

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 543 573**

51 Int. Cl.:

C12P 17/18 (2006.01)

A61K 31/407 (2006.01)

A61P 7/02 (2006.01)

A61P 9/00 (2006.01)

C07D 491/052 (2006.01)

C07D 491/04 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **20.03.2007 E 13159150 (5)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **01.07.2015 EP 2604697**

54 Título: **Compuestos de triprenilfenol, proceso para su producción y uso como potenciador de la trombólisis**

30 Prioridad:

27.03.2006 JP 2006086434

30.11.2006 JP 2006324870

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
20.08.2015

73 Titular/es:

**TOKYO UNIVERSITY OF AGRICULTURE AND
TECHNOLOGY TLO (100.0%)**

**24-16, Nakamachi 2-chome
Koganei-shi, Tokyo 184-8588, JP**

72 Inventor/es:

**HASUMI, KEIJI;
KITANO, YOSHIKAZU;
OHISHI, HIDEO;
KOIDE, HARUKI;
HASEGAWA, KEIKO y
NARASAKI, RITSUKO**

74 Agente/Representante:

TEMIÑO CENICEROS, Ignacio

ES 2 543 573 T3

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

DESCRIPCIÓN

Compuestos de triprenilfenol, proceso para su producción y uso como potenciador de la trombólisis.

5 Campo técnico

La presente invención se refiere a un compuesto de triprenilfenol, a un proceso para la producción de un compuesto de triprenilfenol y a un potenciador de la trombólisis.

10 Técnica anterior

Entre los metabolitos microbianos que tienen una estructura de triprenilfenol, hay especies que tienen importantes actividades fisiológicas. Por ejemplo, se sabe que compuestos de triprenilfenol específicos obtenidos de hongos filamentosos tienen efectos fisiológicamente activos sobre fenómenos que son importantes para el organismo vivo, 15 tales como una acción potenciadora de la trombólisis o una acción supresora de la angiogénesis (Documentos de Patente 1 a 3).

Además, como otro compuesto de triprenilfenol que difiere de los compuestos de triprenilfenol que se han mencionado anteriormente en estereoestructura, el Documento de Patente 4 desvela un compuesto de triprenilfenol 20 que tiene actividad de crecimiento del cabello. El Documento no Perteneciente a Patente 1 también desvela un compuesto de triprenilfenol que tiene actividad antibacteriana y actividad antifúngica.

Se ha sugerido que compuestos de triprenilfenol obtenidos a partir de cultivos usando hongos filamentosos inducen cambios en la conformación del plasminógeno (PIg) y, como resultado, aumentan la sensibilidad a la activación por 25 activadores del plasminógeno (PA) y la capacidad del plasminógeno para unirse a fibrina, potenciando así la trombólisis (Documento no Perteneciente a Patente 2). Se sabe, en particular, que un compuesto que tiene dos estructuras de triprenilfenol, que se obtiene añadiendo ornitina como aminoácido (en lo sucesivo en el presente documento, denominado como orniplabina), tiene una acción potenciadora de la trombólisis significativamente fuerte (Documento de Patente 2).

30 De este modo, puesto que los compuestos que tienen una estructura de triprenilfenol presentan una diversidad de actividades de acuerdo con su estereoestructura o sustituyentes, los compuestos son extremadamente útiles.

Estos compuestos de triprenilfenol que tienen diversos tipos de actividades tienen estructuras complicadas y, por lo 35 tanto, existe demanda de un método para obtener los compuestos más eficazmente. Como tal método de producción, están desarrollándose métodos para producir los compuestos cultivando microorganismos. Sin embargo, en métodos que usan microorganismos, normalmente, los compuestos se producen junto con numerosos análogos y, por lo tanto, están implementándose diversas medidas para obtener los compuestos eficazmente en grandes cantidades.

40 En particular, con el fin de producir compuestos de triprenilfenol activos que tengan actividades fisiológicas tales como una acción potenciadora de la trombólisis o una acción inhibidora de la angiogénesis, los Documentos de Patente 1 a 3 desvelan un sistema de cultivo al que se le añade un aminoácido o aminoalcohol correspondiente al sustituyente durante la fase temprana del cultivo de hongos filamentosos, tal como inmediatamente después del 45 inicio del cultivo.

Documento de patente 1: Solicitud de patente japonesa abierta a consulta por el público (JP-A) Nº 2002-65288

Documento de patente 2: Documento JP-A Nº 2004-224737

50 Documento de patente 3: Documento JP-A Nº 2004-224738

Documento de patente 4: Publicación de patente internacional WO 98/56940

55 Documento no Perteneciente a Patente 1: J. Org. Chem., (1992), vol. 57, págs. 6700-6703

Documento no Perteneciente a Patente 2: FEBS Letter, (1997), vol. 418, págs. 58-62

Divulgación de la invención

Problemas a resolver por la invención

Sin embargo, puesto que la orniplabina es un dímero que tiene un peso molecular de más de 800, se cree que no es ventajoso desde el punto de vista de su absorción por el organismo vivo.

Además, en métodos de cultivo convencionales que usan hongos filamentosos, el tipo del producto obtenido según el tipo del aminoácido y aminoalcohol que pueden añadirse, es limitado. La cantidad de generación tampoco puede decirse que sea suficiente. Además, puesto que los compuestos activos de triprenilfenol tienen una estructura complicada, la síntesis química de todo el procedimiento es muy ineficaz.

Por lo tanto, es un objeto de la invención proporcionar un compuesto de triprenilfenol novedoso que pueda presentar una alta acción potenciadora de la trombólisis incluso a bajo peso molecular, y proporcionar un potenciador de la trombólisis que contenga el mismo.

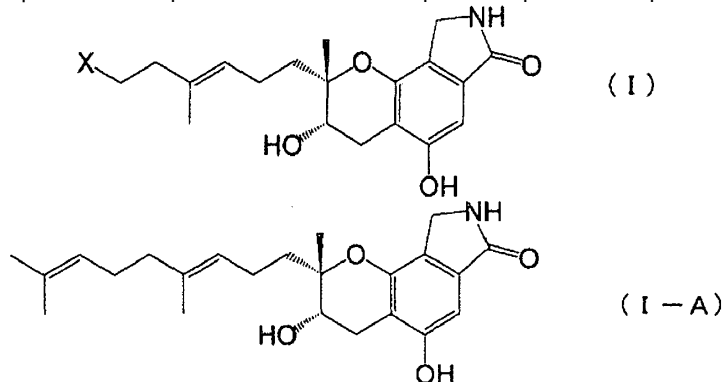
Es otro objeto de la invención producir eficazmente un compuesto de triprenilfenol activo que tenga alta actividad fisiológica.

Medios para solucionar los problemas

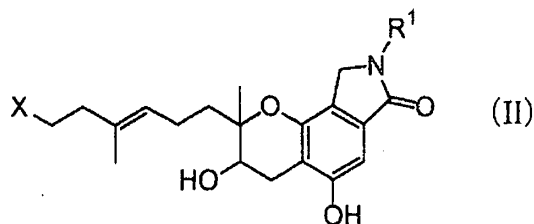
Las soluciones de este problema resultan de las reivindicaciones independientes. Las realizaciones preferidas resultan de las reivindicaciones dependientes.

En el presente documento se describe un primer compuesto de triprenilfenol que se representa por la siguiente fórmula (I) y tiene una rotación óptica negativa. En la siguiente fórmula (I), X es $-\text{CHY}-(\text{CH}_3)_2\text{Z}$; Y y Z son respectivamente $-\text{H}$ u $-\text{OH}$, o forman juntos un enlace sencillo.

El primer compuesto de triprenilfenol es preferiblemente un compuesto representado por la siguiente fórmula (I-A).

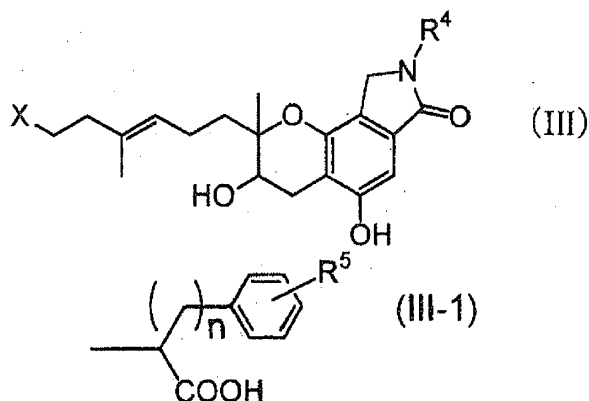


En el presente documento se describe un segundo compuesto de triprenilfenol representado por la siguiente fórmula (II). En la siguiente fórmula (II), R^1 representa un grupo aromático que tiene como sustituyente o como parte de un sustituyente al menos un grupo seleccionado entre el grupo que consiste en un grupo carboxilo, un grupo hidroxilo, un grupo ácido sulfónico y un grupo amino secundario, o un grupo aromático que contiene un grupo amino secundario, y puede contener nitrógeno; X es $-\text{CHY}-(\text{CH}_3)_2\text{Z}$; e Y y Z son respectivamente $-\text{H}$ u $-\text{OH}$, o forman juntos un enlace sencillo.



En el presente documento se describe un tercer compuesto de triprenilfenol representado por la siguiente fórmula

(III). En la siguiente fórmula (III), R⁴ representa un grupo representado por la siguiente fórmula (III-1), mientras que en la siguiente fórmula (III-1), R⁵ representa un grupo hidroxilo que puede estar presente o ausente; n representa un número entero de 0 o 1; X es -CHY-(CH₃)₂Z; e Y y Z son respectivamente -H u -OH, o forman juntos un enlace sencillo.



El potenciador de la trombólisis de la invención es un potenciador de la trombólisis que contiene el compuesto de 10 triprenilfenol inventivo representado por la fórmula (II)', (I-28)' o (I-29)' como principio activo.

Un método para producir el segundo compuesto de triprenilfenol de la invención incluye cultivar un hongo filamentoso en una solución de cultivo que contiene un compuesto de amina aditivo seleccionado entre el grupo que consiste en aminofenol, ácido aminobenzoico, adenina, adenosina, aminodihidroftalazindiona, ácido aminonaftolsulfónico, ácido sulfanílico y derivados de los mismos, y separar el presente compuesto de triprenilfenol del cultivo tras el cultivo.

Un método para producir el tercer compuesto de triprenilfenol incluye cultivar un hongo filamentosos en una solución de cultivo que contiene un compuesto de amina aditivo seleccionado entre el grupo que consiste en aminoácidos aromáticos y derivados de los mismos, y separar el compuesto de triprenilfenol objeto del cultivo tras el cultivo.

El segundo y tercer compuestos de triprenilfenol también pueden producirse de acuerdo con el método de producción que se ha descrito anteriormente, en el que el cultivo de un hongo filamentosos incluye un primer proceso de cultivo usando un medio restringido que tiene un contenido de compuesto de amina del 0,5 % en masa o menos, y un segundo proceso de cultivo usando un medio de producción que contiene un compuesto de amina aditivo, cuyo proceso comienza en una fase intermedia de cultivo.

En el presente documento se describe un método para producir un compuesto de triprenilfenol que incluye cultivar un hongo filamentososo en un primer proceso de cultivo usando un medio restringido en el que al menos uno del tipo y la cantidad de compuesto de amina está restringido, cultivar el hongo filamentososo en un segundo proceso de cultivo usando un medio de producción que contiene un compuesto de amina, cuyo proceso comienza en una fase intermedia de cultivo, y obtener un compuesto de triprenilfenol del cultivo obtenido tras el segundo proceso de cultivo.

35 El medio restringido usado en el primer proceso de cultivo puede contener el 0,5 % en masa o menos de un compuesto de amina, y el medio de producción puede contener un compuesto de amina orgánico.

Además, el primer compuesto de triprenilfenol se produce preferiblemente de acuerdo con el presente método de producción, en el que el medio restringido usado en el primer proceso de cultivo contiene el 0,5 % en masa o menos de un compuesto de amina orgánico y el medio de producción usado en el segundo proceso de cultivo contiene un compuesto de amina primaria inorgánico.

En cualquiera de los métodos de producción, el medio restringido y el medio de producción pueden contener además iones de metales de al menos una especie seleccionada entre el grupo que consiste en magnesio, cobalto, 45 hierro y calcio.

Además, en cualquiera de los métodos de producción, el hongo filamentoso puede ser *Stachybotrys microspora* IFO30018.

