se colectaron sobre 0.1M potassium phosphate buffer (pH=7) y tras cada purificación, las muestras se diluyeron 4 veces con agua, se desalaron, concentraron y liofilizaron. Se obtuvo el siguiente rendimiento: 3 mg de desoliosil-desmicarosil-3C-β-D-boivinosil-MTM (fórmula XVII), y 6.9 mg de desmicarosil-3D-β-D-digitoxosil-MTM (fórmula VIII). Los productos fueron caracterizados por HPLC-MS, de la forma descrita en el Ejemplo 2. El compuesto desmicarosil-3D-β-D-digitoxosil-MTM (fórmula VIII) está caracterizado en el Ejemplo 2.

Análisis NMR y MS de desoliosil-desmicarosil-3C-β-D-boivinosil-MTM (fórmula XVII), C₄₅H₆₄O₂₁. Sólido amarillo amorfo. [α]_D²⁵ -22 (c 0.029, MeOH); ESI-MS negativo *m/z* (intensidad relativa): 939 (100) [M-H]. ESI-MS positivo *m/z* (intensidad relativa): 963 (100) [M+Na⁺], 979 (10) [M+K⁺], 833 (10) [M+Na⁺-{Azúcar A}], 703 (50) [M+H-{disacárido}], 443 (12) [aglicón+ Na⁺]. HR-FAB *m/z* [M+Na⁺]: calculado, 939.3849; obtenido, 939.3867. UV/Vis (Metanol) λ_{max} (ε): 430 (10,600), 317 (6800), 281 (49,500), 230 (10,000) nm. IR (KBr)ν: 3431 (OH), 2926 (CH), 2851 (CH), 1716 (C=O), 1631 (C=O), 1514 (C=C), 1374, 1121, 1064 cm⁻¹. La Tabla 7 muestra los datos de ¹H-NMR y ¹³C-NMR.

Ejemplo 7. Obtención de la cepa bacteriana *Streptomyces argillaceus* M7U1 (pFL845).

La cepa *Streptomyces argillaceus* M7U1 (pFL845) se generó mediante la introducción del plásmido pFL845 en *Streptomyces argillaceus* M7U1. La introducción del plásmido se realizó mediante transformación de protoplastos, siguiendo procedimientos estándar (Kieser et al., Practical *Streptomyces* genetics, The John Innes Foundation, Norwich, Gran Bretaña, 2000). La cepa *Streptomyces argillaceus* M7U1 ha sido descrita con anterioridad (*Mol. Gen. Genet.* 2001, 264, 827-835). El plásmido pFL845 ha sido descrito con anterioridad, y contiene una serie de genes que codifican la biosíntesis de nucleosidilidifosfato (NDP)-D- D-amicetosa (*Chem. Commun. (Camb.)* 2005 Mar 28;(12):1604-6). La cepa *Streptomyces argillaceus* M7U1 (pFL845) fue depositada con fecha 04/02/08 en la Colección Española de Cultivos Tipo (CECT), Universidad de Valencia, Campus de Burjassot, 46100 Burjassot (Valencia, España) con el número de acceso CECT 7369.

Ejemplo 8. Producción de 6-desdiolivosil-6-β-D-amicetosil-desoliosil-desmicarosil-3C-β-D-boivinosil-MTM (fórmula XVIII); desoliosil-desmicarosil-3C-β-D-olivosil-3D-β-D-digitoxosil-MTM (fórmula XIX); 6-desdiolivosil-6-β-D-amicetosil-desoliosil-desmicarosil-3C-β-D-olivosil-3D-β-D-digitoxosil-MTM (fórmula XX) y 6-desdiolivosil-6-β-D-amicetosil-desoliosil-3C-β-D-olivosil-MTM (fórmula XXI).

Para purificar los nuevos derivados de mitramicina producidos por *S. argillaceus* M7U1 (pFL845), se cultivó esta cepa en medio sólido R5A. Se inocularon uniformemente 100 placas de agar con esporas y tras 6 días de incubación a 28°C, los cultivos se extrajeron 3 veces con acetato de etilo. Posteriormente el extracto se sometió a una primera cromatografía utilizando un cartucho de compresión radial μBondapak C18. La elución se realizó a 10 ml/min utilizando como fase móvil una mezcla de acetonitrilo y TFA en agua (50:50). A continuación se realizó una segunda cromatografía en una columna Sunfire PrepC18 (10 x 250mm, Waters), a 7 ml/min utilizando como fase móvil una mezcla de acetonitrilo y 0.1% TFA en agua (40:60). Las fracciones de HPLC se colectaron sobre 0.1M potassium phosphate buffer (pH=7) y tras cada purificación, las muestras se diluyeron 4 veces con agua, se desalaron, concentraron y liofilizaron. Se obtuvo el siguiente rendimiento: 1.7 mg de 6-desdiolivosil-6-β-D-amicetosil-desoliosil-desmicarosil-3C-β-D-boivinosil-MTM (fórmula XVIII), 6.7 mg de desoliosil-desmicarosil-3C-β-D-olivosil-3D-β-D-digitoxosil-MTM (fórmula XIX), 12.2 mg de 6-desdiolivosil-6-β-D-amicetosil-desoliosil-desmicarosil-3C-β-D-olivosil-3D-β-D-digitoxosil-MTM (fórmula XX) y 17mg de 6-desdiolivosil-6-β-D-amicetosil-desoliosil-3C-β-D-olivosil-MTM (fórmula XXI). Los productos fueron caracterizados por HPLC-MS, de la forma descrita en el Ejemplo 2.

Análisis NMR y MS de 6-desdiolivosil-6-β-D-amicetosil-desoliosil-desmicarosil-3C-β-D-boivinosil-MTM (fórmula XVIII): C₃₉H₅₄O₁₇. Sólido amarillo amorfo. [α]_D²⁵ -23 (c 0.026, MeOH); ESI-MS negativo *m/z* (intensidad relativa): 793 (10%) [M-H], 777(100%) (M-H₂O). ESI-MS positivo *m/z* (intensidad relativa): 795 (25) [M+H], 817 (20) [M+Na⁺], 687 (100), [M+H-{azúcar A}], 673 (11) [M+H-{azúcar A y 1C}], 443 (12) [aglicón+Na]. HR-FAB *m/z* [M+Na⁺]: calculado, 817.3253; obtenido, 817.3238. UV/Vis (Metanol) λ_{max} (ε): 430 (10,800), 316 (6700), 280 (50,700), 231 (13,000) nm. IR (KBr)_v: 3428 (OH), 2925 (CH), 2850 (CH), 1716 (C=O), 1632 (C=O), 1514 (C=C), 1374, 1121, 1063 cm⁻¹. La Tabla 8 muestra los datos de ¹H-NMR y ¹³C-NMR.

Análisis NMR y MS de desoliosil-desmicarosil-3C-β-D-olivosil-3D-β-D-digitoxosil-MTM (fórmula XIX), C₅₁H₇₄O₂₄. Sólido amarillo amorfo. [α]_D²⁵ -21 (c 0.020, MeOH); ESI-MS negativo *m/z* (intensidad relativa): 1069 (20) [M-H]. ESI-MS positivo *m/z* (intensidad relativa): 1071 (48) [M+H], 1093 (26) [M+Na⁺], 963 (28) [M+Na⁺]{monosacárido}, 833 (16) [M+Na⁺]{disacárido}, 703 (12) [M+Na⁺]{trisacárido}, 550 (14) [M+Na⁺]{tetrasacárido}, 443 (26) [M+H]{Tri- y disacárido}. HR-FAB *m/z* [M+Na⁺]: calculado, 1093.4462; obtenido, 1093.4447. UV/Vis (Metanol) λ_{max} (ε): 430 (10,600), 316(6500), 280 (49,500), 231 (12,800) nm. IR (KBr)_v: 3423 (OH), 2921 (CH), 2850 (CH), 1716 (C=O), 1631 (C=O), 1514 (C=C), 1382, 1131, 1064 cm⁻¹. La Tabla 9 muestra los datos de ¹H-NMR y ¹³C-NMR.

Análisis NMR y MS de 6-desdiolivosil-6-β-D-amicetosil-desoliosil-desmicarosil-3C-β-D-olivosil-3D-β-D-digitoxosil-MTM (fórmula XX), C₄₅H₆₂O₂₀. Sólido amarillo amorfo. [α]_D²⁵ -15 (c 0.024, MeOH); ESI-MS positivo *m/z* (intensidad relativa): 947 (25) [M+Na⁺], 817 (100) [M+Na⁺]{azúcar C}], 795 (12) [M+H-azúcar C]. HR-FAB *m/z* [M+Na⁺]: calculado, 947.3883; obtenido, 947.3867. UV/Vis (Metanol) λ_{max} (ε): 430 (10,400), 316 (6500), 281 (48,000), 232 (11,900) nm. IR (KBr)_v: 3426 (OH), 2928 (CH), 2843 (CH), 1716 (C=O), 1632 (C=O), 1514 (C=C), 1374, 1121, 1063 cm⁻¹. La Tabla 10 muestra los datos de ¹H-NMR y ¹³C-NMR.

Análisis NMR y MS de 6-desdiolivosil-6-β-D-amicetosil-desoliosil-3C-β-D-olivosil-MTM (fórmula XXI), C₄₅H₆₄O₂₁. ESI-MS negativo *m/z* (intensidad relativa): XXX. ESI-MS positivo *m/z* (intensidad relativa): XXX. HR-FAB *m/z* [M+Na⁺]: calculado, 940.39; obtenido, XXX. UV/Vis (Metanol) λ_{max} (ε):XXX. IR (KBr)_v: XXX. La Tabla 11 muestra los datos de ¹H-NMR y ¹³C-NMR.

Ejemplo 9. Actividad antitumoral de desmicarosil-3D-β-D-digitoxosil-MTM (fórmula VIII), desoliosil-3C-α-L-digitoxosil-MTM (fórmula IX), desoliosil-3C-β-D-micarosil-MTM (fórmula X), 3A-desolivosil-MTM (fórmula XI), desmicarosil-MTM (fórmula XII), 6-desdiolivosil-6-β-D-amicetosil-MTM (fórmula XIII), desoliosil-desmicarosil-3C-β-D-boivinosil-MTM [fórmula (XVII)]; 6-desdiolivosil-6-β-D-amicetosil-desoliosil-desmicarosil-3C-β-D-boivinosil-MTM [fórmula (XVIII)]; desoliosil-desmicarosil-3C-β-D-olivosil-3D-β-D-digitoxosil-MTM [fórmula (XIX)]; 6-desdiolivosil-6-β-D-amicetosil-

desoliosil-desmicarosil-3C-β-D-olivosil-3D-β-D-digitoxosil-MTM [fórmula (XX)], y 6-desdiolivosil-6-β-D-amicetosil-desoliosil-3C-β-D-olivosil-MTM [fórmula (XXI)].

Los derivados de MTM se ensayaron frente a una serie de líneas celulares procedentes de tumores. Se determinó cuantitativamente el crecimiento celular y la viabilidad, utilizando un ensayo tipo colorimétrico, usando la reacción con sulforrodamina B (SRB), según la técnica descrita por Faircloth y colaboradores (*Journal of Tissue and Culture Methods* 1988, 11, 201-205). Los resultados se muestran en la Tabla 12.

Se inoculan placas de "microtiter" de 96 pocillos, con células (5×10^3 células por pocillo) en alícuotas de 195 μl de medio, incubándolas durante 18 h, en medio sin compuesto añadido, para permitir que las células se adhieran a la superficie. A continuación, se añaden los compuestos a ensayar, en muestras de 5 μl, en un rango de concentraciones de 10 a 10^{-8} μg/ml, disueltas en DMSO/EtOH (0.2% en tampón PS). Tras 48 h de exposición, se mide el efecto antitumoral utilizando la técnica de SRB: se fijan las células añadiendo 50 μl de ácido tricloroacético frío al 50% (p/v) y se incuba durante 60 min. a 4°C. Las placas se lavan con agua desionizada y se secan. Se añaden 100 μl de solución de SRB (0.4% p/v en ácido acético al 1%) a cada pocillo, y se incuba durante 10 min. a temperatura ambiente. Se elimina la SRB no unida, lavando con ácido acético al 1%. Las placas se secan al aire y el colorante unido se disuelve con tampón Tris. Se leen las densidades ópticas en un lector espectrofotómetro de placas automático a una longitud de onda de 490 nm. En la Tabla 12 se muestran los resultados de las GI_{50} (inhibición del crecimiento). Los seis compuestos ensayados mostraron actividad citotóxica frente a las líneas tumorales ensayadas, siendo desmicarosil-3D-β-D-digitoxosil-MTM (fórmula VIII) el más activo (con actividad similar a la de MTM), y desmicarosil-MTM (fórmula XII) y 6-desdiolivosil-6-β-D-amicetosil-MTM (fórmula XIII) los menos activos.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LAS FIGURAS

Fig. 1. Estructura química de la mitramicina.

Fig. 2. Biosíntesis de mitramicina. Abreviaturas: AcO, acetato; MalO, malonato; Mtm PKS, policétido sintasa de mitramicina; preMTMone, premitramicinona; preMTM-A3, premitramicina A3; preMTM-B, premitramicina B; MTM, mitramicina.

Fig. 3A. Análisis por HPLC de un extracto de *Streptomyces argillaceus* (pFL845). Identificador de los picos: 1 = mitramicina (MTM); 2 = premitramicina A1 (preMTM); 3 = desmicarosil-MTM [fórmula (XII)]; 4 = 6-desdiolivosil-6-β-D-amicetosil-MTM [fórmula (XIII)];

Fig. 3B. Análisis por HPLC de un extracto de *Streptomyces argillaceus* (pLNBIV). Identificador de los picos: 1 = mitramicina (MTM); 2 = premitramicina A1 (preMTM); 3 = desmicarosil-MTM [fórmula (XII)], 3A-desolivosil-MTM (XI), y desmicarosil-3D-β-D-digitoxosil-MTM [fórmula (VIII)]; 4 = desoliosil-3C-α-L-digitoxosil-MTM [fórmula (IX)]; 5 = desoliosil-3C-β-D-micarosil-MTM [fórmula (X)].