Efectos de la invención

- 5 De acuerdo con la invención, puede proporcionarse un compuesto de triprenilfenol novedoso que puede presentar una alta acción potenciadora de la trombólisis incluso a bajo peso molecular, y puede proporcionarse un potenciador de la trombólisis que contiene el compuesto.
- 10 De acuerdo con la invención, puede producirse eficazmente un compuesto de triprenilfenol activo que tiene alta actividad fisiológica.

Breve descripción de los dibujos

- 15 La figura 1 es una lista de las estructuras de diversos compuestos SMTP.
La figura 2 es un diagrama cromatográfico de acuerdo con el Ejemplo 1.
La figura 3 es un gráfico que muestra el efecto de SMTP-0 y orniplabina (SMTP-7) sobre la activación del plasminógeno de acuerdo con el Ejemplo 5 (la unidad de concentración en la leyenda es μM).
20 La figura 4 es un gráfico que muestra el efecto de SMTP-0 y orniplabina (SMTP-7) sobre la generación de fragmentos de plasminógeno de acuerdo con el Ejemplo 5 (la unidad de concentración es μM).

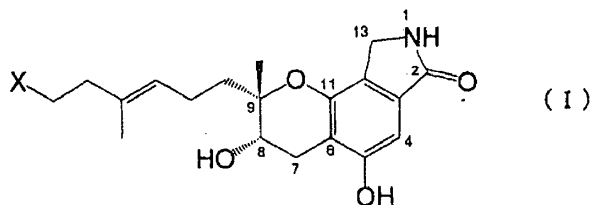
Mejor modo de realizar la invención

<Método para producir el compuesto de triprenilfenol, y primer compuesto de triprenilfenol>

- 25 El método de producción descrito para producir un compuesto de triprenilfenol se caracteriza porque incluye cultivar un hongo filamentoso en un primer proceso de cultivo usando un medio restringido en el que al menos uno del tipo y la cantidad de compuesto de amina está restringido, cultivar el hongo filamentoso en un segundo proceso de cultivo usando un medio de producción que contiene un compuesto de amina, cuyo proceso comienza en una fase
30 intermedia de cultivo, y obtener un compuesto de triprenilfenol del cultivo obtenido tras el segundo proceso de cultivo.

En el método de producción que se ha descrito anteriormente, puesto que se usa un medio restringido en el que al menos uno del tipo y la cantidad de compuesto de amina está restringido como medio usado en el primer proceso de cultivo, tras la fase intermedia de cultivo en la que comienza el segundo proceso de cultivo, pueden obtenerse
35 mayores cantidades de un compuesto intermedio, en comparación con métodos convencionales. Después, cuando se realiza el segundo proceso de cultivo usando un medio de producción que contiene un compuesto de amina, puede obtenerse eficazmente un compuesto de triprenilfenol deseado con buena selectividad.

- 40 El primer compuesto de triprenilfenol es un compuesto que se representa por la siguiente fórmula (I) y tiene una rotación óptica negativa (-). En la fórmula, X es $-\text{CH}_2(\text{CH}_3)_2\text{Z}$; e Y y Z son respectivamente $-\text{H}$ u $-\text{OH}$, o forman juntos un enlace sencillo.



- 45 En el compuesto de triprenilfenol representado por la fórmula (I), mientras que el átomo de nitrógeno en la posición 1 es una amina secundaria, tanto la posición 8 como la posición 9 tienen una configuración absoluta de (S), y el compuesto en su totalidad presenta una rotación óptica negativa (-) global. Puesto que tal actividad óptica y configuración absoluta son idénticas a las de un compuesto de triprenilfenol activo que tiene actividad fisiológica tal como potenciación de la trombólisis, cuando el sustituyente en la posición 1 en el presente compuesto se cambia
50 apropiadamente, pueden obtenerse fácilmente diversos compuestos de triprenilfenol.

En lo sucesivo en el presente documento, se describirá el método para producir un compuesto de triprenilfenol.

En el método de producción, se selecciona un hongo filamentoso del género *Stachybotrys* como hongo filamentoso usado para obtener un compuesto de triprenilfenol. Un microorganismo de producción particularmente preferido es *Stachybotrys microspora* o similar, y es incluso más preferida la cepa de *Stachybotrys microspora* (*S. microspora*) IFO30018.

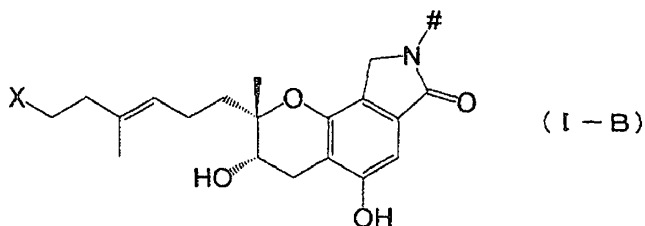
En el método de producción, el hongo filamentoso se cultiva mediante un proceso de cultivo de dos fases que incluye un primer proceso de cultivo usando un medio restringido y un segundo proceso de cultivo usando un medio de producción realizado a partir de una fase intermedia de cultivo.

En el primer proceso de cultivo, se usa un medio restringido en el que al menos uno del tipo y la cantidad de compuesto de amina está restringido. La expresión "al menos uno del tipo y la cantidad está restringido" como se usa en el presente documento, significa que la cantidad de un compuesto de amina seleccionado que va a añadirse al medio restringido se determina de acuerdo con el tipo del compuesto de amina. Cuando se usa un medio restringido de este tipo en el que al menos uno del tipo y la cantidad de compuesto de amina está restringido, puede producirse eficazmente un compuesto de triprenilfenol con buena selectividad en el segundo proceso de cultivo que comienza en una fase intermedia de cultivo.

En el segundo proceso de cultivo que comienza en una fase intermedia de cultivo, se usa un medio de producción que contiene un compuesto de amina. La expresión "fase intermedia de cultivo" como se usa en el presente documento, puede definirse como una fase tras un periodo dado desde el inicio del cultivo, proporcionándose este periodo dado con el fin de prolongar de manera segura el primer proceso de cultivo, preferiblemente en el segundo día o después, y más preferiblemente en el cuarto día o después, desde el inicio del cultivo. Si este periodo es demasiado corto, es decir, por ejemplo, si el cultivo usando un medio de producción se inicia inmediatamente tras el inicio del cultivo, la cantidad del compuesto intermedio requerida para obtener el compuesto de triprenilfenol deseado es insuficiente, y por lo tanto el compuesto de triprenilfenol no puede producirse eficazmente.

En el método de producción, el medio restringido usado en el primer proceso de cultivo puede ajustarse para que contenga el 0,5 % en masa o menos de un compuesto de amina, y el medio de producción usado en el segundo proceso de cultivo puede ajustarse para que contenga un compuesto de amina orgánico (en lo sucesivo en el presente documento, denominado como "primer método de producción").

De ese modo, puede obtenerse un compuesto intermedio que contiene un grupo funcional correspondiente al compuesto de amina orgánico contenido en el medio de producción, por ejemplo, un compuesto representado por la siguiente fórmula (I-B), sin alterar la capacidad de producción de compuesto del hongo filamentoso en el medio restringido. En la fórmula (I-B), X tiene el mismo significado que se ha definido anteriormente, y el número de referencia N° representa un grupo funcional predeterminado correspondiente al compuesto de amina contenido en el medio de producción.



En el primer método de producción, el compuesto de amina en el medio restringido incluye todos los compuestos de amina orgánicos e inorgánicos que se describirán más adelante. Este compuesto de amina sirve como fuente de nitrógeno y factor promotor del crecimiento para el crecimiento de un hongo filamentoso en el medio restringido, o como factor promotor de la producción para un precursor de compuesto de triprenilfenol. Con respecto a la forma de adición, el compuesto de amina puede usarse como una mezcla de origen natural, tal como extracto de levadura, caldo, peptona, triptona, harina de semilla de soja, Pharmamedia, licor de maceración de maíz o extracto de carne y pescado, o como un compuesto purificado. Puesto que las mezclas de origen natural contienen diversas especies de compuestos de amina, es necesario limitar la cantidad de las mezclas de origen natural en el medio restringido. En este caso, la cantidad puede ajustarse al 0,5 % en masa o menos, y en vista del crecimiento del hongo, la cantidad de producción, y la selectividad en la producción, pueden ajustarse preferiblemente del 0,01 al 0,5 % en masa, y más preferiblemente del 0,1 % en masa al 0,3 % en masa, en base al volumen total del medio restringido. Si la

cantidad excede del 0,5 % en masa, se generan simultáneamente compuestos distintos del compuesto intermedio, dando como resultado una disminución en la selectividad, y por lo tanto la eficacia de producción también puede disminuir, lo que no es preferible. Por otro lado, si la cantidad es inferior al 0,01 % en masa, la actividad del hongo filamentoso puede reducirse, lo que no es preferible. Además, en el caso de añadir un compuesto purificado como compuesto de amina, el compuesto se usa en una cantidad y tipo dentro de un intervalo en el que el crecimiento del hongo filamentoso usado en la producción y la producción del precursor de compuesto de triprenilfenol se producen favorablemente.

El hongo filamentoso cultivado en el medio restringido se suministra, en la fase intermedia de cultivo, al cultivo en el segundo proceso de cultivo que usa un medio de producción que contiene un compuesto de amina orgánico.

El medio de producción usado en el segundo proceso de cultivo puede constituirse con la misma composición que el medio restringido aparte de la inclusión de un compuesto de amina orgánico. Por este motivo, el cultivo en el segundo proceso de cultivo puede realizarse añadiendo un compuesto de amina orgánico al medio restringido usado en el primer proceso de cultivo, o puede añadirse directamente un medio que contiene compuesto de amina recién preparado.

El compuesto de amina orgánico que puede estar contenido en el medio de producción en el segundo proceso de cultivo puede estar presente en el medio en una cantidad necesaria para obtener el compuesto de triprenilfenol deseado, y se usa en una cantidad del 5 % en masa o menos, y en vista de la cantidad de producción, en una cantidad de preferiblemente el 0,01 % en masa al 1 % en masa, y más preferiblemente del 0,1 % en masa al 0,5 % en masa, en base al volumen total del medio.

Los ejemplos del compuesto de amina orgánico en el primer método de producción incluyen un producto sintético o un compuesto de amina de origen natural. Los ejemplos del componente de compuesto de amina de origen natural incluyen generalmente proteínas o componentes usados convencionalmente para añadir aminoácidos de origen natural a medios de cultivo, tales como extracto de levadura, caldo, peptona, triptona, harina de semilla de soja, Pharmamedia, licor de maceración de maíz y extracto de carne y pescado. En vista de la cantidad de producción, se prefieren extracto de levadura y peptona.

En vista del tipo y la cantidad de producción del compuesto de triprenilfenol producido, es preferible que el compuesto de amina orgánico añadido al medio de producción contenga un compuesto de amina primaria. El compuesto de amina primaria incluye aminoácidos de origen natural y aminoácidos sintéticos, y los ejemplos de los mismos incluyen valina, leucina, isoleucina, fenilalanina, triptófano, cistina, lisina y ornitina como α -aminoácidos, y los obtenidos sustituyendo el grupo carboxilo de un aminoácido de origen natural con hidrógeno, un grupo hidroxilo o un grupo hidroximetilo, por ejemplo, aminoalcoholes tales como 2-aminoetanol, y similares.

Entre ellos, el tipo del compuesto de amina contenido en el medio de producción en el segundo proceso de cultivo puede seleccionarse apropiadamente según el tipo del compuesto de triprenilfenol deseado.

Por ejemplo, con el fin de obtener un compuesto de triprenilfenol activo que tenga una acción promotora de la trombólisis, puede usarse favorablemente un medio de producción que contiene un aminoácido, tal como D-lisina, D-fenilalanina, D-leucina, D-triptófano o D-ornitina.

Específicamente, pueden producirse selectivamente compuestos de triprenilfenol deseados usando un medio de producción que contiene D-serina para SMTP-3D, un medio que contiene D-fenilalanina para SMTP-4D, un medio que contiene D-leucina para SMTP-5D, un medio que contiene D-triptófano para SMTP-6D, un medio que contiene D-ornitina para SMTP-7D, un medio que contiene D-lisina para SMTP-8D, un medio que contiene L-serina para SMTP-3, un medio que contiene L-fenilalanina para SMTP-4, un medio que contiene L-leucina para SMTP-5, un medio que contiene L-triptófano para SMTP-6, un medio que contiene L-ornitina para SMTP-7, un medio que contiene L-lisina para SMTP-8, un medio que contiene L-cistina para SMTP-9L, un medio que contiene L-isoleucina para SMTP-10L, y un medio que contiene L-valina para SMTP-11L (véase la figura 1).

Es deseable que el contenido del aminoácido en el medio de producción para el segundo proceso de cultivo sea del 0,03 % en masa al 0,3 % en masa en base al volumen del medio de producción.

Como compuestos de amina inorgánicos de acuerdo con el presente método de producción, pueden mencionarse ácido nítrico que está contenido como una sal inorgánica, compuestos de amina primaria inorgánicos y similares. Se

proporcionará a continuación una descripción adicional referente a los compuestos de amina primaria inorgánicos.

El medio restringido y el medio de producción contienen, además de los componentes que se han descrito anteriormente, componentes aditivos para medios sintéticos que se usan convencionalmente en el cultivo de los microorganismos que se han descrito anteriormente, con el fin de promover la producción microbiana de compuestos, o similares. Los ejemplos de los componentes aditivos que pueden añadirse al presente medio restringido incluyen fuentes de nutrientes tales como glucosa, sacarosa, dextrina, aceites animales y aceites vegetales, vitaminas y sales inorgánicas que pueden generar, por ejemplo, cloro, nitrato, sulfato, fosfato, sodio, potasio, calcio, magnesio, cobalto y otros iones.

Entre las sales inorgánicas, particularmente las sales inorgánicas que pueden generar iones de metales, pueden añadirse preferiblemente al medio restringido, desde el punto de vista de la potenciación de la cantidad de producción del producto o la eficacia de producción. Tales iones de metales incluyen iones de magnesio, iones de cobalto, iones de hierro, iones de calcio, iones de potasio, iones de sodio, y similares.

La cantidad de adición de estos iones de metales puede ajustarse del 0,001 % en masa al 0,5 % en masa (más preferiblemente, del 0,01 % en masa al 0,1 % en masa) como sulfato de magnesio heptahidrato en el caso de iones de magnesio; del 0,00001 % en masa al 0,01 % en masa (más preferiblemente, del 0,0001 % en masa al 0,005 % en masa) como cloruro de cobalto hexahidrato en el caso de iones de cobalto; del 0,0001 % en masa al 0,1 % en masa (más preferiblemente, del 0,0005 % en masa al 0,05 % en masa) como sulfato de hierro (II) heptahidrato en el caso de iones de hierro; del 0,00001 % en masa al 0,1 % en masa (más preferiblemente, del 0,0001 % en masa al 0,05 % en masa) como cloruro de calcio dihidrato en el caso de iones de calcio; del 0,002 % en masa al 2 % en masa (más preferiblemente, del 0,05 % en masa al 0,5 % en masa) como fosfato de potasio dibásico en el caso de iones de potasio; y del 0,002 % en masa al 2 % en masa (más preferiblemente, del 0,05 % en masa al 0,5 % en masa) como fosfato de sodio dibásico o nitrato de sodio en el caso de iones de sodio.

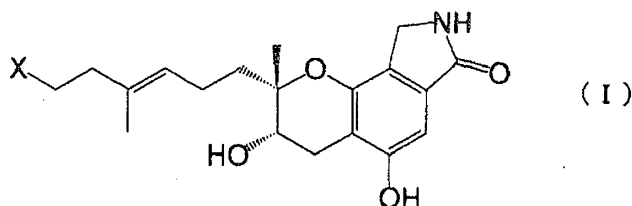
Estas sales inorgánicas e iones de metales pueden usarse individualmente, o pueden usarse en combinación de dos o más especies.

El primer proceso de cultivo usando el medio restringido se continúa hasta la fase intermedia de cultivo mediante lo cual se obtiene una cantidad suficiente del compuesto intermedio para obtener el compuesto de triprenilfenol deseado eficazmente. Desde el punto de vista de la producción eficaz del compuesto de triprenilfenol, el segundo proceso de cultivo usando el medio de producción se realiza preferiblemente en el segundo día o después, y más preferiblemente en el cuarto día o después desde el inicio del cultivo de hongo filamentoso.

El segundo proceso de cultivo se completa terminando el cultivo cuando la cantidad del compuesto de triprenilfenol producido es máxima. El periodo del segundo proceso de cultivo puede variar con el estado del microorganismo y el tamaño del sistema de cultivo, pero el periodo es generalmente de 1 día a 5 días, y preferiblemente de 1 a 3 días desde el punto de vista de la cantidad de producción.

En el método de producción, el medio restringido usado en el primer proceso de cultivo puede ajustarse para que contenga el 0,5 % en masa o menos de un compuesto de amina orgánico, y el medio de producción usado en el segundo proceso de cultivo puede decirse que contiene un compuesto de amina primaria inorgánico (en lo sucesivo en el presente documento, denominado como "segundo método producción" en el presente documento).

De ese modo, puede obtenerse un compuesto representado por la siguiente fórmula (I), que contiene una amina secundaria correspondiente al compuesto de amina primaria inorgánico contenido en el medio de producción, y que tiene una rotación óptica negativa (-), sin alterar la capacidad de producción de compuesto del hongo filamentoso en el medio restringido. En la fórmula, X es $-\text{CH}_2\text{Y}-(\text{CH}_2)_2\text{Z}$; e Y y Z son cada uno $-\text{H}$ u $-\text{OH}$, o forman juntos un enlace sencillo.



En el segundo método de producción, el medio restringido contiene el 0,5 % en masa o menos de un compuesto de amina orgánico. El compuesto de amina orgánico como se usa en el presente documento puede ilustrarse mediante los mismos compuestos que se han descrito anteriormente para el primer método de producción, y puede ilustrarse preferiblemente mediante componentes de compuesto de amina de origen natural. Por lo tanto, puede obtenerse un compuesto intermedio sin alterar la capacidad de producción del hongo filamentosos. El contenido del compuesto de amina orgánico en el medio restringido puede ajustarse al 0,5 % en masa o menos, y desde los puntos de vista del crecimiento del hongo, la cantidad de producción y la selectividad en la producción, preferiblemente a del 0,01 al 0,5 % en masa, y más preferiblemente del 0,1 % en masa al 0,3 % en masa, en base al volumen total del medio restringido. Si está contenido más del 0,5 % en masa de un compuesto de amina orgánico, se generan simultáneamente compuestos distintos del compuesto intermedio correspondiente al compuesto de fórmula (I), dando como resultado una disminución en la selectividad, y por lo tanto la eficacia de producción también puede disminuir, lo que no es preferible.

El medio restringido del presente método de producción puede contener un compuesto de amina inorgánico. Este compuesto de amina inorgánico puede ser un nitrato contenido como una sal inorgánica u otras aminas inorgánicas, y desde el punto de vista de la estructura del compuesto de triprenilfenol resultante, está contenido preferiblemente un compuesto de amina primaria inorgánico. El contenido del compuesto de amina inorgánico que puede estar contenido en el medio restringido puede variar con el tipo y la cantidad del compuesto de triprenilfenol deseado, pero desde los puntos de vista del crecimiento del hongo, la cantidad de producción y la selectividad en la producción, el contenido es preferiblemente del 1 % en masa o menos, y desde el punto de vista de la productividad, es más preferiblemente del 0,5 % en masa o menos, e incluso más preferiblemente del 0,3 % en masa o menos, en base al volumen del medio restringido.

En el segundo método de producción, el medio de producción contiene un compuesto de amina primaria inorgánico. De ese modo, el compuesto de fórmula (I) puede obtenerse eficazmente.

Los ejemplos del compuesto de amina primaria inorgánico contenido en el medio restringido y el medio de producción incluyen sales de amonio tales como cloruro de amonio, acetato de amonio, sulfato de amonio y fosfato de amonio. Entre ellos, se prefiere cloruro de amonio desde el punto de vista de la cantidad de producción del producto.

El compuesto de amina inorgánico que puede estar contenido en el medio de producción en el segundo proceso de cultivo puede estar presente en el medio en una cantidad necesaria para obtener el compuesto de triprenilfenol deseado, y se usa en una cantidad del 5 % en masa o menos, y desde el punto de vista de la cantidad de producción, preferiblemente en una cantidad del 0,01 % en masa al 1 % en masa, y más preferiblemente del 0,1 % en masa al 0,5 % en masa, en base al volumen total del medio.

El medio restringido y el medio de producción en el segundo método de producción contienen preferiblemente sales inorgánicas, como en el caso del primer método de producción, desde los puntos de vista del crecimiento del hongo filamentosos y la cantidad de producción del compuesto producido. Con respecto a las sales inorgánicas y los iones de metales que pueden estar contenidos, puede aplicarse de manera similar el contenido que se ha descrito anteriormente.

El primer y segundo procesos de cultivo en los métodos de producción primero y segundo se realizan normalmente mediante cultivo estacionario o cultivo con agitación usando los medios que se han descrito anteriormente. En el caso de aplicar cultivo con agitación, el cultivo puede realizarse a una velocidad aplicada convencionalmente en el cultivo de hongos, y por ejemplo, en el caso de usar un agitador rotatorio de modelo TB-25S (amplitud vibracional de 70 mm) fabricado por Takasaki Scientific Instruments Corp., y una cantidad de medio de 100 ml en un frasco que tiene una capacidad de 500 ml, la velocidad puede ajustarse de 30 rpm a 240 rpm, y preferiblemente de 160 rpm a 200 rpm.

La temperatura del cultivo en el primer y segundo procesos de cultivo puede ajustarse apropiadamente de acuerdo con las condiciones de crecimiento de hongos a diversas temperaturas, pero la temperatura es generalmente de 4 °C a 50 °C, preferiblemente de 15 °C a 37 °C, más preferiblemente de 20 °C a 30 °C, e incluso más preferiblemente temperatura ambiente (25 °C). Más allá de este intervalo, no puede producirse eficazmente un compuesto de triprenilfenol. El pH de los medios respectivos usados en los procedimientos puede ajustarse generalmente de 3 a 9, y preferiblemente de 5 a 6.

Además, antes de el primer y segundo procesos de cultivo, puede proporcionarse un proceso de cultivo preliminar

para estabilizar la capacidad de producción del microorganismo. El medio usado en el proceso de cultivo preliminar puede ser un medio de crecimiento convencional usado en el mantenimiento de microorganismos.

El compuesto de triprenilfenol obtenido puede obtenerse mediante recuperación y purificación a partir del cultivo. Los métodos de recuperación y purificación pueden ser cualquier método siempre que sean técnicas que puedan recuperar y purificar el compuesto de triprenilfenol liberado al medio, y pueden mencionarse cromatografía de líquido, extracción con disolventes, cristalización y similares. La recuperación y purificación del producto se realiza preferiblemente mediante un proceso de múltiples fases de dos o más fases, desde el punto de vista de la eficacia de recuperación.

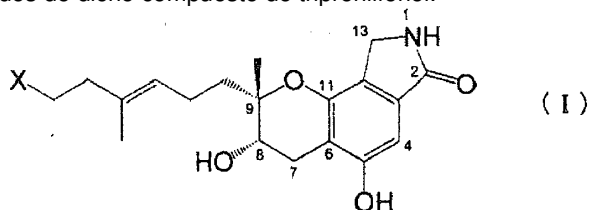
Para estos métodos de recuperación y purificación, es preferible seleccionar el disolvente y similares haciendo uso del hecho de que el compuesto de triprenilfenol es soluble en aceite.

Cuando el compuesto de triprenilfenol va a recuperarse y purificarse a partir del cultivo, es preferible eliminar el cuerpo del hongo del cultivo de antemano. En este momento, se añade un disolvente tal como metanol al cultivo para extraer el compuesto de triprenilfenol en el cuerpo del hongo, y la posterior eliminación del cuerpo del hongo puede realizarse mediante filtración.

A continuación, se describirá el primer compuesto de triprenilfenol, es decir, un precursor de compuesto de triprenilfenol.