Fig. 3C. Análisis por HPLC de un extracto de *Streptomyces argillaceus* (pFL942). Identificador de los picos: 1 = mitramicina (MTM); 2 = desmicarosil-3D-β-D-digitoxosil-MTM [fórmula (VIII)]; 3 = desoliosil-desmicarosil-3C-β-D-boivosil-MTM [fórmula (XVII)];

Fig. 3D. Análisis por HPLC de un extracto de *Streptomyces argillaceus* M7U1 (pFL845). Identificador de los picos: 1 = premitramicina A1 (preMTM); 2 = 6-desdiolivosil-6-β-D-amicetosil-desoliosil-desmicarosil-3C-β-D-boivosil-MTM [fórmula (XVIII)]; 3 = desoliosil-desmicarosil-3C-β-D-olivosil-3D-β-D-digitoxosil-MTM [fórmula (XIX)]; 4 = 6-desdiolivosil-6-β-D-amicetosil-desoliosil-desmicarosil-3C-β-D-olivosil-3D-β-D-digitoxosil-MTM [fórmula (XX)]; 5 = 6-desdiolivosil-6-β-D-amicetosil-desoliosil-3C-β-D-olivosil-MTM [fórmula (XXI)].

Fig. 4a. Estructuras químicas de desmicarosil-3D-β-D-digitoxosil-MTM (fórmula VIII), desoliosil-3C-α-L-digitoxosil-MTM [fórmula (IX)], desoliosil-3C-β-D-micarosil-MTM [fórmula (X)], 3A-desolivosil-MTM [fórmula (XI)], desmicarosil-MTM [fórmula (XII)], y 6-desdiolivosil-6-β-D-amicetosil-MTM [fórmula (XIII)].

Fig. 4b. Estructuras químicas de desoliosil-desmicarosil-3C-β-D-boivosil-MTM [fórmula (XVII)]; 6-desdiolivosil-6-β-D-amicetosil-desoliosil-desmicarosil-3C-β-D-boivosil-MTM [fórmula (XVIII)]; desoliosil-desmicarosil-3C-β-D-olivosil-3D-β-D-digitoxosil-MTM [fórmula (XIX)]; 6-desdiolivosil-6-β-D-amicetosil-desoliosil-desmicarosil-3C-β-D-olivosil-3D-β-D-digitoxosil-MTM [fórmula (XX)], y 6-desdiolivosil-6-β-D-amicetosil-desoliosil-3C-β-D-olivosil-MTM [fórmula (XXI)]

Tabla 1. Datos de ^1H - y ^{13}C -NMR de desmicarosil-3D- β -D-digitoxosil-MTM [fórmula (VIII)] (Piridina- d_5 , 400 MHz).

C	^1H -NMR δ (J/Hz)	^{13}C -NMR (δ)	Multiplicidad	HMBC	NOESY
1	-	204.3	C		
2	4.96 (d, $J = 11.6$ Hz)	78.7	CH	C-1, C-1(A*), C-3, C-4, C-1'	H-1(C*), H-3, H-4a, H-4e
3	3.48 (m)	42.8	C	C-2, C-4, C-1'	H-2, H-4a, H-4e, H-1'
4a	3.11 (dd, $J = 15.9$ y 3.6 Hz)	28.5	CH ₂	C-2, C-3, C-1'	H-3, H-2
4e	3.27 (dd, $J = 15.9$ y 13.0 Hz)				H-3, H-2
4a	-	137.2	C		
5	7.05 (s)	102.2	CH	C-6, C-8a, C-7, C-10	
6	-	160.4	C		H-10, H-1(A*), H-5(A*)
7	-	111.7	C		
7-CH ₃	2.47 (s)	9.4	CH ₃	C-6, C-7, C-8	
8	-	156.9	C		
8a	-	109.4	C		
9	-	165.7	C		
9a	-	108.9	C		
10	6.63 (s)	117.4	CH	C-5, C-5a, C-8a, C-9a	H-5, H-1(A*), H-4a, H-4e
10a	-	139.5	C		
1'	5.49 (d, $J = 1.2$ Hz)	83.1	CH	C-2, C-3, C-4, C-1'-Me, C-2'	H-2, H-3, H-1'(Me)
1'-CH ₃	3.69 (s)	59.1		C-1', C-2', C-3	
2'	-	213.5	C		
3'	4.70 (d, $J = 2.8$ Hz)	81.4	CH	C-2', C-4', C-5'	H-4', H-5'
4'	4.84 (dq, $J = 6.2$ y 2.8 Hz)	69.6	CH	C-2', C-3', C-5'	H-5', H-3'
5'	1.60 (d, $J = 6.2$ Hz)	19.7	CH ₃	C-3', C-4'	H-4'-H-3'
1A	5.68 (dd, $J = 9.6$ y 2.0 Hz)	97.9	CH	C-6	H-3(A*), H-5(A*), H-2a(A*), H-2e(A*), H-5, H-10
2aA	2.25 (ddd, $J = 12, 12$ y 9.6 Hz)	38.0	CH ₂	C-1(A*), C-3(A*), C-4(A*)	H-1(A*), H-4(A*)
2eA	2.72 (ddd, $J = 12, 5.0$ y 2.0 Hz)				H-1(A*), H-3(A*), H-2a(A*)
3A	4.29 (ddd, $J = 12, 9.0$ y 5.0 Hz)	80.1	CH ₂	C-1(B*), C-4(A*)	H-1(A*), H-1(B*)H-5(A*), H-2a(A*), H-2e(A*)

Tabla 1 (continuación)

C	¹ H-NMR δ (J/Hz)	¹³ C-NMR (δ)	Multiplicidad	HMBC	NOESY
4A	3.63 (t, J = 9.0 Hz)	76.1	CH	C-3(A*), C-5(A*), C-6(A*)	H-2a(A*), H-6(A*)
5A	4.00 (dq, J = 9.0 y 6.0 Hz)	73.9	CH	C-1(A*), C-3(A*), C-4(A*), C-6(A*)	H-1(A*)H-3(A*) H ₃ -6(A*)
6A	1.71 (d, J = 6.0 Hz)	19.4	CH ₃	C-4(A*), C-5(A*)	H-4(A*), H-5(A*)
1B	5.05 (dd, J = 9.6 y 2.0 Hz)	99.4	CH	C-3(A*),	H-2a(B*), 2e(B*)H-3(A*), H-3(B*), H-5(B*)
2aB	2.15 (ddd, J = 12, 12 y 9.6 Hz)	41.6	CH ₂	C-1(B*), C-3(B*), C-4(B*)	H-1(B*), H-4(B*)
2eB	2.65 (ddd, J = 12, 5.0 y 2.0 Hz)				H-1(B*)
3B	4.16 (ddd, J = 12, 9.0 y 5.0 Hz)	72.4	CH	C-4(B*)	H-2a(B*), H-2e(B*), H-1(B*), H-5(B*)
4B	3.58 (t, J = 9.0 Hz)	78.7	CH	C-3(B*), C-5(B*), C-6(B*)	H-2a(B*), H ₃ -6(B*)
5B	3.75 (dq, J = 9.0 y 6.0 Hz)	74.6	CH	C-1(B*)C-3(B*), C-4(B*)C-6(B*)	H-1(B*), H-3(B*), H ₃ -6(B*)
6B	1.64 (d, J = 6.0 Hz)	19.1	CH ₃	C-4(B*), C-5(B*)	H-5(B*)
1C	5.39 (dd, J = 9.6 y 2.0 Hz)	101.9	CH	C-2	H-2, H-3 (C*), H-5(C*), H-2e(C*)
2aC	2.02 (ddd, J = 12, 12 y 9.6 Hz)	38.7	CH ₂	C-1(C*), C-3(C*), C-4(C*)	H-4(C*)
2eC	2.99 (ddd, J = 12, 5.0 y 2.0 Hz)				H-1(C*)
3C	4.06 (ddd, J = 12, 9.0 ynd 5.0 Hz)	81.7	CH	C-1(D*), C-4(C*)	H-1(C*), H-1(D*), H-5(C*), H-2e(C*)
4C	3.46 (t, J = 9.0 Hz)	76.3	CH	C-3(C*), C-5(C*), C-6(C*)	H-2a(C*), H ₃ -6(C*)
5C	3.68 (dq, J = 9.0 y 6.0 Hz)	73.5	CH	C-4(C*), C-6(C*)	H-3(C*), H-1(C*), H ₃ -6(C*)
6C	1.59 (d, J = 6.0 Hz)	19.7	CH ₃	C-4(C*), C-5(C*)	H-5(C*), H-4(C*)
1D	4.78 (dd, J = 9.6 y 2.0 Hz)	100.4	CH	C-3(C*)	H-3(D*), H-5(D*), H-2e(D*), H-3(C*)
2aD	2.42 (ddd, J = 12, 12 y 9.6 Hz)	33.3	CH ₂	C-1(D*), C-3 (D*), C-4(D*)	H-1(D*)
2eD	2.18 (ddd, J = 12, 5.0 y 2.0 Hz)				
3D	4.22 (ddd, J = 12, 5.0 y 2.5 Hz)	77.2	CH	C-1(E*), C-4(D*)	H-1(D*), H-2e(D*), H-5(D*), H-1(E*)
4D	4.10 (brd, J = 2.5 Hz)	70.2	CH	C-3(D*), C-5(D*)	H ₃ -6(D*)
5D	3.71 (dq, J = 6.0 y 2.5 Hz)	74.6	CH	C-4(D*), C-6(D*)	H-1(D*), H-3(D*), H ₃ -6(D*)
6D	1.54 (d, J = 6.0 Hz)	19.4	CH ₃	C-4(D*), C-5(D*)	H-5(D*)
1E	5.62 (dd, J = 9.6 y 2.0 Hz)	97.8	CH	C-3(D*)	H-5(E*), H-2a(E*)H-2e(E*), H-3(D*)

Tabla 1 (continuación)

C	¹ H-NMR δ (J en Hz)	¹³ C-NMR (δ)	Multiplicidad	HMBC	NOESY
2aE	2.00 (ddd, J = 12, 9.6 y 3.0 Hz)	40.3	CH ₂	C-1(E*), C-3(E*), C-4(E*)	H-1(E*), H-2a(E*)
2e-E	2.45 (ddd, J = 12, 3.0 y 2.0 Hz)				
3E	4.45 (ddd, J = 3.0, 3.0, y 3.0 Hz)	69.1	CH	C-4(E*)	H-4(E*)
4E	3.62 (dd, J = 9.2 y 3.0 Hz)	72.4	CH	C-3(E*), C-5(E*)	H-2a(E*), H-3(E*), H ₃ -6(E*)
5E	4.42 (dq, J = 9.2 y 6.0 Hz)	71.2	CH	C-1(E*), C-4(E*), C-6(E*)	H ₃ -6(E*), H-1(E*)
6E	1.61 (d, J = 6.0 Hz)	17.9	CH ₃	C-4(E*), C-5(E*)	H-5(E*)
*A=B=C=D=E: azúcares					

Tabla 2. Datos de ^1H - y ^{13}C -NMR de desoliosil-3C- α -L-digitoxosil-MTM [fórmula (IX)] (Piridina- d_5 , 400 MHz).

C	^1H -NMR δ (J en Hz)	^{13}C -NMR (δ)	C	HMBC	NOESY
1	-	204.2	C		
2	4.93 (d, J = 11.6 Hz)	77.9	CH	C-1, C-1(A*), C-3, C-4, C-1'	H-1(C*), H-3, H-4a, H-4e
3	3.41 (m)	42.8	C	C-2, C-4, C-1'	H-2, H-4a, H-4e, H-1'
4a	3.08 (dd, J = 15.9 y 3.6 Hz)	28.2	CH ₂	C-2, C-3, C-1'	H-3, H-2
4e	3.26 (dd, J = 15.9 y 13.0 Hz)				H-3, H-2
4a	-	137.2	C		
5	7.04(s)	102.1	CH	C-6, C-8a, C-7, C-10	
6	-	160.4	C		H-10, H-1(A*), H-5(A*)
7	-	111.6	C		
7-CH ₃	2.47 (s)	9.4	CH ₃	C-6, C-7, C-8	
8	-	157.0	C		
8a	-	109.4	C		
9	-	165.7	C		
9a	-	108.9	C		
10	6.61 (s)	117.4	CH	C-5, C-5a, C-8a, C-9a	H-5, H-1(A*), H-4a, H-4e
10a	-	139.4	C		
1'	5.46 (d, J = 1.2 Hz)	83.1	CH	C-2, C-3, C-4, C-1'-CH ₃ , C-2'	H-2, H-3, H-1'(Me)
1'-CH ₃	3.69 (s)	59.4	CH ₃	C-1', C-2', C-3	
2'	-	213.4	C		
3'	4.71 (d, J = 2.8 Hz)	81.3	CH	C-2', C-4', C-5'	H-4', H-5'
4'	4.84 (dq, J = 6.2 y 2.8 Hz)	69.6	CH	C-2', C-3', C-5'	H-5', H-3'
5'	1.58 (d, J = 6.2 Hz)	21.1	CH ₃	C-3', C-4'	H-4'-H-3'
1A	5.67 (dd, J = 9.6 y 2.0 Hz)	97.9	CH	C-6	H-5, H-10, H-3(A*), H-5(A*), H-2a(A*), H-2e(A*)
2aA	2.24 (ddd, J = 12, 12 y 9.6 Hz)	37.7	CH ₂	C-1(A*), C-3(A*)	H-1(A*), H-4(A*)
2eA	2.73 (ddd, J = 12, 5.0 y 2.0 Hz)				H-1(A*)
3A	4.29 (ddd, J = 12.9.0 y 5.0 Hz)	80.1	CH ₂	C-1(B*), C-4(A*)	H-1(A*), H-1(B*), H-5(A*), H-2e(A*)

Tabla 2 (continuación)