El precursor de compuesto de triprenilfenol representado por la siguiente fórmula (I) (en la que X es $-\text{CH}_2-(\text{CH}_3)_2\text{Z}$; e Y y Z son cada uno $-\text{H}$ u $-\text{OH}$, o forman juntos un enlace sencillo) tiene las mismas actividad óptica y configuración absoluta que las del compuesto de triprenilfenol activo que tiene actividad fisiológica tal como potenciación de la trombólisis, como se ha descrito anteriormente. Por lo tanto, cuando el sustituyente en la posición 1 del compuesto se cambia apropiadamente por otros sustituyentes, pueden obtenerse fácilmente diversos compuestos de triprenilfenol. Esto es porque la posición 1 está ocupada por una amina secundaria, y por lo tanto la amina secundaria en la posición 1 puede modificarse con un sustituyente fisiológicamente activo. De ese modo, puede inducirse a partir del mismo un compuesto de triprenilfenol activo que tiene actividad fisiológica tal como potenciación de la trombólisis. En este momento, el sustituyente fisiológicamente activo usado en la modificación puede seleccionarse apropiadamente de los sustituyentes existentes, de acuerdo con la actividad deseada.

Además, el compuesto de triprenilfenol tiene un efecto anticancerígeno, un efecto terapéutico para el trastorno renal y una acción potenciadora de la trombólisis como se describirá más adelante, y tiene características de absorción o farmacocinética conformes a esos fines. Por lo tanto, el precursor de compuesto de triprenilfenol también puede usarse en la síntesis de derivados de dicho compuesto de triprenilfenol.

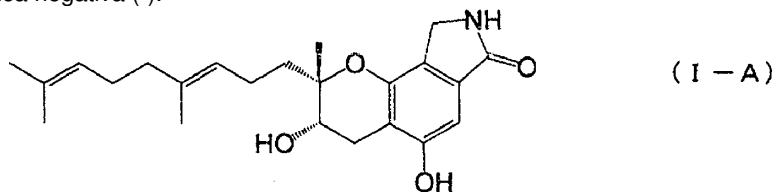


En general, se sabe que sustancias fisiológicamente activas pueden tener propiedades en gran medida diferentes debido a la actividad óptica o similar, aún cuando las sustancias tengan la misma estructura plana. Con respecto al compuesto de triprenilfenol, un compuesto que tiene una configuración absoluta de 8(R) y 9(R), y una rotación óptica positiva (+), presenta efectos que son diferentes de los de un compuesto que tiene una configuración absoluta de 8(S) y 9(S), y una rotación óptica negativa (-). El compuesto de triprenilfenol de la invención es útil para obtener eficazmente un compuesto de triprenilfenol activo que presenta una configuración absoluta de 8(S) y 9(S) y una rotación óptica negativa (-), y tiene actividad fisiológica útil en un organismo vivo.

Aquí, la configuración absoluta de la posición 8 y la posición 9 y la rotación óptica pueden confirmarse usando medios bien conocidos que se usan convencionalmente en la técnica relacionada para confirmar la estereoestructura de un compuesto, por ejemplo, C-RMN, H-RMN, análisis de masa, IR, análisis de la estructura cristalina por rayos X, rotación óptica específica y similares.

Desde el punto de vista de la actividad fisiológica, se prefiere particularmente un compuesto de triprenilfenol

representado por la siguiente fórmula (I-A), en la que Y y Z están unidos entre sí formando un enlace sencillo, y que tiene una rotación óptica negativa (-).



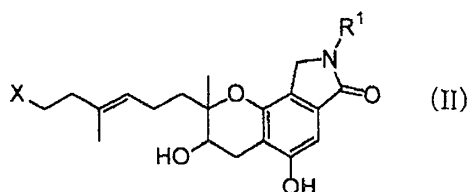
- 5 El primer compuesto de triphenilfenol puede obtenerse de acuerdo con un método de producción usando síntesis química o microorganismos, pero es particularmente preferible usar el segundo método de producción de la invención porque el compuesto objeto puede obtenerse eficazmente.

<Segundo compuesto de triphenilfenol>

10

El segundo compuesto de triphenilfenol que es según la invención es un compuesto representado por la siguiente fórmula (II).

- 15 Este segundo compuesto de triphenilfenol es un monómero, así como un compuesto de bajo peso molecular en el que, además de la estructura de triphenilfenol, un grupo aromático que tiene un sustituyente predeterminado que se describirá más adelante, está directamente unido al átomo de nitrógeno en la posición 1, y puede presentar una alta acción potenciadora de la activación del plasminógeno incluso a baja concentración.



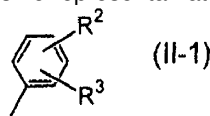
- 20 en la que R¹ representa un grupo aromático que tiene como sustituyente o como parte de un sustituyente al menos un grupo seleccionado entre el grupo que consiste en un grupo carboxilo, un grupo hidroxilo, un grupo ácido sulfónico y un grupo amino secundario, o un grupo aromático que contiene un grupo amino secundario y puede contener nitrógeno. Es decir, el compuesto objeto tiene un grupo aromático directamente unido al átomo de nitrógeno de la estructura de triphenilfenol. En el caso en el que esté presente una pluralidad de sustituyentes en los
- 25 grupos aromáticos, pueden ser idénticos o diferentes entre sí. Tal sustituyente es, desde el punto de vista de la capacidad de absorción, un grupo aromático que tiene un peso molecular de 200 o menos para todos los sustituyentes, más preferiblemente de 160 o menos, y de manera particularmente preferible de 140 o menos. La posición del sustituyente en el grupo aromático puede ser cualquiera de la posición para, posición meta y posición orto en relación con el átomo de nitrógeno de la estructura de triphenilfenol.

30

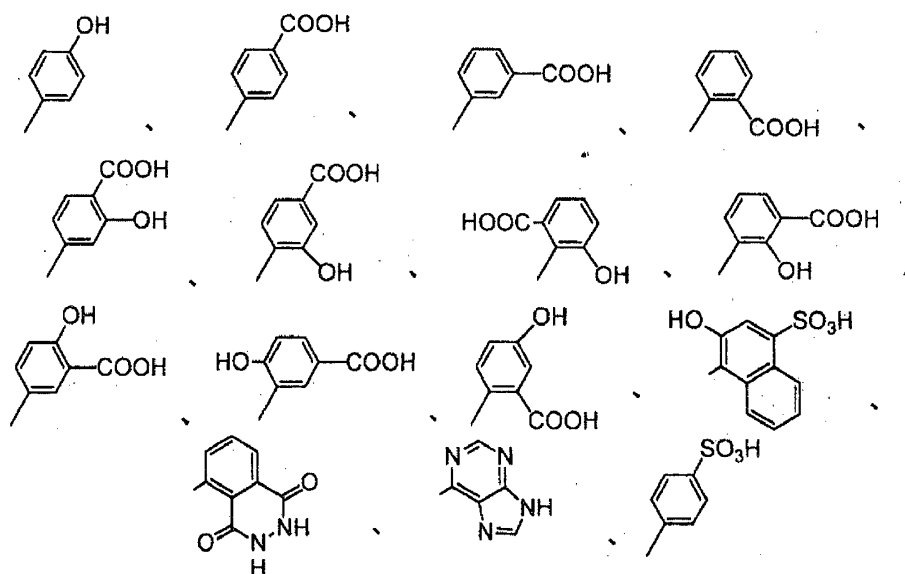
El grupo aromático en el compuesto objeto puede ser un grupo aromático como sustituyente o como parte de un sustituyente que tiene al menos un grupo seleccionado entre el grupo que consiste en un grupo carboxilo, un grupo hidroxilo, un grupo ácido sulfónico y un grupo amino secundario, o un grupo aromático que contiene un grupo amino secundario y puede contener nitrógeno, y puede tener además otro sustituyente como sustituyente adicional. Como

35 tal sustituyente adicional, puede mencionarse un grupo alquilo inferior, por ejemplo, un grupo alquilo que tiene de 1 a 5 átomos de carbono.

- El grupo aromático puede ser uno representado por la siguiente fórmula (II-1), desde el punto de vista de la acción trombolítica. En la siguiente fórmula (II-1), R² y R³ representan respectivamente un átomo de hidrógeno, un grupo
- 40 carboxilo, un grupo hidroxilo o un grupo ácido sulfónico, o están unidos juntos para representar un grupo cíclico que contiene un grupo amino secundario, pero ambos no representan átomos de hidrógeno al mismo tiempo.



Tal grupo aromático puede ser uno seleccionado entre los siguientes, desde el punto de vista de la acción trombolítica.

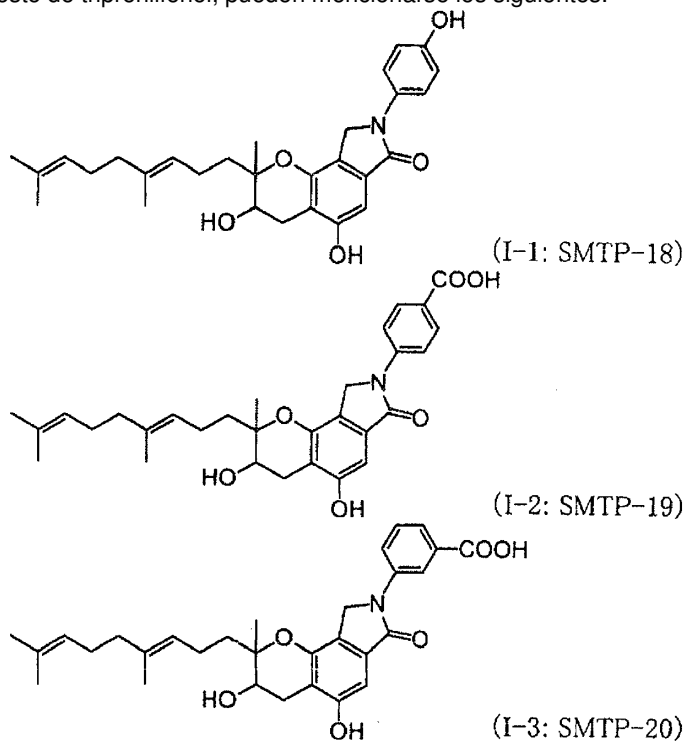


5

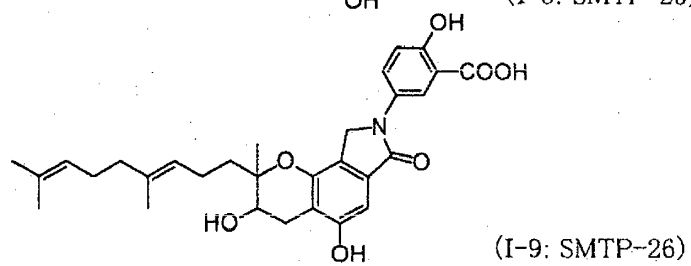
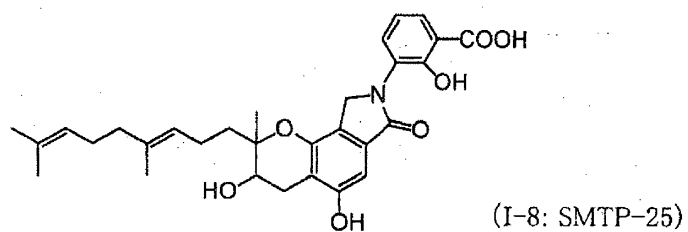
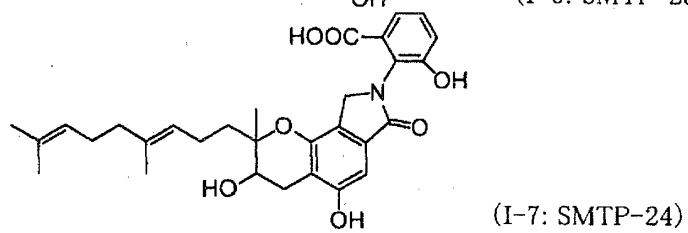
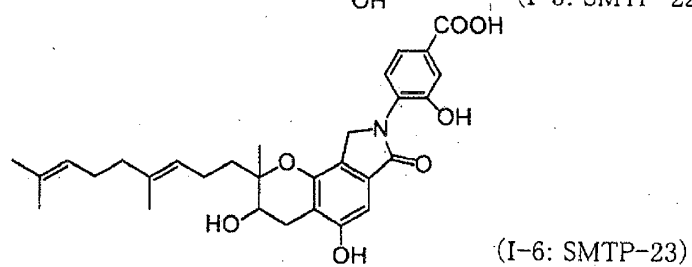
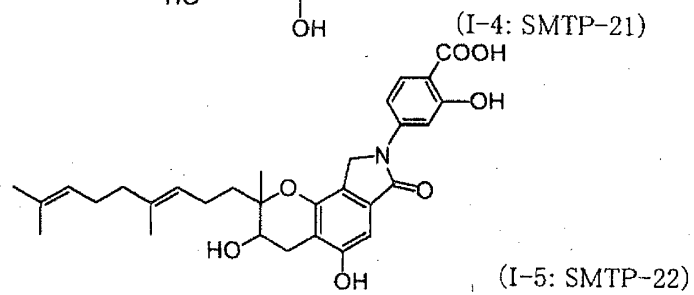
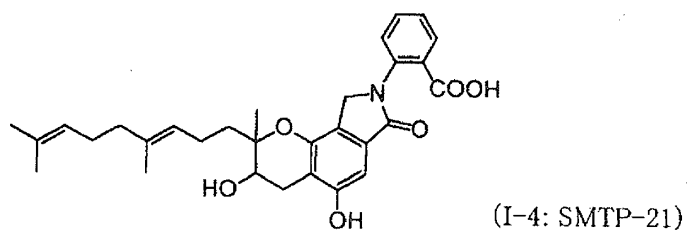
Tal grupo aromático puede derivarse de un compuesto de amina aditivo seleccionado entre el grupo que consiste en aminofenol, ácido aminobenzoico, adenina, adenosina, aminodihidroftalazindiona, ácido aminonaftolsulfónico, ácido sulfanílico y derivados de los mismos, como se describirá más adelante.