C	¹ H-NMR δ (J en Hz)	¹³ C-NMR (δ)	C	HMBC	NOESY
4A	3.63 (t, J = 9.0 Hz)	76.1	CH	C-3(A*), C-5(A*), C-6(A*)	H-2a(A*), H ₃ -6(A*)
5A	4.00 (dq, J = 9.0 y 6.0 Hz)	73.9	CH	C-4(A*), C-6(A*)	H-1(A*), H-3(A*), H-4(A*), H ₃ -6(A*)
6A	1.71 (d, J = 6.0 Hz)	19.6	CH ₃	C-4(A*), C-5(A*)	H-4(A*), H-5(A*),
1B	5.05 (dd, J = 9.6 y 2.0 Hz)	99.3	CH	C-3(A*)	H-3(A*), H-3(B*), H-5(B*), H-2a(B*), 2e(B*)
2aB	2.17 (ddd, J = 12, 12 y 9.6 Hz)	41.6	CH ₂	C-1(B*), C-3(B*)	H-1(B*), H-4(B*)
2eB	2.65 (ddd, J = 12, 5.0 y 2.0 Hz)				H-1(B*)
3B	4.15 (ddd, J = 12, 9.0 y 5.0 Hz)	72.4	CH	C-1(B*), C-4(B*)	H-1(B*), H-4(B*), H-5(B*),
4B	3.58 (q, J = 9.0 Hz)	78.7	CH	C-3(B*), C-5(B*), C-6(B*)	H-2a(B*), H-3(B*), H-5(B*), H ₃ -6(B*)
5B	3.75 (dq, J = 9.0 y 6.2 Hz)	74.0	CH	C-4(B*), C-6(B*)	H-1(B*), H-3(B*), H-4(B*), H ₃ -6(B*),
6B	1.64 (d, J = 6.2 Hz)	19.3	CH ₃	C-4(B*), C-5(B*)	H-4(B*), H-5(B*)
1C	5.37 (dd, J = 9.6 y 2.0 Hz)	101.9	CH	C-2	H-2, H-3(C*), H-5(C*), H-2e(C*), H-2a(C*)
2aC	1.93 (ddd, J = 12, 12 y 9.6 Hz)	37.7	CH ₂	C-3(C*)	H-4(C*)
2eC	2.98 (ddd, J = 12, 5.0 y 2.0 Hz)				H-1(C*), H-1(D*), H-3(C*), H-2a(C*)
3C	4.08 (ddd, J = 12, 9.0 y 5.0 Hz)	77.9	CH	C-1(D*), C-4(C*)	H-1(C*), H-5(C*), H-4(C*), H-2e(C*)
4C	3.48 (t, J = 9.0 Hz)	76.5	CH	C-3(C*), C-6(C*)	H-2a(C*), H-5(C*), H-6(C*)
5C	3.68 (dq, J = 9.0 y 6.0 Hz)	73.4	CH	C-4(C*), C-6(C*)	H-1(C*), H-3(C*), H-4(C*) H ₃ -6(C*)
6C	1.57 (d, J = 6.0 Hz)	19.4	CH ₃	C-4(C*), C-5(C*)	H-4(C*), H-5(C*)
ID	5.22 (dd, J = 4.0 y 2.3 Hz)	94.89	CH	C-3(C*)	H-3(D*), H-2e(C*), H-2e(D*), H-2a(D*)
2aD	2.02 (ddd, J = 14.4, 4.0 y 3.0 Hz)	34.6	CH ₂	C-1(D*), C-3(D*)	H-1(D*), H-3(D*), H-2e(D*)
2eD	2.35(ddd, J = 14.4, 3.0 y 2.3 Hz)				H-1(D*), H-3(D*), H-2a(D*)
3D	4.39 (ddd, J = 3.0, 3.0 y 3.0 Hz)	75.2	CH	C-1(D*), C-4(D*), C-5(D*)	H-1(D*), H-2a(D*), H-2e(D*)
4D	3.67 (dd, J = 9.0 y 3.0 Hz)	72.8	CH	C-5(D*), C-6(D*), C-1(E*)	H-5(D*), H ₃ -6(D*), H-1(E*),
5D	4.69 (dq, J = 9.0 y 6.2 Hz)	67.4	CH	C-4(D*), C-6(D*)	H-1(D*), H-4(D*), H ₃ -6(D*)
6D	1.54 (d, J = 6.2 Hz)	18.9	CH ₃	C-4(D*), C-5(D*)	H-4(D*), H-5(D*)
1E	5.44 (dd, J = 9.6 y 2.0 Hz)	98.7	CH	C-4(D*)	H-2a(E*), H-2e(E*), H-4D*, H-5(E*)
2aE	1.86 (dd, J = 13.0, y 9.0 Hz)	45.5	CH ₂	C-1(E*), C-3(E*)	H-1(E*), H-4(E*)

Tabla 2 (continuación)

C	¹ H-NMR δ (J en Hz)	¹³ C-NMR (δ)	C	HMBC	NOESY
2eE	2.41 (dd, J = 13.0 y 2.0 Hz)				H-1(E*)
3E	-	71.4	CH		
4E	3.31 (d, J = 9.2 Hz)	77.8	CH	C-3(E*)Me, C-5(E*), C-6(E*)	H-2a(E*), H ₃ -3(E*), H-5(E*), H ₃ -6(E*)
5E	4.22 (dq, J = 9.2 y 6.0 Hz)	72.2	CH		H-5(E*), H ₃ -6(E*)
6E	1.60 (d, J = 6.0 Hz)	19.1	CH ₃	C-4(E*), C-5(E*)	H-4(E*), H-5(E*)
3E-Me	1.4 (s)	28.2	CH ₃	C-3 (E*), C-4 (E*), C-2(E*)	H-4(E*)
*A=B=C=D=E: azúcares					

Tabla 3. Datos de ^1H - y ^{13}C -NMR de desoliosil-3C- β -D-micarosil-MTM [fórmula (X)] (Piridina- d_5 , 400 MHz).

C	^1H -NMR δ (J en Hz)	^{13}C -NMR (δ)	Multiplicidad	HMBC	NOESY
1	-	204.2	C		
2	4.96 (d, J = 11.6 Hz)	77.9	CH	C-1, C-1(A*), C-3, C-4, C-1'	H-1(C*), H-3, H-4a, H-4e
3	3.48 (m)	42.6	C	C-2, C-4, C-1'	H-2, H-4a, H-4e, H-1'
4a	3.10 (dd, J = 15.9 y 3.6 Hz)	28.2	CH_2	C-2, C-3, C-1'	H-3, H-2
4e	3.27 (dd, J = 15.9 y 13.0 Hz)				H-3, H-2
4a	-	137.2	C		
5	7.04 (s)	102.2	CH	C-6, C-8a, C-7, C-10	
6	-	160.5	C		H-10, H-1(A*), H-5(A*)
7	-	111.2	C		
7- CH_3	2.47 (s)	8.9	CH_3	C-6, C-7, C-8	
8	-	157.0	C		
8a	-	109.3	C		
9	-	166.0	C		
9a	-	108.2	C		
10	6.62 (s)	117.4	CH	C-5, C-5a, C-8a, C-9a	H-5, H-1(A), H-4a, H-4e
10a	-	139.4	C		
1'	5.49 (d, J = 1.2 Hz)	83.0	CH	C-2, C-3, C-4, C-1'- CH_3 , C-2'	H-2, H-3, H-1'(Me)
1'- CH_3	3.71 (s)	59.1		C-1', C-2', C-3	
2'	-	213.2	C		
3'	4.71 (d, J = 2.8 Hz)	81.0	CH	C-2', C-4', C-5'	H-4', H-5'
4'	4.84 (dq, J = 6.2 y 2.8 Hz)	69.3	CH	C-2', C-3', C-5'	H-5', H-3'
5'	1.60 (d, J = 6.2 Hz)	20.7	CH_3	C-3', C-4'	H-4'-H-3'
1A	5.67 (dd, J = 9.6 y 2.0 Hz)	97.9	CH	C-6	H-5, H-5(A*), H-3(A*), H-2e(A*), H-10
2aA 2eA	2.25 (ddd, J = 12, 12 y 9.6 Hz) 2.72 (ddd, J = 12, 5.0 y 2.0 Hz)	37.6	CH_2	C-1(A*), C-3(A*)	H-4(A*), H-1(A*)

Tabla 3 (continuación)

C	$^1\text{H-NMR } \delta$ (J en Hz)	$^{13}\text{C-NMR}$ (δ)	Multiplicity	HMBC	NOESY
3A	4.28 (ddd, J = 12, 9.0 y 5.0 Hz)	80.0	CH ₂	C-1(B*), C-4(A*)	H-1(A*), H-1(B*), H-5(A*)
4A	3.63 (t, J = 9.0 Hz)	75.9	CH	C-3(A*), C-5(A*), C-6(A*)	H-2a(A*), H ₃ -6(A*)
5A	3.99 (dq, J = 9.0 y 6.0 Hz)	73.8	CH	C-4(A*), C-6(A*)	H-1(A*), H-3(A*), H ₃ -6(A*)
6A	1.71 (d, J = 6.0 Hz)	19.0	CH ₃	C-5(A*), C-4(A*)	H-4(A*), H-5(A*)
1B	5.05 (dd, J = 9.6 y 2.0 Hz)	99.4	CH	C-3(A*)	H-3(B*), H-3(A*), H-2e(B*), H-2e(B*), H-5(B*)
2aB 2eB	2.17 (ddd, J = 12, 12 y 9.6 Hz) 2.65 (ddd, J = 12, 5.0 y 2.0 Hz)	41.2	CH ₂	C-1(B*), C-3(B*)	H-1(B*), H-4(B*) H-1(B*)
3B	4.14 (ddd, J = 12, 9.0 y 5.0 Hz)	72.1	CH	C-4(B*)	H-3(A*), H-1(B*), H-5(B*)
4B	3.58 (t, J = 9.0 Hz)	78.5	CH	C-5(B*), C-6(B*)	H-2a(B*)
SB	3.75 (dq, J = 9.0 y 6.0 Hz)	73.7	CH	C-4(B*), C-6(B*)	H-1(B*), H-3(B*), H ₃ -6(B*)
6B	1.64 (d, J = 6.0 Hz)	18.9	CH ₃	C-4(B*), C-5(B*)	H-5(B*)
1C	5.40 (dd, J = 9.6 y 2.0 Hz)	101.6	CH	C-2	H-2, H-3(C*), H-5(C*), H-2e(C*)
2aC 2eC	2.02 (ddd, J = 12, 12 y 9.6 Hz) 2.99 (ddd, J = 12, 5.0 y 2.0 Hz)	38.5	CH ₂	C-3(C*)	H-4(C*)
3C	4.03 (ddd, J = 12, 9.0 y 5.0 Hz)	81.1	CH	C-1(D*), C-4(C*)	H-1(C*), H-1(D*), H-5(C*), H-2e(C*)
4C	3.48 (t, J = 9.0 Hz)	76.3	CH	C-3(C*), C-5(C*)	H-2a(CV), H ₃ -6(C*)
5C	3.69 (dq, J = 9.0 y 6.0 Hz)	73.6	CH	C-4(C*), C-6(C*)	H-3(C*), H-1(CV), H ₃ -6(C*)

Tabla 3 (continuación)

C	¹ H-NMR δ (J en Hz)	¹³ C-NMR (δ)	Multiplicidad	HMBC	NOESY
6C	1.58 (d, J = 6.0 Hz)	18.7	CH ₃	C-4(C*),C-5(C*)	H-4(C*), H-5(C*)
1D	5.46 (dd, J= 9.6 y 2.0 Hz)	98.9	CH	C-3(C*)	H-3(C*), H-5(D*)
2aD 2eD	1.86 (dd, J= 13.0 y 9.6 Hz) 2.33 (dd, J= 13.0 y 2.0 Hz)	45.2	CH ₂	C-1(D*),C-3(D*),	H-2e(D*)
3D	-	71.2	CH		H-4(D*)
4D	3.35 (d, J = 9.2 Hz)	77.4	CH	C-3(D*),C-5(D*)	
5D	4.29 (dq, J= 9.2 y 6.2 Hz)	72.1	CH	C-4(D*),C-6(D*)	H-1(D*)
6D	1.61 (d, J = 6.2 Hz)	19.0	CH ₃	C-4(D*),C-5(D*)	H-5(D*), H-3D-Me
3D-Me	1.50	27.9	CH ₃	C-2(D*),C-4(D*), C-3(D*)	H-4(D*)
* A=B=C=D: azúcares					

Tabla 4. Datos de ¹H- y ¹³C-NMR de 3A-desolivosil-MTM [fórmula (XI)] (Piridina-d₅, 400 MHz).

C	¹ H-NMR δ (J en Hz)	¹³ C-NMR (δ)	C	HMBC	NOESY
1	-	204.4	C	-	
2	4.96 (d, J = 11.6 Hz)	77.9	CH	C-1,C-1(A*),C-3,C-4,C-1'	H-1(C),H-3,H-4a,H-4e
3	3.48 (m)	42.6	C	C-2,C-4,C-1'	H-2,H-4a,H-4e,H-1'
4a 4e	3.12 (dd, J = 15.9 y 3.6 Hz) 3.26 (dd, J = 15.9 y 13.0 Hz)	28.1	CH ₂	C-2,C-3,C-1'	H-3, H-2 H-3, H-2
4a	-	137.2	C		
5	7.04 (s)	102.2	CH	C-6,C-8a,C-7,C-10	
6	-	160.6	C		H-10,H-1(A*),H-5(A*)
7	-	111.7	C		
7-CH ₃	2.48 (s)	8.9	CH ₃	C-6,C-7,C-8	

Tabla 4 (continuación)

C	¹ H-NMR δ (J en Hz)	¹³ C-NMR (δ)	C	HMBC	NOESY
8	-	157.0	C		
8a	-	109.4	C		
9	-	165.9	C		
9a	-	108.9	C		
10	6.62 (s)	117.4	CH	C-5, C-5a, C-8a, C-9a	H-5, H-1(A*), H-4a, H-4e
10a	-	139.5	C		
1'	5.49 (d, J = 1.2 Hz)	83.0	CH	C-2, C-3, C-4, C-1'-CH ₃ , C-2'	H-2, H-3, H-1'(Me)
1'-CH ₃	3.69 (s)	59.1		C-1', C-2', C-3	
2'	-	213.5	C		
3'	4.70 (d, J = 2.8 Hz)	81.1	CH	C-2', C-4', C-5'	H-4', H-5'
4'	4.84 (dq, J = 6.0 y 2.8 Hz)	69.4	CH	C-2', C-3', C-5'	H-5', H-3'
5'	1.59 (d, J = 6.0 Hz)	20.7	CH ₃	C-3', C-4'	H-4'-H-3'
1A	5.63 (dd, J = 9.6 y 2.0 Hz)	98.0	CH	C-6	H-5, H-3(A*), H-(5), H-2e(A*)
2aA 2eA	2.00 (ddd, J = 12.0, 12.0 y 9.6 Hz) 2.73 (ddd, J = 12.0, 5.0 y 2.0 Hz)	36.7	CH ₂	C-1(A*), C-3(A*), C-4(A*)	H-4(A*) H-1(A*)
3A	4.35 (ddd, J = 12, 9.2 y 5.0 Hz)	74.2	CH ₂	C-2(A*), C-4(A*)	H-1(A*), H-(5*)
4A	3.63 (t, 9.2)	75.4	CH	C-3(A*), C-5(A*), C-6(A*)	H-2a(A*), H ₃ -6(A*)
5A	4.01 (dq, J = 9.2 y 6.0 Hz)	73.8	CH	C-1(A*), C-3(A*), C-4(A*), C-6(A*)	H-1(A*), H-4(A*), H ₃ -6(A*)
6A	1.70 (d, J = 6.0 Hz)	19.4	CH ₃	C-4(A*), C-5(A*)	H-4(A*), H-5(A*)

Tabla 4 (continuación)

C	¹ H-NMR δ (J en Hz)	¹³ C-NMR (δ)	C	HMBC	NOESY
1B	5.40 (dd, J = 9.6 y 2.0 Hz)	101.7	CH	C-2	H-2,H-5(B*),H-3(B*),H-2e(B*)
2aB	2.02 (ddd, J = 12, 12 y 9.6 Hz)	38.4	CH ₂	C-1(B*),C-3(B*),C-4(B*)	H-4(B*)
2eB	2.99 (ddd, J = 12, 5.0 y 2.0 Hz)				H-1(B*)
3B	4.06 (ddd, J = 12, 9.0 y 5.0 Hz)	81.6	CH	C-1(C*),C-4(B*)	H-1(B*),H-5(B*),H-1(C*)
4B	3.47 (t, J = 9.0 Hz)	76.2	CH	C-3(B*),C-5(B*),C-6(B*)	H-2a(B*),H,-6(B*)
5B	3.67 (dq, J = 9.0 y 6.0 Hz)	73.3	CH	C-1(B*),C-4(B*),C-6(B*)	H-1(B*), H-3(B*), H ₃ -6(B*)
6B	1.60 (d, J = 6.0 Hz)	18.9	CH ₃	C-4(B*),C-5(B*)	H-5(B*)
1C	4.79 (dd, J = 9.6 y 2.0 Hz)	100.3	CH	C-3(B*)	H-3(B*),H-3(C*),H-5(C*)
2aC	2.42 (ddd, J = 12, 12 y 9.6 Hz)	33.1	CH ₂	C-1(C*),C-3(C*),C-4(C*)	
2eC	2.18 (ddd, J = 12, 5.0 y 2.0 Hz)				
3C	4.21 (ddd, J = 12, 5.0 y 2.5 Hz)	77.0	CH	C-1(D*),C-4(C*)	H-1(C*),H-5(C*),H-1(D*)

Tabla 4 (continuación)

C	¹ H-NMR δ (J en Hz)	¹³ C-NMR (δ)	C	HMBC	NOESY
4C	4.10 (brd, J = 2.5 Hz)	69.9	CH	C-3(C*),C-5(C*)	H-5(C*),H ₃ -6(C*)
5C	3.75 (dq, J = 6.2 y 2.5 Hz)	72.1	CH	C-1(C*),C-4(C*),C-6(C*)	H-1(C*),H-3(C*), H-4(C*),
6C	1.54 (d, J = 6.2 Hz)	17.5	CH ₃	C-4(C*),C-5(C*)	H-4(C*), H-5(C*)
1D	5.55 (dd, J = 9.6 y 2.0 Hz)	98.4	CH	C-3(C*)	H-2a(D*),H-2e(D*),H-5(D*),H-3(C*)
2aD	1.89 (dd, J = 13.0 y 9.6 Hz)	45.5	CH ₂	C-1(D*),C-3(D*),C-4(D*)	H-1(D*), H-4(D*)
2eD	2.32 (dd, J = 13.0 y 2.0 Hz)				H-1(D*)
3D	-	71.2	CH		H-1(D*)
4D	3.38 8 (d, J = 9.2 Hz)	77.7	CH	C-3(D*),C-5(D*)	H ₃ -3(D*),H ₃ -6(D*),H ₂ a(D*)
5D	4.29 (dq, J = 9.2 y 6.0 Hz)	71.9	CH	C-1(D*),C-4(D*), C-6(D*)	H-1(D*), H ₃ -6(D*)
6D	1.61 (d, J = 6.0 Hz)	19.0	CH ₃	C-4(D*),C-5(D*)	H-4(D*), H-5(D*)
3D-Me	1.5 (s)	28.2	CH ₃	C-2(D*),C-4(D*), C-3(D*)	H-4(D*)
*A=B=C=D: azúcares					

Tabla 5: Datos de ¹H- y ¹³C-NMR de desmicarosil-MTM [fórmula (XII)] (Piridina-d₅, 400 MHz).

Posición	¹ H-NMR, 400 MHz; δ en ppm, Multiplicidad (J en Hz)	¹³ C-NMR, 100.6 MHz; δ en ppm	Multiplicidad	HMBC	NOESY
1	-	204.4	C		
2	4.95 d (11.6)	78.0	CH	C-1, C-1C, C- 3, C-4, C-1'	H-1C, H-3, H-4a, H-4e
3	3.48 (m)	42.6	C	C-2, C-4, C-1'	H-2, H-4a, H-4e, H-1'
4a	3.10 dd (5.9 y 3.6)	28.5	CH ₂	C-2, C-3, C-1'	H-3, H-2
4e	3.26 dd (15.9 y 13.0)				H-3, H-2
4a	-	137.2	C		

Tabla 5 (continuación)

Posición	¹ H-NMR, 400 MHz; δ en ppm, Multiplicidad (J en Hz)	¹³ C-NMR, 100.6 MHz; δ en ppm	Multiplicidad	HMBC	NOESY
5	7.04 (s)	102.1	CH	C-6, C-8a, C-7, C-10	H-10, H-1A, H-5A
6	-	160.5	C		
7	-	111.7	C		
7-CH ₃	2.47 (s)	9.1	CH ₃	C-6, C-7, C-8	
8	-	156.9	C		
8a	-	109.3	C		
9	-	165.7	C		
9a	-	108.8	C		
10	6.63 (s)	117.4	CH	C-5, C-8a, C-9a, C-10a	H-5, H-1A, H-4a, H-4e
10a	-	139.5	C		
1'	5.47 d (1.2)	83.0	CH	C-2, C-3, C-4, 1'-OCH ₃ , C-2'	H-2, H-3, 1'-OCH ₃
1'-OCH ₃	3.69 (s)	59.2		C-1', C-2', C-3	
2'	-	213.5	C		
3'	4.69 d (2.8)	81.2	CH	C-2', C-4', C-5'	H-4', H-5'
4'	4.84 dq (6.2 y 2.8)	69.5	CH	C-2', C-3', C-5'	H-5', H-3'
5'	1.58 d (6.2)	20.8	CH ₃	C-3', C-4'	H-4', H-3'
1A	5.68 dd (9.6 y 2.0)	97.9	CH	C-6	H-2Ae, H-3A, H-5A, H-5, H-10
2Aa	2.25 ddd (12, 12 y 9.6)	37.8	CH ₂	C-1A, C-3A, C-4A	H-2Ae, H-4A,
2Ae	2.72 ddd (12, 5.0 y 2.0)				H-1A, H-3A, H-2Aa
3A	4.29 ddd (12, 9.0 y 5.0)	80.1	CH ₂	C-1B, C-4A	H-1A, H-1B, H-5A, H-2Ae
4A	3.62 t (9.0)	75.9	CH	C-3A, C-5A, C-6A	H-2aA, H ₃ -6A
5A	4.02 dq (9.0 y 6.0)	73.7	CH	C-1A, C-3A, C-4A, C-6A	H-1A, H-3A, H ₃ -6A
6A	1.70 d (6.0)	19.2	CH ₃	C-4A, C-5A	H-4A, H-5A
1B	5.05 dd (9.6 y 2.0)	99.3	CH	C-3A,	H-2Be, H-3A, H-3B, H-5B
2Ba	2.17 ddd (12, 12 y 9.6)	41.4	CH ₂	C-1B, C-3B, C-4B	H-2Be, H-4B,
2Be	2.64 ddd (12, 5.0 y 2.0)				H-1B, H-3B, H-2Ba
3B	4.14 ddd (12, 9.0 y 5.0)	72.2	CH	C-4B	H-1B, H-2Be, H-5B
4B	3.58 t (9.0)	78.5	CH	C-3B, C-5B, C-6B	H-2Ba, H ₃ -6B
5B	3.75 dq (9.0 y 6.0)	72.5	CH	C-1B, C-3B, C-4B, C-6B	H-1B, H-3B, H ₃ -6B
6B	1.64 d (6.0)	19.1	CH ₃	C-4B, C-5B	H-4B, H-5B

Tabla 5 (continuación)

Posición	¹ H-NMR, 400 MHz; δ en ppm, Multiplicidad (J en Hz)	¹³ C-NMR, 100.6 MHz; δ en ppm	Multiplicidad	HMBC	NOESY
1C	5.39 dd (J = 9.6 y 2.0z)	101.8	CH	C-2	H-2, H-3C, H-5C, H-2Ce
2Ca	2.00 ddd (12, 12 y 9.6)	38.5	CH ₂	C-1C, C-3C, C-4C	H-2Ce, H-4C,
2Ce	2.96 ddd (12, 5.0 y 2.0)				H-1C, H-3C, H-2Ca
3C	4.06 ddd (12, 9.0 y 5.0)	81.5	CH	C-1D, C-4C	H-1C, H-1D, H-5C, H-2Ce
4C	3.47 t (9.0)	76.3	CH	C-3C, C-5C, C-6C	H-2aC, H ₃ -6C
5C	3.68 dq (9.0 y 6.0)	73.4	CH	C-1C, C-4C, C-6C	H-3C, H-1C, H ₃ -6C
6C	1.61 d (6.0)	18.9	CH ₃	C-4C, C-5C	H-4C, H-5C
1D	4.79 dd (9.6 y 2.0)	100.6	CH	C-3C	H-3C, H-3D, H-5D, H-2e-D
2Da	2.44 ddd (12, 12 y 9.6)	36.4	CH ₂	C-1D, C-3D, C-4D	H-2De, H-4D,
2De	2.30 ddd (12, 5.0 y 2.0)				H-1D, H-3D, H-2Da
3D	4.18 ddd (12, 5.0 y 2.5)	70.0	CH	C-2D, C-4D	H-1D, H-2De, H-5D
4D	3.92 brd (2.5)	71.2	CH	C-3D, C-5D	H ₃ -6D
5D	3.73 dq (6.0 y 2.5)	73.8	CH	C-4D, C-6D	H-1D, H-3D, H ₃ -6D
6D	1.57 d (6.0)	17.7	CH ₃	C-4D, C-5D	H-4D, H-5D

*A=B=C=D: azúcares

Tabla 6: Datos de ¹H- y ¹³C-NMR de 6-desdiolivosil-6-β-D-amicetosil-MTM [fórmula (XIII)] (Piridina-d₅, 400 MHz).

Posición	¹ H-NMR, 400 MHz; δ en ppm, multiplicidad (J en Hz)	¹³ C-NMR, 100.6 MHz; δ en ppm	Multiplicidad	HMBC	NOESY
1	-	204.4	C		
2	4.95 d (11.6)	78.0	CH	C-1, C-1C, C-3, C-4, C-1'	H-1C, H-3, H-4a, H-4e
3	3.48 (m)	42.5	C	C-2, C-4, C-1'	H-2, H-4a, H-4e, H-1'
4a	3.12 dd (15.9 y 3.6)	28.3	CH ₂	C-2, C-3, C-1'	H-3, H-2
4e	3.30 dd (15.9 y 13.0)				H-3, H-2
4a	-	137.1	C		
5	7.05 (s)	102.2	CH	C-6, C-8a, C-7, C-10	H-10, H-1A, H-5A
6	-	160.6	C		
7	-	111.7	C		
7-CH ₃	2.45 (s)	9.1	CH ₃	C-6, C-7, C-8	
8	-	156.9	C		
8a	-	109.3	C		
9	-	165.8	C		
9a	-	108.7	C		

Tabla 6 (continuación)

Posición	¹ H-NMR, 400 MHz; δ en ppm, Multiplicidad (<i>J</i> en Hz)	¹³ C-NMR, 100.6 MHz; δ en ppm	Multiplicidad	HMBC	NOESY
10	6.65 (s)	117.4	CH	C-5, C-8a, C-9a, C-10a	H-5, H-1A, H-4a, H-4e
10a	-	139.5	C		
1'	5.49 d (1.2)	83.0	CH	C-2, C-3, C-4, 1'-OCH ₃ , C-2'	H-2, H-3, 1'-OCH ₃
1'-OCH ₃	3.69 (s)	59.1	CH ₃	C-1', C-2', C-3	
2'	-	213.7	C		
3'	4.70 d (2.8)	81.3	CH	C-2', C-4', C-5'	H-4', H-5'
4'	4.85 dq (6.2 y 2.8)	69.5	CH	C-2', C-3', C-5'	H-5', H-3'
5'	1.59 d (6.2)	20.9	CH ₃	C-3', C-4'	H-4', H-3'
1A	5.60 dd (8.64 y 2.5)	98.4	CH	C-6	H-2Aa, H-3Aa, H-5, H-5A,
2Aa	2.12 (m)	32.0	CH ₂	C-1A, C-3A, C-4A	H-1A, H-4A, H-2Ae
2Ae					H-1A, H-2Aa, H-3Aa
3Aa	1.97 (m)	31.4	CH ₂	C-2A, C-4A	H-1A, H-5A, H-3Ae
3Ae	2.35 (m)				H-3Aa, H ₃ -6A
4A	3.67 (m)	71.3	CH	C-3A, C-5A, C-6A	H-2Aa, H ₃ -6A
5A	4.00 dq (8.5 y 6.0)	77.8	CH	C-1A, C-3A, C-4A, C-6A	H-1A, H-3Aa, H ₃ -6A
6A	1.67 d (6.0)	19.4	CH ₃	C-4A, C-5A	H-4A, H-5A
1C	5.39 dd (9.6 y 2.0)	101.8	CH	C-2	H-2, H-2Ce, H-3C, H-5C
2Ca	2.02 ddd (12, 12 y 9.6)	38.5	CH ₂	C-1C, C-3C, C-4C	H-4C
2Ce	2.99 ddd (12, 5.0 y 2.0)				H-1C
3C	4.05 ddd (12, 9.0 y 5.0)	81.5	CH	C-1D, C-4C	H-1C, H-1D, H-5C, H-2Ce
4C	3.46 t (9.0)	76.2	CH	C-3C, C-5C, C-6C	H-2Ca, H ₃ -6C
5C	3.68 dq (9.0 y 6.0)	73.3	CH	C-1C, C-4C, C-6C	H-1C, H-3C, H ₃ -6C
6C	1.61 d (6.0)	19.5	CH ₃	C-4C, C-5C	H-4C, H-5C
1D	4.79 dd (9.6 y 2.0)	100.3	CH	C-3C	H-3C, H-3D, H-2De, H-5D
2Da	2.42 ddd (12, 12 y 9.6)	33.1	CH ₂	C-1D, C-3D, C-4D	
2De	2.22 ddd (12, 5.0 y 2.0)				H-1D
3D	4.22 ddd (12, 5.0 y 2.5)	77.0	CH	C-1E, C-4D	H-1E, H-1D, H-2De, H-5D
4D	4.10 br.d (2.5)	70.0	CH	C-3D, C-5D	H ₃ -6D
5D	3.75 dq (6.0 y 2.5)	72.2	CH	C-1D, C-4D, C-6D	H-1D, H-3D, H ₃ -6D
6D	1.54 d (6.0)	17.6	CH ₃	C-4D, C-5D	H-5D