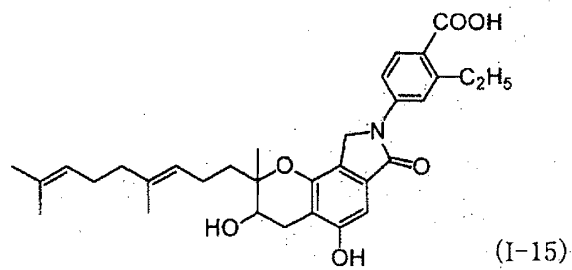
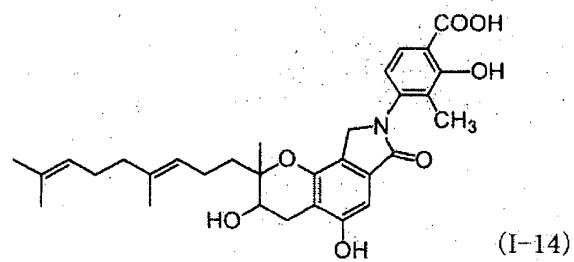
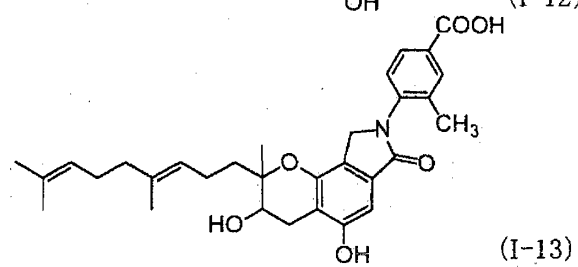
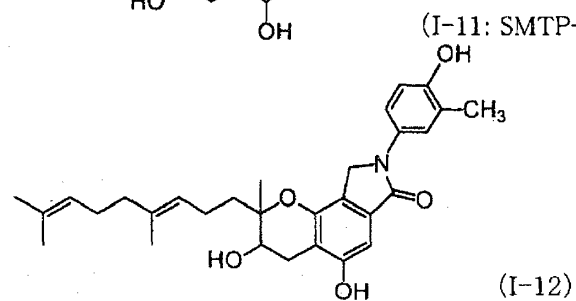
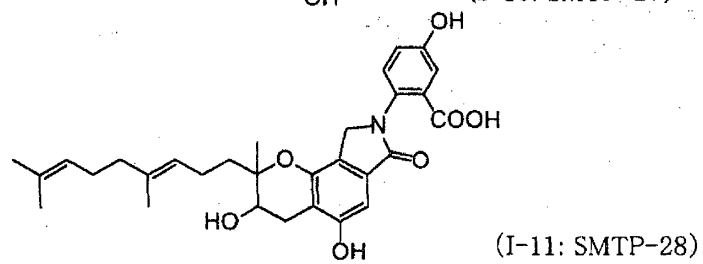
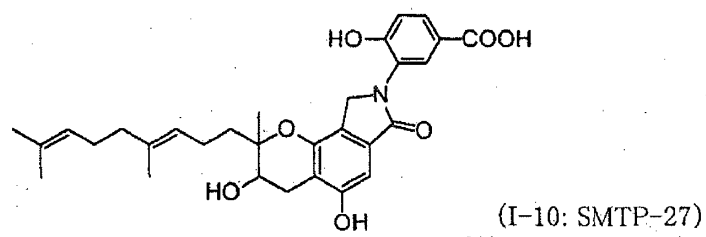
- 10 Además, en la fórmula, X es $-\text{CHY}-(\text{CH}_2)_2\text{Z}$; e Y y Z son respectivamente -H u -OH, o forman juntos un enlace sencillo. Desde el punto de vista de la actividad fisiológica, es preferible que Y y Z estén unidos entre sí formando un enlace sencillo.

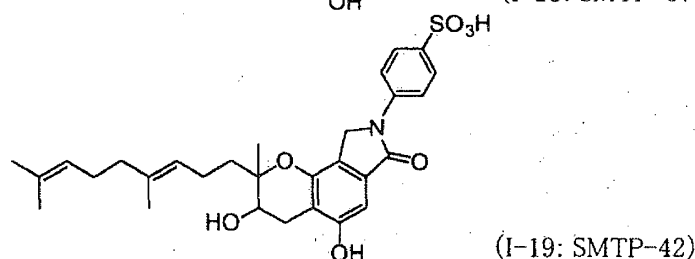
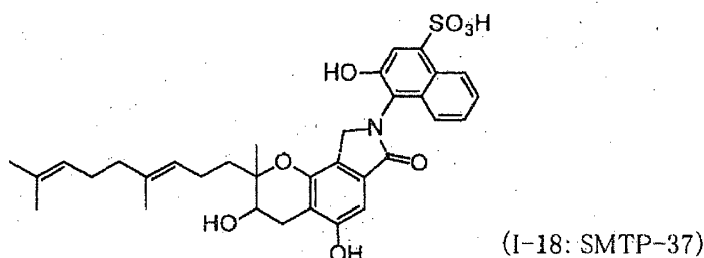
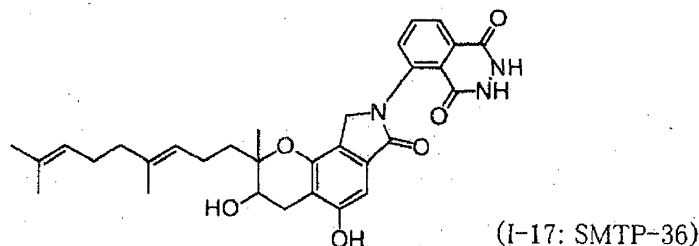
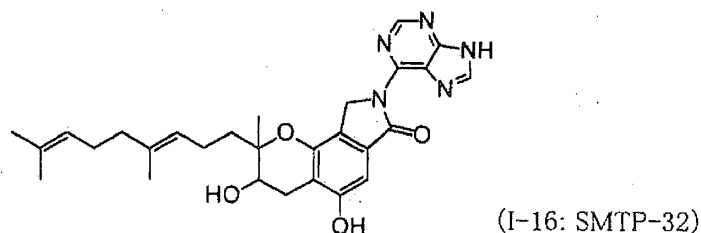
Como tal segundo compuesto de triprenilfenol, pueden mencionarse los siguientes.



15







5

El segundo compuesto de triphenilfenol puede producirse mediante síntesis química, pero también puede producirse eficazmente usando un hongo filamentoso.

10 Específicamente, el método de producción para producir el segundo compuesto de triphenilfenol incluye cultivar un hongo filamentoso en un medio que contiene el compuesto de amina aditivo que se describirá más adelante, y separar el compuesto de triphenilfenol del cultivo obtenido tras el cultivo.

15 En el presente método de producción, el hongo filamentoso capta el compuesto de amina aditivo presente en el medio, cuyo compuesto es aminofenol, ácido aminobenzoico, adenina, adenosina, aminodihidroftalazindiona, ácido aminonaftolsulfónico, ácido sulfanílico o un derivado de los mismos, como grupo aromático que va a unirse directamente al esqueleto de triphenilfenol. De ese modo, puede obtenerse eficazmente el segundo compuesto de triphenilfenol.

20 Como hongo filamentoso usado para obtener el compuesto de triphenilfenol de la invención, se selecciona un hongo filamentoso del género *Stachybotrys*. Un hongo productor particularmente preferido es *Stachybotrys microspora* o similar, y es más preferiblemente la cepa de *Stachybotrys microspora* IFO30018.

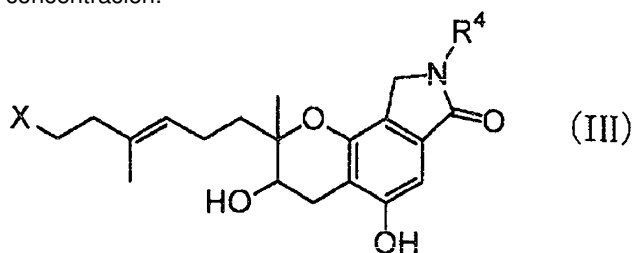
En el presente método de producción, el compuesto de amina aditivo de acuerdo con el presente método de

producción puede estar presente en el proceso de cultivo del hongo filamentoso, y puede permitirse que esté presente desde la fase temprana de cultivo. Sin embargo, desde el punto de vista de la eficacia de producción, es preferible que el compuesto de amina aditivo se añada a la fase intermedia de cultivo.

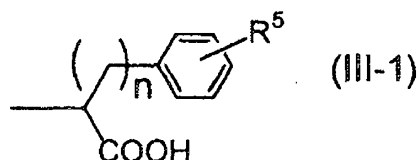
- 5 En el caso de añadir el compuesto de amina aditivo en la fase intermedia de cultivo, el proceso de cultivo del hongo filamentoso incluye preferiblemente un primer proceso de cultivo usando un medio restringido que tiene un contenido de un compuesto de amina del 0,5 % en masa o menos, y un segundo proceso de cultivo usando un medio de producción que contiene un compuesto de amina aditivo, procedimiento que comienza en la fase intermedia de cultivo.
- 10 Puesto que se usa un medio restringido en el que el contenido del compuesto de amina está limitado al 0,5 % en masa como medio usado en el primer proceso de cultivo, tras la fase intermedia de cultivo en la que comienza el segundo proceso de cultivo, pueden obtenerse mayores cantidades de un compuesto intermedio, en comparación con métodos convencionales. Además, tras producir grandes cantidades de un compuesto intermedio como tal,
- 15 cuando se realiza el segundo proceso de cultivo usando un medio de producción que contiene un compuesto de amina aditivo para obtener un segundo compuesto de triprenilfenol, puede obtenerse eficazmente un segundo compuesto de triprenilfenol deseado con buena selectividad. Adicionalmente, el término "compuesto de amina" como se usa en el presente documento incluye los compuestos de amina aditivos, a menos que se indique otra cosa.
- 20 El método de producción para producir el segundo compuesto de triprenilfenol es el mismo que se ha descrito para el primer método de producción en el método que se ha descrito anteriormente para producir el compuesto de triprenilfenol de la invención, excepto por el tipo del compuesto de amina aditivo, y la materia objeto que se ha descrito anteriormente puede aplicarse sin ninguna modificación.
- 25 El compuesto de amina aditivo puede tener un sustituyente distinto de un grupo carboxilo, un grupo hidroxilo, un grupo ácido sulfónico y un grupo amino secundario, y puede tener un grupo alquilo inferior, por ejemplo, un grupo alquilo que tiene de 1 a 5 átomos de carbono. Además, el compuesto de amina aditivo puede tener también una pluralidad de grupos amino, pero desde el punto de vista de la eficacia de producción, es preferible que el compuesto de amina tenga un grupo amino.
- 30 Tal compuesto de amina que puede añadirse es preferiblemente un compuesto de monoamina que tiene tanto un grupo carboxilo como un grupo hidroxilo, desde el punto de vista de la acción potenciadora de la trombólisis.
- 35 Como compuesto de amina aditivo, puede mencionarse aminofenol, ácido aminobenzoico, adenina, adenosina, aminodihidroftalazindiona, ácido aminonaftolsulfónico, ácido sulfanílico y derivados de los mismos. Los ejemplos de tal compuesto de amina aditivo incluyen aminofenol, metilaminofenol, ácido aminobenzoico, ácido aminosalicílico, ácido aminohidroxibenzoico, ácido hidroxiantranílico, adenina, adenosina, aminodihidroftalazindiona, ácido aminonaftolsulfónico y ácido sulfanílico, y por ejemplo pueden mencionarse ácido p-aminobenzoico, ácido 3-aminosalicílico, ácido o-aminobenzoico, ácido 4-amino-3-hidroxibenzoico, ácido 3-hidroxiantranílico, ácido 5-
- 40 hidroxiantranílico, ácido 4-aminosalicílico, ácido 5-aminosalicílico, ácido 3-amino-4-hidroxibenzoico, ácido 4-amino-3-metilsalicílico, adenina, adenosina, 5-amino-2,3-dihidro-1,4-ftalazindiona, ácido 1-amino-2-naftol-4-sulfónico, ácido p-sulfanílico y derivados de los mismos. Estos compuestos de amina aditivos pueden usarse individualmente o en combinación de dos o más especies.
- 45 Entre éstos, desde el punto de vista de la acción potenciadora de la trombólisis, se prefieren ácido p-aminobenzoico, ácido o-aminobenzoico, ácido 3-aminosalicílico, ácido 4-amino-3-hidroxibenzoico, ácido 3-hidroxiantranílico, ácido 5-hidroxiantranílico, ácido 3-amino-4-hidroxibenzoico, ácido 4-aminosalicílico, 5-amino-2,3-dihidro-1,4-ftalazindiona y ácido 1-amino-2-naftol-4-sulfónico.
- 50 El compuesto de amina aditivo que puede estar contenido en el medio de producción en el segundo proceso de cultivo puede estar presente en el medio en una cantidad necesaria para obtener el compuesto de triprenilfenol deseado, y se usa en una cantidad del 5 % en masa o menos, y desde el punto de vista de la cantidad de producción, preferiblemente en una cantidad del 0,01 % en masa al 1 % en masa, y más preferiblemente del 0,1 % en masa al 0,5 % en masa, en base al volumen total del medio.
- 55 <Tercer compuesto de triprenilfenol>