Tabla 6 (continuación)

Posición	$^1\text{H-NMR}$, 400 MHz; δ en ppm, multiplicidad (J en Hz)	$^{13}\text{C-NMR}$, 100.6 MHz; δ en ppm	Multiplicidad	HMBC	NOESY
1E	5.55 dd (9.6 y 2.0)	99.6	CH	C-3D	H-5E, H-3D, H-2Ea, H-2Ee
2Ea	1.86 dd (13.1 y 9.6)	45.6	CH ₂	C-1E, C-3E, C-4E	H-4E, H-2Ee
2Ee	2.33 dd (13.1 y 2.0)				H-1E, H-2Ea
3E	-	71.3	C		-
3E-CH ₃	1.58 (s)	28.2	CH ₃	C-2E, C-4E, C-3E	H-4E
4E	3.37 d (9.2)	77.8	CH	C-3E, C-5E	H-2aE, H ₃ -3E, H ₃ -6E
5E	4.28 dq (9.2 y 6.0)	72.9	CH	C-1E, C-4E, C-6E	H-1E, H ₃ -6E
6E	1.61 d (6.0)	19.1	CH ₃	C-4E, C-5E	H-5E

*A=B=C=D=E: azúcares

Tabla 7: Datos de $^1\text{H-}$ y $^{13}\text{C-NMR}$ de desoliosil-desmicarosil-3C- β -D-bovinosil-MTM [fórmula (XVII)] (Piridina-*d*5, 400 MHz).

Posición	$^1\text{H-NMR}$, 400 MHz; δ en ppm, multiplicidad (J en Hz)	$^{13}\text{C-NMR}$, 100.6 MHz; δ en ppm	Multiplicidad	HMBC	NOESY
1	-	204.5	C		
2	4.94 d (11.6)	77.6	CH	C-1, C-1C, C-3, C-4, C-1'	H-1C, H-3, H-4a, H-4e
3	3.48 (m)	42.6	C	C-2, C-4, C-1'	H-2, H-4a, H-4e, H-1'
4a	3.10 dd (15.9 y 3.6)	28.1	CH ₂	C-2, C-3, C-1'	H-3, H-2
4e	3.26 dd (15.9 y 13.0)				H-3, H-2
4a	-	137.2	C		
5	7.04 (s)	102.2	CH	C-6, C-8a, C-7, C-10	H-10, H-1A, H-5A
6	-	160.4	C		
7	-	111.9	C		
7-CH ₃	2.47 (s)	9.1	CH ₃	C-6, C-7, C-8	
8	-	157.0	C		
8a	-	109.4	C		
9	-	165.8	C		
9a	-	108.9	C		
10	6.62 (s)	117.0	CH	C-5, C-8a, C-9a, C-10a	H-5, H-1A, H-4a, H-4e
10a	-	139.5	C		
1'	5.46 d (1.2)	83.0	CH	C-2, C-3, C-4, 1'-OCH ₃ , C-2'	H-2, H-3, 1'-OCH ₃
1'-OCH ₃	3.69 (s)	59.2		C-1', C-2', C-3	
2'	-	213.5	C		
3'	4.69 d (2.8)	81.2	CH	C-2', C-4', C-5'	H-4', H-5'
4'	4.84 dq (6.0 y 2.8)	69.5	CH	C-2', C-3', C-5'	H-5', H-3'
5'	1.59 d (6.0)	20.8	CH ₃	C-3', C-4'	H-4', H-3'

Tabla 7 (continuación)

Posición	¹ H-NMR, 400 MHz; δ en ppm, multiplicidad (J en Hz)	¹³ C-NMR, 100.6 MHz; δ en ppm	Multiplicidad	HMBC	NOESY
1A	5.67 dd (9.6 y 2.0)	97.9	CH	C-6	H-3A, H-5A, H-2Aa, H-2Ae, H-5, H-10
2Aa	2.23 ddd (12.0, 12.0 and 9.6)	37.8	CH ₂	C-1A, C-3A, C-4A	H-1A, H-4A, H-2Ae
2Ae	2.70 ddd (12.0, 5.0 y 2.0)				H-1A, H-3A, H-2Aa
3A	4.27 ddd (12, 9.2 y 5.0)	74.2	CH ₂	C-1B, C-4A	H-1A, H-1B, H-5A, H-2Ae
4A	3.61 t (9.2)	80.1	CH	C-3A, C-5A, C-6A	H-2Aa, H ₃ -6A
5A	4.01 dq (9.2 y 6.0)	73.8	CH	C-1A, C-3A, C-4A, C-6A	H-1A, H-3A, H ₃ -6A
6A	1.71 d (J= 6.0)	19.2	CH ₃	C-4A, C-5A	H-4A, H-5A
1B	5.05 dd (9.6 y 2.0)	99.4	CH	C-3A	H-2Ba, H-2Be, H-3A, H-3B, H-5B
2Ba	2.14 ddd (12, 12 y 9.6)	41.4	CH ₂	C-1B, C-3B, C-4B	H-1B, H-4B
2Be	2.64 ddd (12, 5.0 y 2.0)				H-1B
3B	4.14 ddd (12, 9.0 y 5.0)	72.2	CH	C-4B	H-2Be, H-1B, H-5B
4B	3.57 t (9.0)	78.5	CH	C-3B, C-5B, C-6B	H-2Ba, H ₃ -6B
5B	3.73 dq (9.0 y 6.0)	73.4	CH	C-1B, C-3B, C-4B, C-6B	H-1B, H-3B, H ₃ -6B
6B	1.63 d (6.0)	19.1	CH ₃	C-4B, C-5B	H-5B
1C	5.38 dd (9.6 y 2.0)	101.8	CH	C-2	H-2, H-3C, H-5C, H-2Ce
2Ca	2.00 ddd (12, 12 y 9.6)	38.2	CH ₂	C-1C, C-3C, C-4C	H-4C
2Ce	2.92 ddd (12, 5.0 y 2.0)				H-1C
3C	4.05 ddd (12, 9.0 y 5.0)	81.5	CH	C-1D, C-4C	H-1C, H-1D, H-5C, H-2Ce
4C	3.47 t (9.0)	76.0	CH	C-3C, C-5C, C-6C	H-2Ca, H ₃ -6C
5C	3.67 dq (9.0 y 6.0)	73.6	CH	C-4C, C-6C	H-3C, H-1C, H ₃ -6C
6C	1.60 d (6.0)	18.9	CH ₃	C-4C, C-5C	H-5C, H-4C
1D	5.54 dd (10.0 y 3.0)	99.4	CH	C-3C	H-3D, H-5D, H-2De, H-3C
2Da	2.55 ddd (13, 10 y 3.0)	41.4	CH ₂	C-1D, C-3D, C-4D	H-1D, H-2De
2De	2.28 ddd (13, 3.0 y 3.0)				
3D	3.77 ddd (3.2, 3.0 y 1.2)	71.4	CH	C-4D	H-2Da, H-4D, H ₃ -6D, H-5D
4D	3.87 dd (3.2 y 1.2)	71.0	CH	C-3D, C-5D	H-3D, H-5D, H ₃ -6D
5D	4.64 dq (6.0 y 3.2)	70.3	CH	C-1D, C-4D, C-6D	H-1D, H-3D, H ₃ -6D
6D	1.57 d (6.0)	17.6	CH ₃	C-4D, C-5D	H-4D, H-5D, H-3D

*A=B=C=D: azúcares

Tabla 8: Datos de ^1H - y ^{13}C -NMR de 6-desdiolivosil-6- β -D-amicetosil-desoliosil-desmicarosil-3C- β -D-boivinosil-MTM [fórmula (XVIII)] (Piridina- d_5 , 400 MHz).

Posición	^1H -NMR, 400 MHz; δ en ppm, multiplicidad (J en Hz)	^{13}C -NMR, 100.6 MHz; δ en ppm	Multiplicidad	HMBC	NOESY
1	-	204.3	C		
2	4.38 d (11.6)	78.1	CH	C-1, C-1C, C-3, C-4, C-1'	H-1C, H-3, H-4a, H-4e
3	3.46 (m)	42.6	C	C-2, C-4, C-1'	H-2, H-4a, H-4e, H-1'
4a	3.11 dd (15.9 y 3.6)	26.8	CH ₂	C-2, C-3, C-1'	H-3, H-2
4e	3.27 dd (15.9 y 13.0)				H-3, H-2
4a	-	137.1	C		
5	7.04 (s)	102.3	CH	C-6, C-8a, C-7, C-10	H-10, H-1A, H-5A
6	-	160.6	C		
7	-	111.7	C		
7-CH ₃	2.45 (s)	9.19	CH ₃	C-6, C-7, C-8	
8	-	156.9	C		
8a	-	109.3	C		
9	-	165.8	C		
9a	-	108.7	C		
10	6.64 (s)	117.9	CH	C-5, C-8a, C-9a, C-10a	H-5, H-1A, H-4a, H-4e
10a	-	139.5	C		
1'	5.48 d (1.2)	83.1	CH	C-2, C-3, C-4, 1'-OCH ₃ , C-2'	H-2, H-3, 1'-OCH ₃
1'-OCH ₃	3.70 (s)	59.2		C-1', C-2', C-3	
2'	-	213.6	C		
3'	4.70 d (2.8)	81.3	CH	C-2', C-4', C-5'	H-4', H-5'
4'	4.84 dq (6.2 y 2.8)	69.5	CH	C-2', C-3', C-5'	H-5', H-3'
5'	1.60 (d, J = 6.2)	20.8	CH ₃	C-3', C-4'	H-4', H-3'
1A	5.59 (dd, J = 9.6 y 2.0)	99.6	CH	C-6	H-2Aa, H-3Aa, H-5, H-5A,
2Aa	2.15 (m)	31.4	CH ₂	C-1A, C-3A, C-4A	H-1A, H-4A, H-2Ae
2Ae	2.41 (m)				H-1A, H-2Aa, H-3Aa
3Aa	1.97 (m)	32.1	CH ₂	C-2A, C-4A	H-1A, H-5A, H-3Ae
3Ae	2.38 (m)				H-3Aa, H ₃ -6A
4a	3.68 (m)	71.3	CH	C-3A, C-5A, C-6A	H-2Aa, H ₃ -6A
5a	4.01 dq (9.0 y 6.0)	77.89	CH	C-1A, C-3Aa, C-4A, C-6A	H-1A, H-3Aa, H ₃ -6A
6A	1.67 d (6.0)	19.4	CH ₃	C-4A, C-5A	H-4A, H-5A
1C	5.38 dd (9.6 y 2.0)	101.8	CH	C-2	H-2, H-2Ce, H-3C, H-5C
2Ca	2.00 ddd (12, 12 y 9.6)	38.6	CH ₂	C-1C, C-3C, C-4C	H-4C
2Ce	2.93 ddd (12, 5.0 y 2.0)				H-1C
3C	4.02 ddd (12, 9.0 y 5.0)	81.4	CH	C-1D, C-4C	H-1C, H-1D, H-4C, H-5C, H-2Ce
4C	3.45 t (9.0)	76.3	CH	C-3C, C-5C, C-6C	H-2Ca, H ₃ -6C

Tabla 8 (continuación)

Posición	$^1\text{H-NMR}$, 400 MHz; δ en ppm, multiplicidad (<i>J</i> en Hz)	$^{13}\text{C-NMR}$, 100.6 MHz; δ en ppm	Multiplicidad	HMBC	NOESY
5C	3.67 dq (9.0 y 6.0)	73.4	CH	C-1C, C-4C, C-6C	H-1C, H-3C, H ₃ -6C
6C	1.61 d (6.0)	19.1	CH ₃	C-4C, C-5C	H-4C, H-5C
1D	4.72 dd (10 y 2.0)	102.0	CH	C-3C	H-3C, H-2De, H-5D
2Da	2.26 ddd (13, 10 y 3.0)	31.45	CH ₂	C-1D, C-3D, C-4D	H-1D, H-2De
2De	1.71 ddd (13, 3.0 y 2.0)				
3D	3.71 ddd (3.0, 3.0 y 1.2)	66.2	CH	C-4D	H-2Da, H-4D, H ₃ -6D, H-5D
4D	3.65 dd (2.5, y 1.2)	71.3	CH	C-3D, C-5D	H-3D, H-5D, H ₃ -6D
5D	3.78 dq (6.0 y 2.5)	75.58	CH	C-1D, C-4D, C-6D	H-1D, H-3D, H ₃ -6D
6D	1.48 d (6.0)	18.14	CH ₃	C-4D, C-5D	H-4D, H-5D, H-3D

*A=B=C=D: azúcares

Tabla 9: Datos de ^1H - y ^{13}C -NMR de desoliosil-desmicarosil-3C- β -D-olivosil-3D- β -D-digitoxosil-MTM [fórmula (XIX)] (Piridina-*d*5, 400 MHz).

Posición	$^1\text{H-NMR}$, 400 MHz; δ en ppm, multiplicidad (<i>J</i> en Hz)	$^{13}\text{C-NMR}$, 100.6 MHz; δ en ppm	Multiplicidad	HMBC	NOESY
1	-	204.4	C		
2	4.96 d (11.6)	77.9	CH	C-1, C-1C, C-3, C-4, C-1'	H-1C, H-3, H-4a, H-4e
3	3.48 (m)	42.6	C	C-2, C-4, C-1'	H-2, H-4a, H-4e, H-1'
4a	3.10 dd (15.9 y 3.6)	28.1	CH ₂	C-2, C-3, C-1'	H-3, H-2
4e	3.27 dd (15.9 y 13.0)				H-3, H-2
4a	-	137.1	C		
5	7.05 (s)	102.2	CH	C-6, C-8a, C-7, C-10	H-10, H-1A, H-5A
6	-	160.5	C		
7	-	111.7	C		
7-CH ₃	2.47 (s)	8.9	CH ₃	C-6, C-7, C-8	
8	-	157.0	C		
8a	-	109.3	C		
9	-	165.8	C		
9a	-	108.8	C		
10	6.63 (s)	117.4	CH	C-5, C-8a, C-9a, C-10a	H-5, H-1A, H-4a, H-4e
10a	-	139.5	C		
1'	5.49 d (1.2)	82.9	CH	C-2, C-3, C-4, 1'-OCH ₃ , C-2'	H-2, H-3, 1'-OCH ₃
1'-OCH ₃	3.71 (s)	59.5		C-1', C-2', C-3	
2'	-	213.4	C		
3'	4.70 d (2.8)	81.1	CH	C-2', C-4', C-5'	H-4', H-5'
4'	4.84 dq (6.2 y 2.8)	69.3	CH	C-2', C-3', C-5'	H-5', H-3'
5'	1.59 d (6.2)	20.6	CH ₃	C-3', C-4'	H-4', H-3'

Tabla 9 (continuación)

Posición	¹ H-NMR, 400 MHz; δ en ppm, multiplicidad (J en Hz)	¹³ C-NMR, 100.6 MHz; δ en ppm	Multiplicidad	HMBC	NOESY
1A	5.67 dd (9.6 y 2.0)	97.9	CH	C-6	H-3A, H-5A, H-2Aa, H-2Ae, H-5, H-10
2Aa	2.25 ddd (12, 12 y 9.6)	37.7	CH ₂	C-1A, C-3A, C-4A	H-1A, H-4A, H-2Ae
2Ae	2.71 ddd (12, 5.0 y 2.0)				H-1A, H-3A, H-2Aa
3A	4.28 ddd (12, 9.0 y 5.0)	80.5	CH ₂	C-1B, C-4A	H-1A, H-1B, H-5A, H-2Ae
4A	3.62 t (9.0)	75.8	CH	C-3A, C-5A, C-6A	H-2Aa, H ₃ -6A
5A	4.01 dq (9.0 y 6.0)	73.6	CH	C-1A, C-3A, C-4A, C-6A	H-1A, H-3A, H ₃ -6A
6A	1.70 d (6.0)	19.0	CH ₃	C-4A, C-5A	H-4A, H-5A
1B	5.05 dd (9.6 y 2.0)	99.4	CH	C-3A	H-2Ba, H-2Be, H-3A, H-3B, H-5B
2Ba	2.14 ddd (12, 12 y 9.6)	41.2	CH ₂	C-1B, C-3B, C-4B	H-1B, H-4B
2Be	2.65 ddd (12, 5.0 y 2.0)				H-1B
3B	4.16 ddd (12, 9.0 y 5.0)	72.2	CH	C-4B	H-2Be, H-1B, H-5B
4B	3.57 t (9.0)	77.6	CH	C-3B, C-5B, C-6B	H-2Ba, H ₃ -6B
5B	3.74 dq (9.0 y 6.0)	73.7	CH	C-1B, C-3B, C-4B, C-6B	H-1B, H-3B, H ₃ -6B
6B	1.64 d (6.0)	18.3	CH ₃	C-4B, C-5B	H-5B
1C	5.39 dd (9.6 y 2.0)	101.6	CH	C-2	H-2, H-3C, H-5C, H-2Ce
2Ca	2.00 ddd (12, 12 y 9.6)	38.4	CH ₂	C-1C, C-3C, C-4C	H-4C
2Ce	3.00 ddd (12, 5.0 y 2.0)				H-1C
3C	4.10 ddd (12, 9.0 y 5.0)	81.0	CH	C-1D, C-4C	H-1C, H-1D, H-5C, H-2Ce
4C	3.50 t (9.0)	76.1	CH	C-3C, C-5C, C-6C	H-2Ca, H ₃ -6C
5C	3.69 dq (9.0 y 6.0)	73.6	CH	C-4C, C-6C	H-3C, H-1C, H ₃ -6C
6C	1.60 d (6.0)	18.9	CH ₃	C-4C, C-5C	H-5C, H-4C
1D	4.90 dd (9.6 y 2.0)	99.4	CH	C-3C	H-3D, H-5D, H-2De, H-3C
2Da	1.90 ddd (12, 12 y 9.6)	32.3	CH ₂	C-1D, C-3D, C-4D	
2De	2.18 ddd (12, 5.0 y 2.0)				H-1D
3D	4.04 ddd (12, 9.0 y 5.0)	80.1	CH	C-1E, C-4D	H-1D, H-2De, H-5D, H-1E
4D	3.44 T (9.0)	75.8	CH	C-3D, C-5D	H-2Da, H ₃ -6D
5D	3.66 dq (9.0 y 6.0)	73.3	CH	C-4D, C-6D	H-1D, H-3D, H ₃ -6D
6D	1.58 d (6.0)	18.7	CH ₃	C-4D, C-5D	H-4D, H-5D
1E	4.88 dd (10 y 2.0)	101.3	CH	C-3D	H-5E, H-2Ea, H-2Ee, H-3D
2Ea	1.75 ddd (13, 10.0 y 2.5)	31.1	CH ₂	C-1E, C-3E, C-4E	
2Ee	2.21 ddd (13, 2.5 y 2.0)				H-1E, H-2Ea
3E	3.52 ddd (2.8, 2.5, y 2.5)	71.3	CH	C-4E	H-4E
4E	3.49 dd (9.0 y 2.8)	77.6	CH	C-3E, C-5E	H-2Ea, H-3E, H ₃ -6E
5E	3.66 dq (9.0 y 6.0)	73.3	CH	C-1E, C-4E, C-6E	H ₃ -6E, H-1E
6E	1.55 d (6.0)	18.6	CH ₃	C-4E, C-5E	H-5E
A=B=C=D=E: azúcares					

Tabla 10: Datos de ^1H - y ^{13}C -NMR de 6-desdiolivosil-6- β -D-amicetosil-desoliosil-desmicarosil-3C- β -D-olivosil-3D- β -D-digitoxosil-MTM [(fórmula XX)] (Piridina-*d*5, 400 MHz).

Posición	^1H -NMR, 400 MHz; δ en ppm, multiplicidad (<i>J</i> en Hz)	^{13}C -NMR 100.6 MHz; δ en ppm	Multiplicidad	HMBC	NOESY
1	-	204.3	C		
2	4.95 d (11.6)	78.0	CH	C-1, C-1C, C-3, C-4, C-1'	H-1C, H-3, H-4a, H-4e
3	3.48 (m)	42.6	C	C-2, C-4, C-1'	H-2, H-4a, H-4e, H-1'
4a	3.10 dd (15.9 y 3.6)	28.3	CH ₂	C-2, C-3, C-1'	H-3, H-2
4e	3.27 dd (15.9 y 13.0)				H-3, H-2
4a	-	137.1	C		
5	7.05 (s)	102.2	CH	C-6, C-8a, C-7, C-10	H-10, H-1A, H-5A
6	-	160.6	C		
7	-	111.7	C		
7-CH3	2.45 (s)	9.1	CH ₃	C-6, C-7, C-8	
8	-	156.9	C		
8a	-	109.3	C		
9	-	165.9	C		
9a	-	108.7	C		
10	6.66 (s)	117.4	CH	C-5, C-8a, C-9a, C-10a	H-5, H-1A, H-4a, H-4e
10a	-	139.5	C		
1'	5.49 d (1.2)	83.1	CH	C-2, C-3, C-4, 1'-OCH ₃ , C-2'	H-2, H-3, 1'-OCH ₃
1'-OCH3	3.71 (s)	59.2	CH ₃	C-1', C-2', C-3	
2'	-	213.6	C		
3'	4.71 d (2.8)	81.3	CH	C-2', C-4', C-5'	H-4', H-5'
4'	4.84 dq (6.2 y 2.8)	69.5	CH	C-2', C-3', C-5'	H-5', H-3'
5'	1.59 d (6.2)	20.8	CH ₃	C-3', C-4'	H-4', H-3'
1A	5.59 dd (8.64 y 2.5)	99.7	CH	C-6	H-2Aa, H-3Aa, H-5, H-5A,
2Aa	2.17 (m)	31.4	CH ₂	C-1A, C-3A, C-4A	H-1A, H-4A, H-2Ae
2Ae	2.43 (m)				H-1A, H-2Aa, H-3Aa
3Aa	1.96 (m)	32.1	CH ₂	C-2A, C-4A	H-1A, H-5A, H-3Ae
3Ae	2.40 (m)				H-3Aa, H ₃ -6A
4A	3.69 (m)	71.3	CH	C-3A, C-5A, C-6A	H-2Aa, H ₃ -6A
5A	4.02 dq (8.5 y 6.0)	77.7	CH	C-1A, C-3A, C-4A, C-6A	H-1A, H-3Aa, H ₃ -6A

Tabla 10 (continuación)

Posición	¹ H-NMR, 400 MHz; δ en ppm, multiplicidad (J en Hz)	¹³ C-NMR, 100.6 MHz; δ en ppm	Multiplicidad	HMBC	NOESY
6A	1.67 d (6.0)	19.4	CH ₃	C-4A, C-5A	H-4A, H-5A
1C	5.39 dd (9.6 y 2.0)	01.7	CH	C-2	H-2, H-3C, H-5C, H-2Ce
2Ca	2.00 ddd (12, 12 y 9.6)	38.4	CH ₂	C-1C, C-3C, C-4C	H-4C
2Ce	2.99 ddd (12, 5.0 y 2.0)				H-1C
3C	4.10 ddd (12, 9.0 y 5.0)	81.1	CH	C-1D, C-4C	H-1C, H-1D, H-5C, H-2Ce
4C	3.49 t (9.0)	76.2	CH	C-3C, C-5C, C-6C	H-2Ca, H ₃ -6C
5C	3.68 dq (9.0 y 6.0)	73.4	CH	C-4C, C-6C	H-3C, H-1C, H ₃ -6C
6C	1.61 d (6.0)	19.1	CH ₃	C-4C, C-5C	H-5C, H-4C
ID	4.90 dd (9.6 y 2.0)	99.3	CH	C-3C	H-3D, H-5D, H-2De, H-3C
2Da	1.90 ddd (12, 12 y 9.6)	32.5	CH ₂	C-1D, C-3D, C-4D	
2De	2.50 ddd (12, 5.0 y 2.0)				H-1D
3D	4.03 ddd (12, 9.0 y 5.0)	80.5	CH	C-1E, C-4D	H-1D, H-2De, H-5D, H-1E
4D	3.47 t (9.0)	75.9	CH	C-3D, C-5D	H-2Da, H ₃ -6D
5D	3.68 dq (9.0 y 6.0)	73.3	CH	C-4D, C-6D	H-1D, H-3D, H ₃ -6D
6D	1.55 d (6.0)	18.8	CH ₃	C-4D, C-5D	H-4D, H-5D
1E	4.88 dd (9.6 y 2.0)	101.35	CH	C-3D	H-5E, H-2Ea, H-2Ee, H-3D
2Ea	1.77 ddd (13, 10 y 2.5)	31.1	CH ₂	C-1E, C-3E, C-4E	
2Ee	2.20 ddd (13, 2.5 y 2.0)				H-1E, H-2Ea
3E	3.52 ddd (2.8, 2.5 y 2.5)	71.3	CH	C-4E	H-4E
4E	3.45 dd (9.0, 2.8)	71.9	CH	C-3E, C-5E	H-2Ea, H-3E, H ₃ -6E
5E	3.68 dq (6.0 y 9.0)	73.4	CH	C-1E, C-4E, C-6E	H ₃ -6E, H-1E
6E	1.58 d (6.0)	19.1	CH ₃	C-4E, C-5E	H-5E

*A=B=C=D=E: azúcares

Tabla 11: Datos de ¹H- y ¹³C-NMR de 6-desdiolivosil-6-β-D-amicetosil-desoliosil-3C-β-D-olivosil-MTM [fórmula (XXI)] (Piridina-d₅, 400 MHz).