El tercer compuesto de triprenilfenol es un compuesto de triprenilfenol representado por la siguiente fórmula (III).

Este tercer compuesto de triprenilfenol tiene un sustituyente derivado de un aminoácido α -aromático, que está unido directamente al átomo de nitrógeno en la posición 1 de la estructura de triprenilfenol. Debido a esto, el segundo compuesto de triprenilfenol tiene sólo uno o dos grupos metilo dispuestos entre este átomo de nitrógeno en la posición 1 y el anillo aromático. Como resultado, el segundo compuesto de triprenilfenol es un monómero, así como un compuesto de bajo peso molecular, y puede presentar una alta acción potenciadora de activación del plasminógeno incluso a baja concentración.

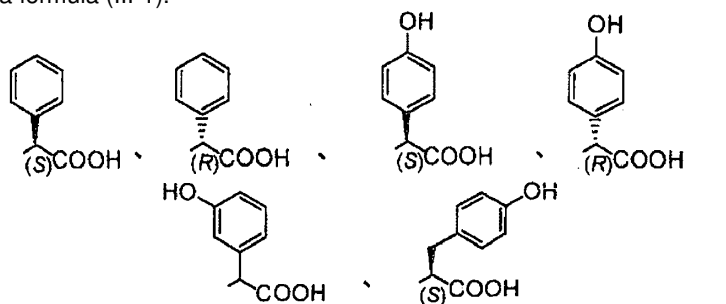


en la que R^4 representa un residuo de aminoácido aromático representado por la siguiente fórmula (III-1). En la siguiente fórmula (III-1), R^5 representa un grupo hidroxilo que puede estar presente o ausente, y n representa un número entero de 0 o 1.



El grupo representado por la fórmula (III-1) en el compuesto objeto es preferiblemente un residuo que tiene un peso molecular de 200 o menos, más preferiblemente de 160 o menos, y de manera particularmente preferible de 140 o menos, para el sustituyente en su totalidad desde el punto de vista de la capacidad de absorción. Este grupo representado por la fórmula (III-1) puede tener adicionalmente otro sustituyente distinto del grupo carboxilo en la posición α , como sustituyente adicional. Tal sustituyente adicional puede ser un grupo hidroxilo, un grupo carboxilo o, por ejemplo, un grupo alquilo que tiene de 1 a 5 átomos de carbono. Además, la posición del sustituyente unido al anillo aromático en el residuo de aminoácido aromático puede ser cualquiera de la posición para, posición meta y posición orto.

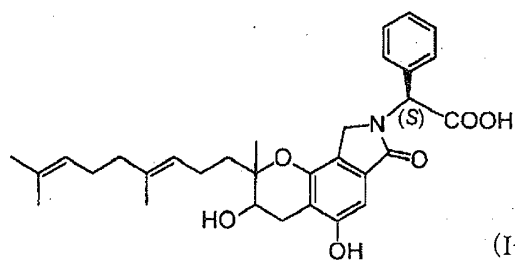
Tal grupo representado por la fórmula (III-1) se obtiene preferiblemente a partir de fenilglicina, tirosina o un derivado de los mismos, desde el punto de vista de la acción trombolítica. Además, en el caso de un residuo de tirosina, la posición del grupo hidroxilo, grupo carboxilo, grupo alquilo inferior o similar unido al anillo aromático puede ser cualquiera de la posición para, posición meta y posición orto. Entre ellos, se prefieren más los siguientes como tal grupo representado por la fórmula (III-1).



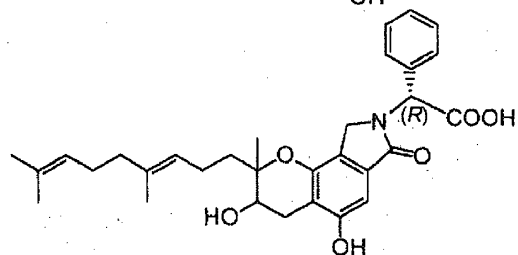
Tal grupo representado por la fórmula (III-1) puede derivarse de un compuesto de amina aditivo seleccionado entre el grupo que consiste en fenilglicina, tirosina y derivados de los mismos, tal como se describirá más adelante.

En las fórmulas, X es $-\text{CHY}-(\text{CH}_3)_2\text{Z}$; e Y y Z son cada uno $-\text{H}$ u $-\text{OH}$, o forman juntos un enlace sencillo. Desde el punto de vista de la actividad fisiológica, es preferible que Y y Z estén unidos entre sí formando un enlace sencillo.

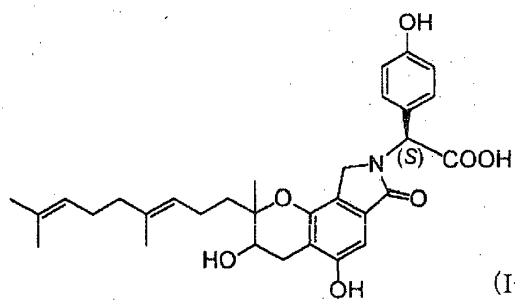
Como tal tercer compuesto de triprenilfenol, pueden mencionarse los siguientes.



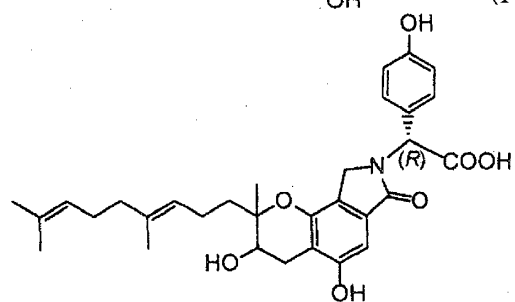
(I-20: SMTP-43)



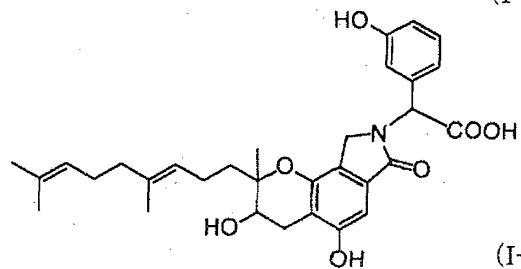
(I-21: SMTP-43D)



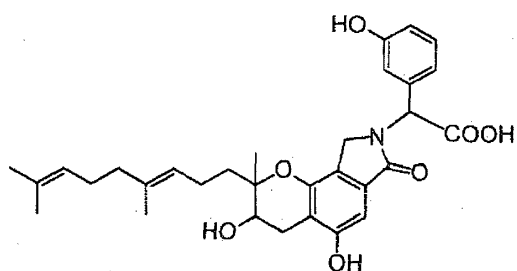
(I-22: SMTP-44)



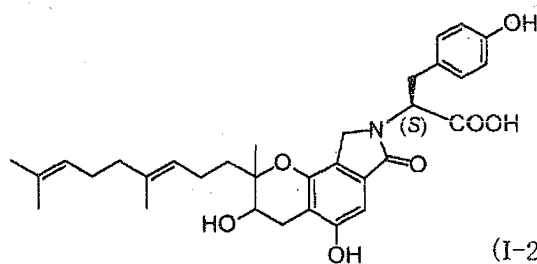
(I-23: SMTP-44D)



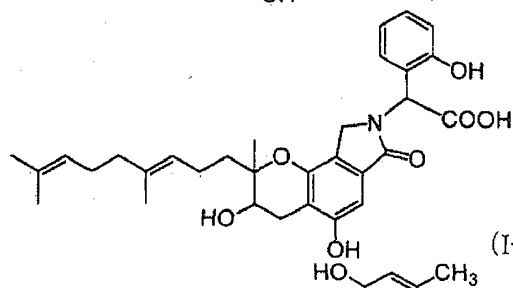
(I-24: SMTP-45-I)



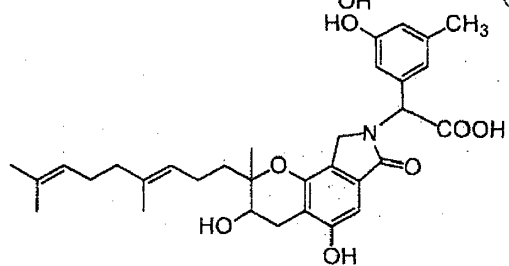
(I-25: SMTP-45-II)



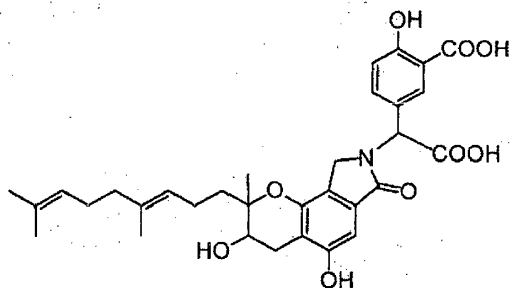
(I-26: SMTP-14)



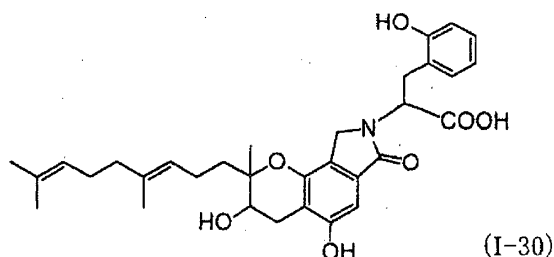
(I-27)



(I-28)



(I-29)



El tercer compuesto de triphenilfenol puede producirse mediante síntesis química, pero también puede producirse eficazmente usando un hongo filamentoso.

5

Específicamente, el método de producción para producir el compuesto de triphenilfenol incluye cultivar un hongo filamentoso en un medio que contiene un compuesto de amina aditivo que se describirá más adelante, y separar el compuesto de triphenilfenol del cultivo obtenido tras el cultivo.

10 En el presente método de producción, el hongo filamentoso capta el compuesto de amina aditivo en el medio, compuesto que es un aminoácido aromático o un derivado del mismo, como residuo de aminoácido α -aromático que va a unirse directamente al átomo de nitrógeno de la estructura de triphenilfenol. De ese modo, puede obtenerse eficazmente el tercer compuesto de triphenilfenol.