Posición	¹ H-NMR, 400 MHz; δ en ppm, multiplicidad (J en Hz)	¹³ C-NMR, 100.6 MHz; δ en ppm	Multiplicidad	HMBC	NOESY
1	-	204.3	C		
2	4.95 d (11.6)	78.0	CH	C-1, C-1C, C-3, C-4, C-1'	H-1C, H-3, H-4a, H-4e
3	3.47 (m)	42.6	C	C-2, C-4, C-1'	H-2, H-4a, H-4e, H-1'
4a	3.11 dd (15.9 y 3.6)	28.1	CH ₂	C-2, C-3, C-1'	H-3, H-2
4e	3.27 dd (15.9 y 13.0)				H-3, H-2
4a	-	136.4	C		
5	7.05 (s)	102.2	CH	C-6, C-8a, C-7, C-10	H-10, H-1A, H-5A
6	-	160.6	C		

Tabla 11 (continuación)

Posición	¹ H-NMR, 400 MHz; δ en ppm, multiplicidad (J en Hz)	¹³ C-NMR, 100.6 MHz; δ en ppm	Multiplicidad	HMBC	NOESY
7	-	111.7	C		
7-CH ₃	2.45 (s)	9.1	CH ₃	C-6, C-7, C-8	
8	-	156.9	C		
8a	-	109.3	C		
9	-	165.9	C		
9a	-	108.7	C		
10	6.65 (s)	117.4	CH	C-5, C-8a, C-9a, C-10a	H-5, H-1A, H-4a, H-4e
10a	-	139.5	C		
1'	5.50 d (1.2)	83.1	CH	C-2, C-3, C-4, 1'-OCH ₃ , C-2'	H-2, H-3, 1'-OCH ₃
1'-OCH ₃	3.71 (s)	59.2	CH ₃	C-1', C-2', C-3	
2'	-	213.6	C		
3'	4.71 d (2.8)	81.3	CH	C-2', C-4', C-5'	H-4', H-5'
4'	4.84 dq (6.2 y 2.8)	69.5	CH	C-2', C-3', C-5'	H-5', H-3'
5'	1.58 d (6.2)	20.8	CH ₃	C-3', C-4'	H-4', H-3'
1A	5.59 dd (8.64 y 2.5)	99.6	CH	C-6	H-2Aa, H-3Aa, H-5, H-5A,
2Aa	2.17 (m)	31.4	CH ₂	C-1A, C-3A, C-4A	H-1A, H-4A, H-2Ae
2Ae	2.43 (m)				H-1A, H-2Aa, H-3Aa
3Aa	1.97 (m)	32.1	CH ₂	C-2A, C-4A	H-1A, H-5A, H-3Ae
3Ae	2.39 (m)				H-3Aa, H ₃ -6A
4A	3.69 (m)	71.3	CH	C-3A, C-5A, C-6A	H-2Aa, H ₃ -6A
5A	4.03 dq (8.5 y 6.0)	77.8	CH	C-1A, C-3A, C-4A, C-6A	H-1A, H-3Aa, H ₃ -6A
6A	1.67 d (6.0)	19.4	CH ₃	C-4A, C-5A	H-4A, H-5A
1C	5.39 dd (9.6 y 2.0)	101.7	CH	C-2	H-2, H-2Ce, H-3C, H-5C
2Ca	2.02 ddd (12, 12 y 9.6)	38.4	CH ₂	C-1C, C-3C, C-4C	H-4C
2Ce	2.99 ddd (12, 5.0 y 2.0)				H-1C
3C	4.09 ddd (12, 9.0 y 5.0)	81.1	CH	C-1D, C-4C	H-1C, H-1D, H-4C, H-5C, H-2Ce
4C	3.46 t (9.0)	76.2	CH	C-3C, C-5C, C-6C	H-2Ca, H ₃ -6C
5C	3.67 dq (9.0 y 6.0)	73.4	CH	C-1C, C-4C, C-6C	H-1C, H-3C, H ₃ -6C
6C	1.61 d (6.0)	19.2	CH ₃	C-4C, C-5C	H-4C, H-5C
1D	4.85 dd (9.6 y 2.0)	99.3	CH	C-3C	H-3C, H-3D, H-2De, H-5D
2Da	1.93 ddd (12, 12 y 9.6)	38.6	CH ₂	C-1D, C-3D, C-4D	H-1D
2De	2.40 ddd (12, 5.0 y 2.0)				

Tabla 11 (continuación)

Posición	¹ H-NMR, 400 MHz; δ en ppm, multiplicidad (J en Hz)	¹³ C-NMR, 100.6 MHz; δ en ppm	Multiplicidad	HMBC	NOESY
3D	4.01 ddd (12, 9.0 y 5.0)	81.0	CH	C-1E, C-4D	H-1E, H-1D, H-2De, H-5D
4D	3.46 t (9.0)	76.0	CH	C-3D, C-5D	H-2Da, H ₃ -6D
5D	3.69 dq (9.0 y 6.0)	73.4	CH	C-1D, C-4D, C-6D	H-1D, H-3D, H ₃ -6D
6D	1.55 d (6.0)	18.8	CH ₃	C-4D, C-5D	H-4D, H-5D
1E	5.46 dd (9.6 y 2.0)	98.9	CH	C-3D	H-5E, H-3D, H-2Ea, H-2Ee
2Ea	1.85 dd (13.1 y 9.6)	45.3	CH ₂	C-1E, C-3E, C-4E	H-4E, H-2Ee
2Ee	2.32 dd (13.1 y 2.0)				H-1E, H-2Ea
3E	-	71.3	C		
3E-CH ₃	1.50(s)	28.0	CH ₃	C-4E, C-5E, C-3E	H-5E, H ₃ -6E
4E	3.34 d (9.2)	77.5	CH	C-3E-CH ₃ , C-3E, C-5E	H-2aE, H ₃ -3E, H ₃ -6E
5E	4.28 dq (9.2 y 6.0)	72.2	CH	C-3E, C-4E	H ₃ -3E, H ₃ -6E
6E	1.60 d (6.0)	19.1	CH ₃	C-1E, C-4E, C-5E	H-1E, H ₃ -6E

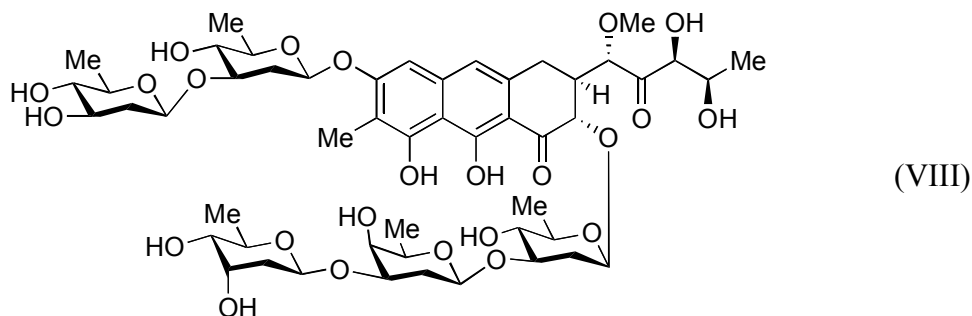
*A=B=C=D=E: azúcares

Tabla 12 Ensayo de la actividad antitumoral de derivados de MTM frente a líneas celulares tumorales. Se incluyen también los datos obtenidos con MTM, como referencia. Los valores numéricos hacen referencia a la GI₅₀ (μM), o concentración a la que el compuesto ensayado inhibe el 50% del crecimiento celular en comparación con células no tratadas. VIII = desmicarosil-3D-β-D-digitoxosil-MTM; IX = desoliosil-3C-α-L-digitoxosil-MTM; X = desoliosil-3C-β-D-micarosil-MTM; XI = 3A-desolivosil-MTM; XII = desmicarosil-MTM; XIII = 6-desdiolivosil-6-β-D-amicetosil-MTM; XVII = desoliosil-desmicarosil-3C-β-D-bovinosil-MTM; XVIII = 6-desdiolivosil-6-β-D-amicetosil-desoliosil-desmicarosil-3C-β-D-bovinosil-MTM; XIX = desoliosil-desmicarosil-3C-β-D-olivosil-3D-β-D-digitoxosil-MTM; XX = 6-desdiolivosil-6-β-D-amicetosil-desoliosil-desmicarosil-3C-β-D-olivosil-3D-β-D-digitoxosil-MTM; XXI = 6-desdiolivosil-6-β-D-amicetosil-desoliosil-3C-β-D-olivosil-MTM

Línea celular (tipo de cáncer)	compuestos											
	MTM	VIII	IX	X	XI	XII	XIII	XVII	XVIII	XIX	XX	XXI
MDA-MB-231 (mama)	0.16	0.23	1.94	0.37	0.45	1.28	1.38	3.72	0.40	0.69	>10	0.47
A549 (pulmón)	0.16	0.19	2.67	0.48	0.75	1.81	1.49	>10	0.75	0.91	>10	0.44
HT29 (colon)	0.21	0.27	3.87	0.93	0.71	>10	3.19	>10	2.01	5.98	>10	0.94

REIVINDICACIONES

1. Un compuesto con la fórmula (VIII):



2. Una cepa bacteriana *Streptomyces argillaceus* (pFL942), caracterizada porque posee un ácido nucleico adicional que codifica enzimas activos para la biosíntesis de azúcares que no están presentes en *Streptomyces argillaceus* de tipo silvestre.
3. Una cepa bacteriana de la reivindicación 2, caracterizada porque el ácido nucleico de *Streptomyces argillaceus* (pFL942) está contenido en el plásmido pFL942 y codifica enzimas activos para la biosíntesis de L-micarosa y sus intermediarios biosintéticos.
4. Un método para obtener la cepa bacteriana de las reivindicaciones 2 o 3, que comprende la introducción del plásmido pFL942 en *Streptomyces argillaceus*, que codifica enzimas activos para la biosíntesis de azúcares que no estén presentes en *Streptomyces argillaceus* de tipo silvestre.
5. Un método para producir el compuesto de la reivindicación 1, que comprende:
- cultivar una cepa bacteriana de cualquiera de las reivindicaciones 2 o 3 en un medio adecuado; y
 - aislar el compuesto de la reivindicación 1 del caldo de cultivo producido en el paso (a).

FIG. 1

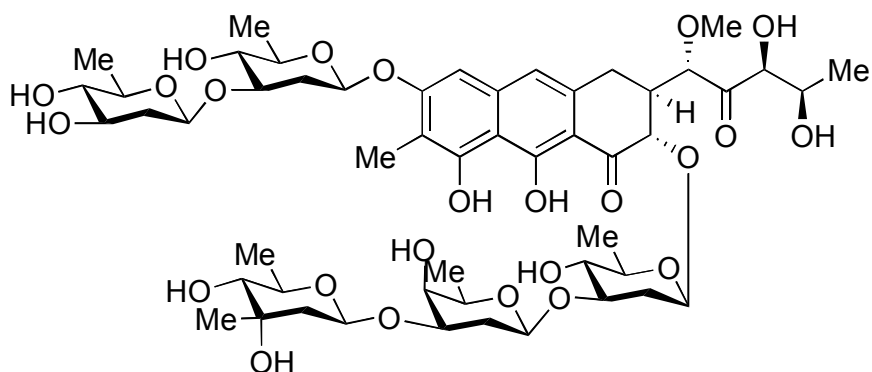


FIG. 2

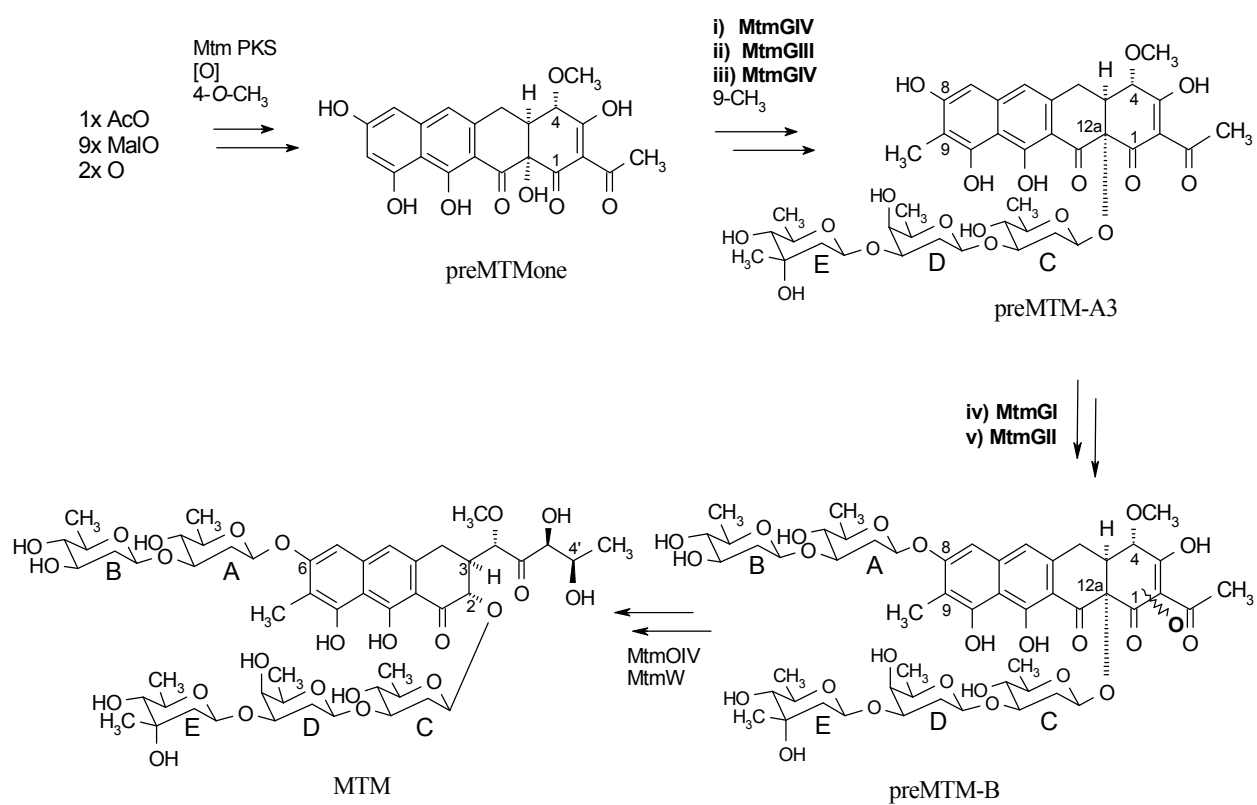


FIG. 3A

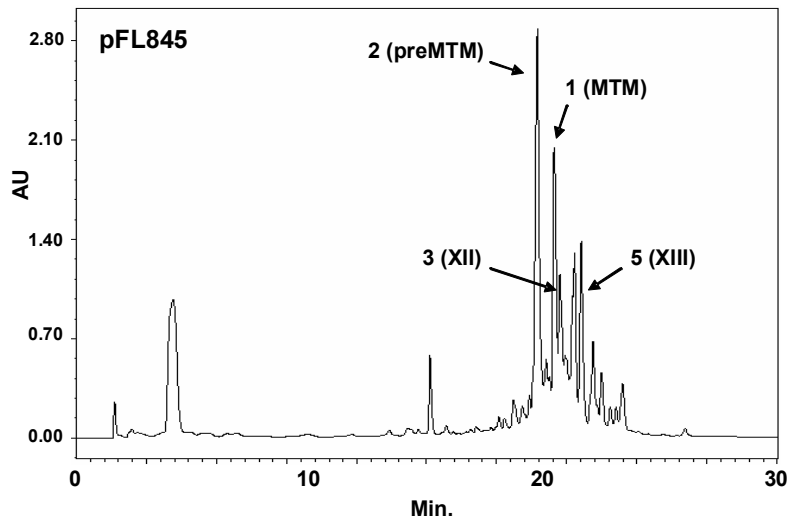


FIG. 3B

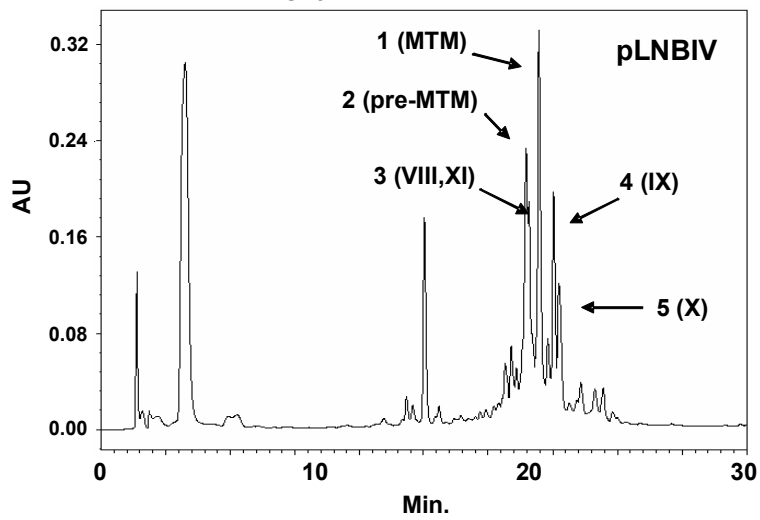


FIG. 3C

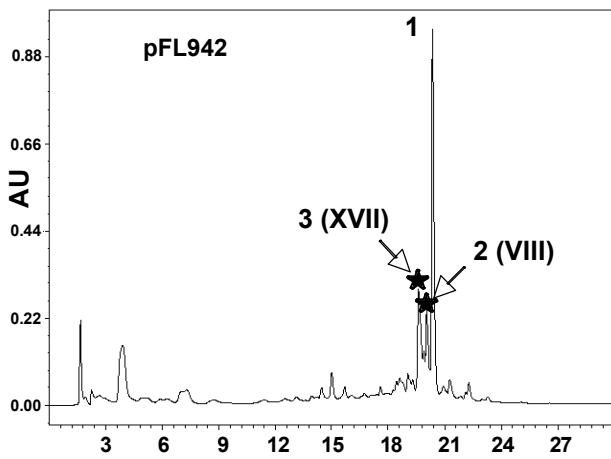


FIG. 3D

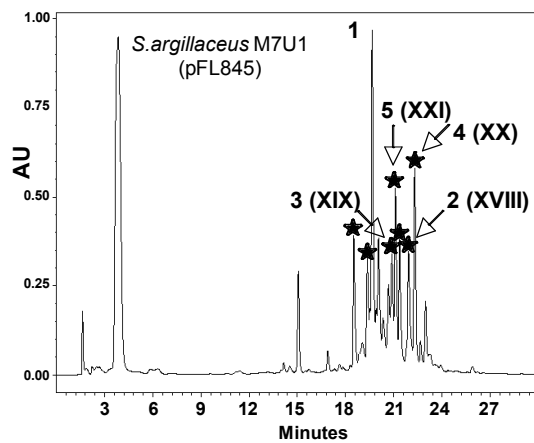


FIG. 4a

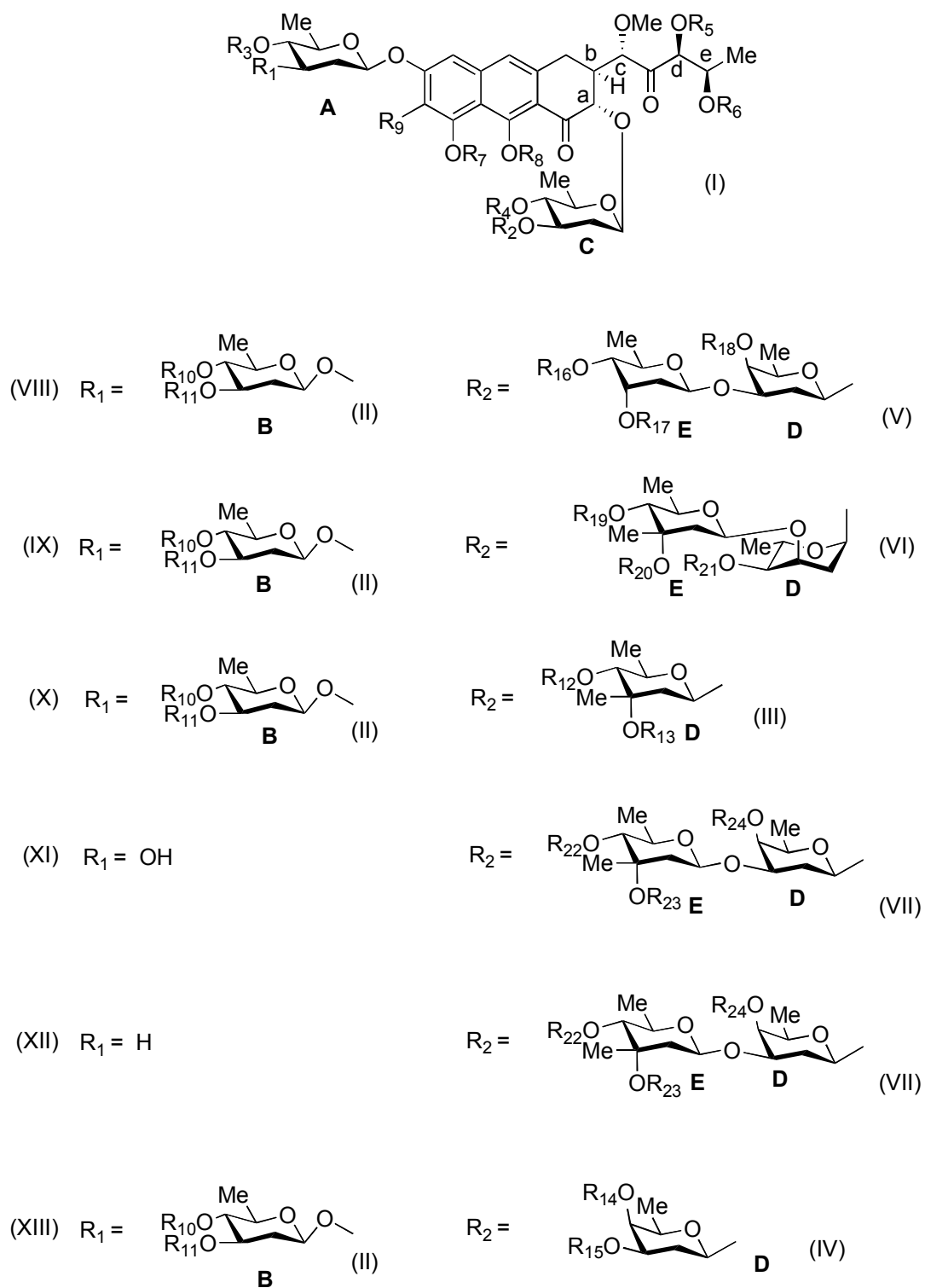
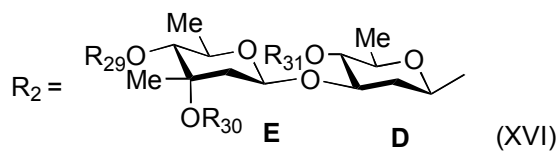
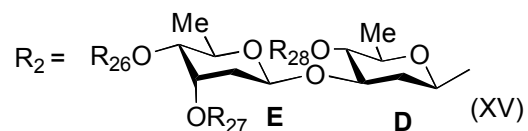
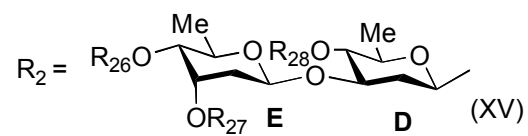
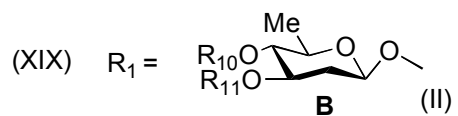
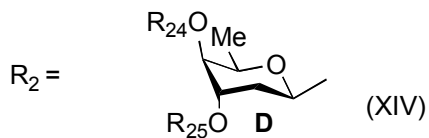
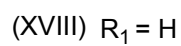
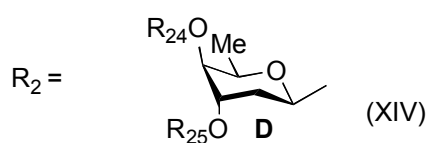
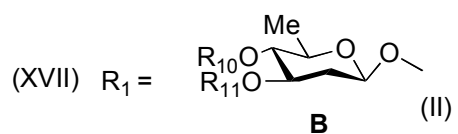
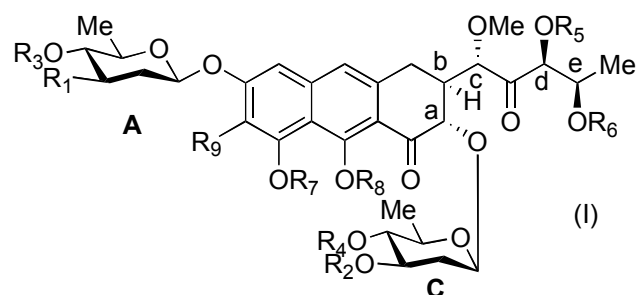


FIG 4b



REFERENCIAS CITADAS EN LA DESCRIPCIÓN

La lista de referencias citadas por el solicitante es, únicamente, para conveniencia del lector. No forma parte del documento de patente europea. Si bien se ha tenido gran cuidado al compilar las referencias, no pueden excluirse errores u omisiones y la OEP declina toda responsabilidad a este respecto.

Documentos de patente citados en la descripción

- US 20050192432 A1 [0008]
- US 3710795 A [0038]

Literatura no patente citada en la descripción

- *Oncology*, 1973, vol. 28, 147-163 [0002]
- *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 1993, vol. 195, 1245-1253 [0002]
- *Treat. Endocrinol.*, 2002, vol. 1, 241-257 [0002]
- *Treat. Endocrinol.*, 2003, vol. 2, 273-292 [0002]
- *J. Neurosci.*, 2004, vol. 24, 10335-10342 [0002]
- *J. Biol. Chem.*, 2006, vol. 281, 16672-16680 [0002]
- *Antibiot. Chemother.*, 1962, vol. 12, 182-186 [0002]
- *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 2006, vol. 73, 1-14 [0003]
- *Biopolymers*, 2000, vol. 54, 104-114 [0003]
- *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 2006, vol. 73, 1-14 [0004]
- *Trends Biotechnol.*, 2001, vol. 19, 449-456 [0005]
- *J. Mol. Microbiol. Biotechnol.*, 2005, vol. 9, 77-85 [0005]
- *Curr. Opin. Drug Discov. Devel.*, 2005, vol. 8, 748-756 [0005]
- **J. IND. MICROBIOL. BIOTECHNOL.** *J. Ind. Microbiol. Biotechnol.*, 2006, vol. 33, 560-568 [0005]
- *Curr. Opin. Microbiol.*, 2006, vol. 9, 252-260 [0005]
- *J. of Biol. Chem.*, 2000, vol. 275 (5), 3065-3074 [0006]
- *Chem. & Biol.*, 2004, vol. 11, 8-10 [0006]
- *Annals of Neurology*, 2001, vol. 49 (3), 345-354 [0006]
- *Bioorganicheskaya Khimiya*, 1991, vol. 17 (3), 410-416 [0006]
- *Chem. of Natural Compounds*, 1971, vol. 7 (5), 625-628 [0006]
- **V. ADAMS et al.** *AAPS Annual Meeting and Exposition*, November 2005 [0007]
- *J. Am. Chem. Soc.*, 2003, vol. 125, 5745-5753 [0008]
- *J. Am. Chem. Soc.*, 2002, vol. 124, 1606-1614 [0008]
- *Mol. Gene. Genet.*, 2001, vol. 264, 827-835 [0008]
- *FEMS Microbiol. Lett.*, 2000, vol. 186, 61-65 [0008]
- *Mol. Gene. Genet.*, 2000, vol. 262, 991-1000 [0008]
- *J. Biol. Chem.*, 2000, vol. 275, 3065-3074 [0008]
- *Mol. Gene. Genet.*, 1999, vol. 261, 216-225 [0008]
- *Chem. Biol.*, 1999, vol. 6, 19-30 [0008]
- *J. Bacteriol.*, 1999, vol. 181, 642-647 [0008]
- *J. Bacteriol.*, 1998, vol. 180, 4929-4937 [0008]
- *J. Bacteriol.*, 1997, vol. 179, 3354-3357 [0008]
- *Mol. Gene. Genet.*, 1996, vol. 251, 692-698 [0008]
- *Gene*, 1996, vol. 172, 87-91 [0008]
- Practical Streptomyces genetics. The John Innes Foundation, 2000 [0009]
- *Chem. Biol.*, 2002, vol. 9, 721-729 [0009]
- *J. Nat. Prod.*, 2002, vol. 65, 1685-1689 [0009]
- *J. Mol. Microbiol. Biotechnol.*, 2000, vol. 2, 271-276 [0009]
- *Chem. Commun. (Camb)*, 28 March 2005, 1604-6 [0009]
- *Cancer Treat. Rep.*, 1979, vol. 63, 1835-1838 [0026]
- *Ann. Intern. Med.*, 1975, vol. 83, 659-660 [0026]
- **KIESER et al.** Practical Streptomyces genetics. The John Innes Foundation, 2000 [0040]
- *J. Bacteriol.*, 1998, vol. 180, 4929-4937 [0041]
- *Chem. Biol.*, 2002, vol. 9, 519-531 [0041]
- *Chemistry & Biology*, 2004, 1709-18 [0051]
- *Chem. Commun. (Camb)*, 28 March 2005, 1604-6 [0054]
- **FAIRCLOTH et al.** *Journal of Tissue and Culture Methods*, 1988, vol. 11, 201-205 [0060]