15 Como hongo filamentoso usado para obtener el tercer compuesto de triphenilfenol, se selecciona un hongo filamentoso del género *Stachybotrys*, como en el caso de los métodos de producción que se han descrito anteriormente. Un hongo productor particularmente preferido es *Stachybotrys microspora* o similares, y más preferiblemente la cepa de *Stachybotrys microspora* IFO30018.

20 En el método para producir el tercer compuesto de triphenilfenol, el compuesto de amina aditivo que es un aminoácido aromático o un derivado del mismo, puede estar presente durante el proceso de cultivo del hongo filamentoso, y puede permitirse que esté presente desde la fase temprana de cultivo. Sin embargo, desde el punto de vista de la eficacia de producción, es preferible que el compuesto de amina se añada en la fase intermedia de cultivo.

25

En el caso de añadir el compuesto de amina aditivo en la fase intermedia de cultivo, es preferible que el proceso de cultivo del hongo filamentoso incluya un primer proceso de cultivo usando un medio restringido que tiene un contenido del compuesto de amina del 0,5 % en masa o menos, y un segundo proceso de cultivo usando un medio de producción que contiene el compuesto de amina aditivo, procedimiento que comienza en la fase intermedia de

30

cultivo. Puesto que se usa un medio restringido en el que el contenido del compuesto de amina está restringido al 0,5 % en masa como medio usado en el primer proceso de cultivo, tras la fase intermedia de cultivo en la que comienza el segundo proceso de cultivo, pueden obtenerse mayores cantidades de un compuesto intermedio, en comparación con métodos convencionales. Además, cuando se realiza el segundo proceso de cultivo usando un medio de producción que contiene un compuesto de amina aditivo, destinado a obtener el tercer compuesto de triphenilfenol, tras la generación de una gran cantidad de un compuesto intermedio como tal, puede obtenerse eficazmente el tercer compuesto de triphenilfenol deseado con buena selectividad.

40 En la invención, la expresión "compuesto de amina" incluye compuestos de amina aditivos, a menos que se establezca lo contrario.

El método de producción para producir el tercer compuesto de triphenilfenol es el mismo que se ha descrito para el primer método de producción en el método que se ha descrito anteriormente para producir un compuesto de triphenilfenol, excepto por el tipo del compuesto de amina aditivo, y puede aplicarse la materia objeto que se ha descrito anteriormente sin ninguna modificación.

45

El compuesto de amina aditivo puede tener un sustituyente distinto de un grupo amino y un grupo carboxilo, y puede tener también un grupo hidroxilo, o por ejemplo, un grupo alquilo inferior que tiene de 1 a 5 átomos de carbono.

50 Además, el compuesto de amina aditivo puede tener una pluralidad de grupos amino, pero desde el punto de vista

de la eficacia de producción, es preferible que el compuesto de amina tenga un grupo amino.

Como compuesto de amina aditivo, pueden mencionarse fenilglicina, hidroxifenilglicina, tirosina y derivados de las mismas. Los ejemplos de tal compuesto de amina aditivo incluyen L-fenilglicina, D-fenilglicina, L-hidroxifenilglicina, D-hidroxifenilglicina, L-tirosina, D-tirosina, L-hidroximetilfenilglicina, D-hidroximetilfenilglicina, L-hidroxi-etilfenilglicina, D-hidroxi-etilfenilglicina, L-carboxifenilglicina, D-carboxifenilglicina, L-carboximetilfenilglicina, D-carboximetilfenilglicina, L-carboxi-etilfenilglicina, D-carboxi-etilfenilglicina, L-metiltirosina, D-metiltirosina, L-etiltirosina, D-etiltirosina, L-carboxifenilalanina, D-carboxifenilalanina, L-carboximetilfenilalanina, D-carboximetilfenilalanina, L-carboxi-etilfenilalanina, D-carboxi-etilfenilalanina, y similares. Los ejemplos específicos de las mismas incluyen L-fenilglicina, D-fenilglicina, L-3-hidroxifenilglicina, D-3-hidroxifenilglicina, L-4-hidroxifenilglicina, D-4-hidroxifenilglicina, L-p-tirosina, D-p-tirosina, L-2-hidroxifenilglicina, D-2-hidroxifenilglicina, L (o D)-2 (o 3 o 4)-hidroxi-3 (2 o 4 o 5 o 6)-metil (o etil)-fenilglicina, L (o D)-2 (o 3 o 4)-carboxifenilglicina, L (o D)-2 (o 3 o 4)-carboxi-3 (2 o 4 o 5 o 6)-metil (o etil)-fenilglicina, L (o D)-o-tirosina, L (o D)-m-tirosina, L (o D)-2 (o 3 o 4 o 5 o 6)-metil (o etil)-p (u o o m)-tirosina, L (o D)-2 (o 3 o 4)-carboxifenilalanina, L (o D)-2 (o 3 o 4)-carboxi-3 (2 o 4 o 5 o 6)-metil (o etil)fenilalanina, y derivados de los mismos. Estos compuestos de amina aditivos pueden usarse individualmente o en combinación de una pluralidad de especies.

Entre ellos, desde el punto de vista de la acción potenciadora de la trombólisis, se prefieren L-fenilglicina, D-fenilglicina, L-3-hidroxifenilglicina, D-3-hidroxifenilglicina y L-p-tirosina.

El compuesto de amina aditivo que puede estar contenido en el medio de producción en el segundo proceso de cultivo puede estar presente en el medio en una cantidad necesaria para obtener el compuesto de triprenilfenol deseado, y se usa en una cantidad del 5 % en masa o menos, y desde el punto de vista de la cantidad de producción, preferiblemente en una cantidad del 0,01 % en masa al 1 % en masa, y más preferiblemente del 0,1 % en masa al 0,5 % en masa, en base al volumen total del medio.

<Potenciador de la trombólisis>

El potenciador de la trombólisis de la invención se caracteriza porque contiene al menos uno de los segundos compuestos de triprenilfenol representados por la fórmula (II)', (I-28)' o (I-29)' como un principio activo.

El segundo y tercer compuestos de triprenilfenol que se han descrito anteriormente tienen una acción potenciadora de la trombólisis eficaz incluso a bajo peso molecular.

En el presente agente trombolítico, los compuestos de triprenilfenol pueden estar contenidos en el presente agente trombolítico en una forma que puede aplicarse convencionalmente como medicamento, tal como una forma libre, un éster o una sal farmacéuticamente aceptable.

Además, para el presente agente trombolítico, la formulación puede cambiarse apropiadamente de acuerdo con diferentes formas farmacéuticas. Para formas farmacéuticas orales, pueden mencionarse comprimidos, cápsulas, polvos, granos finos, gránulos, líquidos, jarabes y similares, mientras que para formas farmacéuticas parenterales, pueden mencionarse inyecciones, infusiones, supositorios, inhaladores, parches y similares.

Con el fin de mantener estas formas, pueden incorporarse aditivos tales como disolventes y excipientes bien conocidos que pueden usarse en estas aplicaciones.

El agente trombolítico de la invención puede administrarse en dosis apropiadas según la edad, el peso corporal y los síntomas. Por ejemplo, en el caso de administración intravenosa, es preferible administrar de 1 a 25 mg/kg en cuanto a la cantidad de principio activo, por día para un adulto, y en el caso de administración oral, es preferible administrar de 2 a 200 mg/kg, en cuanto a la cantidad de principio activo, por día para un adulto. El tiempo para la administración puede determinarse arbitrariamente según la edad y los síntomas.

EJEMPLOS

En lo sucesivo en el presente documento, la invención se describirá a modo de Ejemplos. Además, el término "%" en los Ejemplos se basa en masa/volumen, a menos que se establezca lo contrario.

[Ejemplo 1]

Se inocularon esporas de la cepa *Stachybotrys microspora* IFO30018 en un matraz cónico que tenía una capacidad de 500 ml, en el que se contenían 100 ml de un medio para el cultivo de siembra, y se realizó un cultivo de siembra durante 4 días a 25 °C y 180 rpm usando un agitador giratorio. El medio para el cultivo en siembra se preparó disolviendo glucosa (4 %), harina de semilla de soja (0,5 %), caldo seco (0,3 %) y extracto de levadura en polvo (0,3 %) en agua, ajustando la solución a pH 5,8 usando HCl, añadiendo un agente desespumante CB442 (0,01 %) (Nippon Oil & Fats Co., Ltd., Japón), dividiendo la mezcla en una cantidad de 100 ml cada vez en una incubadora, y después esterilizando en autoclave la cantidad resultante (121 °C, 15 min).

Se inocularon 5 ml de esta solución de cultivo en un matraz cónico que tenía una capacidad de 500 ml, en el que se contuvieron 100 ml de un medio de cultivo principal, y el cultivo principal se realizó durante 4 días a 25 °C y 180 rpm usando un agitador giratorio. El medio para el cultivo principal (medio restringido) usado se preparó disolviendo sacarosa (5 %), extracto de levadura en polvo (0,1 %), NaNO₃ (0,3 %), K₂HPO₄ (0,1 %), MgSO₄·7H₂O (0,05 %), KCl (0,05 %), CoCl₂·6H₂O (0,00025 %), FeSO₄·7H₂O (0,0015 %) y CaCl₂·2H₂O (0,00065 %) en agua, ajustando la solución a pH 5,8 usando HCl, añadiendo un agente desespumante CB442 (0,01 %) (Nippon Oil & Fats Co., Ltd., Japón), dividiendo la mezcla en una cantidad de 100 ml cada vez en una incubadora, y después esterilizando en autoclave la cantidad resultante (121 °C, 15 min).

El día en que se realizó la inoculación se contó como el día 0 del cultivo, y el día 4 del cultivo (después de 96 horas), se añadieron 100 mg de cloruro de amonio al medio (medio de producción), y el cultivo continuó. El día 5 del cultivo, se añadieron 200 ml de metanol para terminar el cultivo. Después de esto, la extracción se realizó mediante agitación a 180 rpm y a 25 °C durante aproximadamente 3 horas, usando un agitador giratorio.

[Ejemplo 2]

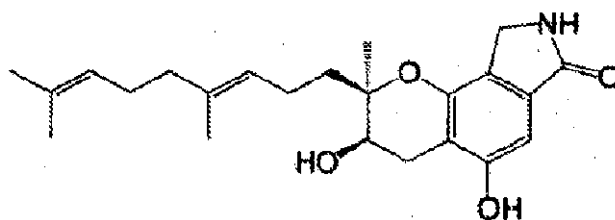
A partir de 300 ml del extracto de cultivo del Ejemplo 1, las células fúngicas se retiraron usando un embudo Buechner, para obtener un sobrenadante de cultivo. La concentración se realizó a presión reducida lograda mediante una bomba de vacío, usando un evaporador rotatorio. En el momento en el que la cantidad residual alcanzó aproximadamente 50 ml, se detuvo la concentración. El concentrado se extrajo tres veces con una cantidad equivalente de acetato de etilo, se deshidrató sobre sulfato sódico anhidro, se filtró, se concentró y se secó para dar sólidos. Los sólidos secados se disolvieron en aproximadamente 3 ml de MeOH, y después la solución se filtró.

Después, se centrifugó a 3000 rpm durante 10 minutos. Antes de realizar el fraccionamiento por HPLC, el sobrenadante se sometió a un tratamiento previo con Lichrolut (marca registrada) RP-18 (100 mg) (MERCK KGaA, Darmstadt, Alemania). El análisis por HPLC de fase inversa se realizó en las condiciones de columna: Inertsil PREP-ODS (diámetro de 30 x 250 mm) (GL Sciences, Inc., Tokio, Japón), temperatura: 40 °C, caudal: 25 ml/min, longitud de onda de detección: 260 nm, y disolvente de desarrollo: metanol al 75 % que contenía acetato amónico 50 mM, y un pico se fraccionó a un tiempo de retención de 11,5 minutos (véase la figura 2). El metanol se retiró por destilación usando un evaporador rotatorio, y el residuo se extrajo tres veces con una cantidad equivalente de acetato de etilo, se deshidrató sobre sulfato sódico anhidro, se filtró y después se concentró. Se disolvió en metanol, se filtró, se concentró y se secó para obtener 33,23 mg de un producto purificado. Rendimiento de aproximadamente el 30 % (masa/masa).

[Ejemplo 3]

Se examinaron las propiedades fisicoquímicas del compuesto sólido de color blanco (designado como SMTP-0) obtenido en el Ejemplo 2.

Además, como un control del compuesto del presente Ejemplo, se usó estaquibotrina B (que tenía una rotación óptica positiva (+)) mostrada a continuación. Para la estructura de estaquibotrina B, se remite a J. Org. Chem., (1992), vol. 57, págs. 6700-6703. (Sin embargo, puesto que la estereoestructura absoluta no se ha determinado, la estructura mostrada a continuación es una configuración relativa).



Estaquibotrina B

La RMN se midió usando ALPHA600 (JEOL, Ltd.) en las condiciones de ^1H 600 MHz, ^{13}C 150 MHz y 50 °C. La muestra usada fue una solución de aproximadamente 10 mg/ml de DMSO- d_6 .

5

MALDI-TOF-MS se midió usando un Voyager-DE STR (Applied Biosystems, Inc.) en el modo de ión positivo, usando ácido α -ciano-4-hidroxycinnámico como la matriz.

Para la espectroscopía UV, se usó un espectrómetro 320 (Hitachi, Ltd.). La muestra se disolvió en MeOH (5 $\mu\text{g/ml}$).

10

Para FT-IR, se usó un JIR WINSPEC50 (JEOL, Ltd.). Se aplicaron 750 μg de una muestra disuelta en MeOH sobre sal de roca y se midió.

Para la rotación óptica, se usó un DIP-360 (JASCO Corp.) (27 °C, Na). La muestra se disolvió en MeOH (10 mg/ml).

15

Los resultados se presentan en la figura 2 y la Tabla 1.

Las propiedades fisicoquímicas de SMTP-0 obtenidas en el Ejemplo 2 son como se indica a continuación.

Aspecto externo: Sólido de color blanco

20

Fórmula molecular: $\text{C}_{23}\text{H}_{31}\text{NO}_4$

MALDI-TOF-MS($M + H$) $^+$: 386, 2599

Valor teórico: 386, 2331($\text{C}_{23}\text{H}_{32}\text{NO}_4$)

UV $\lambda_{\text{máx}}$ (ϵ) MeOH:

215 (ϵ 55,769), 251 (ϵ 10,615), 300 (ϵ 4,000)

25

Espectro IR ν (cm^{-1}):

3259,15, 2917,81, 1666,22, 1612,22, 1469,51, 1359,59, 1166,74, 1081,88, 850,46, 773,32, 723,18, 674,97, 566,98.

Rotación óptica específica $[\alpha]_D^{27} = -2,23^\circ$ (c 1,0, MeOH)

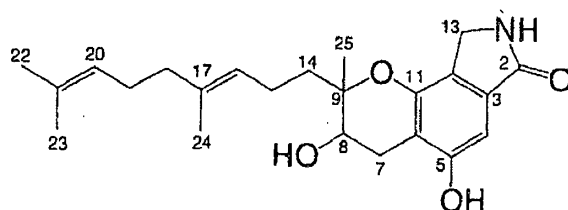
30

[Tabla 1]

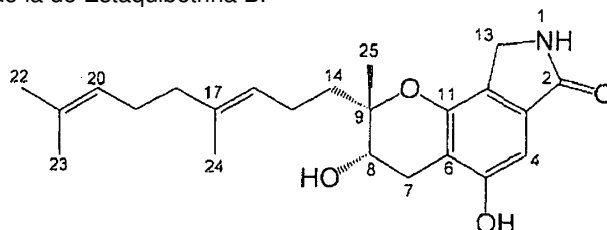
	SMTP-0				Estaquibotrina B			
	δ C	δ H			δ C	δ H		
2	170,24				174,20			
3	131,78				132,50			
4	99,44	6,62	1H, s		100,80	6,74	s	
b	155,93				158,00			
6	111,29				113,50			
7	26,59	2,82	1H, dd	J = 5,5, 17,4	27,80	2,98	dd	J = 18,0, 6,0
		2,45	1H, dd	J = 7,7, 17,6		2,64	dd	J = 18,0, 6,0
8	66,01	3,73	1H, t	J = 6,4	68,40	3,87	dd	J = 6,0, 6,0
9	78,52				80,20			
11	148,45				150,20			
12	121,61				124,10			
13	41,95	4,09	1H, d	J = 17,2	44,20	4,20	d	J = 18,0
		4,05	1H, d	J = 16,9		4,23	d	J = 18,0
14	37,14	1,59	2H, m		38,50	1,67	2H, m	

15	20,93	2,10	2H, m	
16	124,16	5,11	1H, t	J = 6,6
17	134,18			
18	39,04	1,91	2H, m	
19	26,06	1,99	2H, m	
20	123,98	5,04	1H, t	J = 7,1
21	130,52			
22	25,27	1,61	3H, s	
23	17,36	1,53 3H,	s	
24	15,48	1,54	3H, s	
25	17,95	1,15	3H, s	

22,60	2,18	2H, m	
125,50	5,14	1H, m	
136,20			
40,80	1,95	2H, m	
27,80	2,02	2H, m	
125,30	5,05	1H, m	
132,20			
25,80	1,63	s	
17,70	1,55	s	
15,67	1,57	s	
18,22	1,27	s	



A partir de estos resultados, se sugirió que SMTP-0 obtenido en el Ejemplo 2 tiene la misma estructura plana que la de Estaquibotrina B (véase el Documento no Perteneciente a Patente 1 que se ha mencionado anteriormente). Sin embargo, mientras que SMTP-0 tiene una rotación óptica negativa (-), Estaquibotrina B tenía una rotación óptica positiva (+). Como tal, SMTP-0 del presente Ejemplo como se muestra a continuación tiene una estereoestructura que es claramente diferente de la de Estaquibotrina B.



10 [Ejemplo 4]

Con el fin de aclarar los detalles de las diferentes en la estereoestructura entre SMTP-0 y Estaquibotrina B como se descubrió en el Ejemplo 3, se realizó un análisis usando un método de Mosher modificado.

- 15 Se disolvió SMTP-0 (50 mg, 78 μ mol) en acetonitrilo (2 ml), y al mismo se le añadieron N,N-diisopropiletilamina (50 μ l) y trimetilsilildiazometano (2,0 M, solución en hexano) (150 μ l). La mezcla se agitó durante 24 horas a temperatura ambiente. El líquido de reacción se concentró para obtener éter metílico de SMTP-0 (SMTP-0-OMe) (44 mg).
- 20 Se disolvió SMTP-0-OMe (20 mg, 50 μ mol) en N,N-dimetilformamida (1 ml), y cloruro de R-(-)- α -metoxi- α -(trifluorometil)fenilacetilo (25 mg), trietilamina (30 μ l) y 4-dimetilaminopiridina (2 mg). La mezcla se agitó durante 24 horas a temperatura ambiente. Al líquido de reacción se le añadió (10 ml), y la mezcla se extrajo con acetato de etilo (50 ml). La capa orgánica se lavó con HCl 1 N, una solución saturada acuosa de hidrogenocarbonato sódico y salmuera saturada, después se secó usando sulfato de magnesio anhidro y se concentró a presión reducida. El
- 25 residuo se purificó por cromatografía de capa fina (hexano-acetato de etilo), para obtener SMTP-0-OMe éster de ácido S- α -metoxi- α -(trifluorometil)fenilacetilacético (S-MTPA-SMTP-0-OMe) (18 mg).

- Se obtuvo SMTP-OMe éster de ácido R- α -metoxi- α -(trifluorometil)fenilacetilacético (R-MTPA-SMTP-0-OMe) (17 mg) a partir de SMTP-0-OMe (20 mg, 50 μ mol), realizando la misma reacción que se ha descrito anteriormente usando
- 30 cloruro de S-(+)- α -metoxi- α -(trifluorometil)fenilacetilo en lugar de cloruro de R-(-)- α -metoxi- α -(trifluorometil)fenilacetilo.

Se midieron diversos espectros de resonancia magnética nuclear para R-MTPA-SMTP-0-OMe y S-MTPA-SMTP-0-

OMe obtenidos por los métodos que se han descrito anteriormente, y la asignación de protones se realizó para los compuestos respectivos. Los resultados se presentan en la Tabla 2.

Se calculó la diferencia entre el desplazamiento químico de S-MTPA-SMTP-0-OMe, δ_S , y el desplazamiento químico de R-MTPA-SMTP-0-OMe, δ_R ($\Delta\delta = \delta_S - \delta_R$). Como resultado, $\Delta\delta$ del protón en la posición axial de la posición 7 tuvo un valor negativo ($\Delta\delta = -0,12$), y $\Delta\delta$ del protón del grupo metilo en la posición 25 tuvo un valor positivo ($\Delta\delta = +0,03$). Por lo tanto, la configuración absoluta de SMTP-0- de la invención se determinó que tenía una configuración absoluta como se muestra en el Ejemplo 3 (las configuraciones de la posición 8 y la posición 9 son ambas S).

10

[Tabla 2]

Asignación de los espectros de RMN de SMTP-0-OMe, R-MTPA-SMTP-0-OMe y S-MTPA-SMTP-0-OMe

SMTP-0-OMe				R-MTPA-BMTP-0-OMe				S-MTPA-SMTP-0-OMe			
Posición	H		J (Hz)	H		J (Hz)		H		J (Hz)	
4	6,91	1 H, s		6,90	1 H, s			6,94	1 H, s		
7	2,98	1 H, dd	5,1, 17,6	3,16	1 H, dd	5,3, 18,0		3,16	1 H, dd	5,1, 18,0	
	2,77	1 H, dd	5,5, 18,0	2,76	1 H, dd	6,6, 18,0		2,88	1 H, dd	5,9, 18,0	
8	3,94	1 H, dd	5,1, 8,6	5,29	1 H, dd	5,5, 6,2		5,28	1 H, t		5,5
13	4,32	1 H, d	17,2	4,27	2 H, s			4,28	2 H, s		
	4,28	1 H, d	16,9								
14	1,65	2 H, m		1,64	2 H, m			1,63	2 H, m		
15	2,14	2 H, m		2,12	2 H, m			2,11	2 H, m		
16	5,10	1 H, t	7,0	5,07	1 H, m			5,07	1 H, t		7,0
18	1,96	2 H, m		1,96	2 H, t	7,7		1,96	2 H, t		7,7
19	2,04	2 H, m		2,05	2 H, m			2,04	2 H, m		
20	5,07	1 H, t	7,0	5,06	1 H, m			5,02	1 H, t		7,0
22	1,67	3 H, s		1,67	3 H, s			1,67	3 H, s		
23	1,57	3 H, s		1,57	3 H, s			1,56	3 H, s		
24	1,58	3 H, s		1,59	3 H, s			1,58	3 H, s		
25	1,37	3 H, s		1,28	3 H, s			1,23	3 H, s		
5-OMe	3,87	3 H, s		3,86	3 H, s			3,87	3 H, s		
MTPA				3,45	3 H, s			3,49	3 H, s		
resto				7,36	3 H, m			7,30	1 H, t		7,7
				7,48	2 H, d	7,7		7,36	1 H, t		7,3
								7,43	2 H, d		7,7

[Ejemplo 5]

La actividad potenciadora de la fibrinólisis SMTP-0 (50 μ M, 100 μ M y 200 μ M) obtenida en el Ejemplo 2 se evaluó como se indica a continuación, como actividad para promover la activación del plasminógeno mediante catálisis por urocinasa.

Una solución 30 mM de SMTP (solución en DMSO) se diluyó con TBS/T (Tris-HCl 50 mM, NaCl 100 mM y Tween80 al 0,01 %, pH 7,4) para preparar una solución 1,5 mM (en DMSO al 5 %-TBS/T). Esta solución se diluyó con DMSO al 5 % en TBS/T para preparar soluciones SMTP a las concentraciones que se han mencionado anteriormente.

(1) Medición de la actividad de producción de fragmentos de plasminógeno

Una solución en SMTP (60 μ l) se mezcló con 240 μ l de un líquido de reacción a una concentración de 1,25 veces (que no contenía VLK-pNA (Val-Leu-Lys-p-nitroanilide)), y la mezcla se dejó reaccionar durante 60 minutos a 37 °C. Después, se añadieron 75 μ l de ácido tricloroacético al 50 % (TCA) para terminar la reacción, y la mezcla se dejó en reposo en hielo durante 60 minutos. Los materiales insolubles de TCA se precipitaron por centrifugación, y el precipitado se lavó dos veces con acetona. El precipitado obtenido se secó, y después se disolvió con 11 μ l de tampón de muestra de SDS añadido (Tris-Cl 0,125 M, pH 6,8, SDS al 4 %, glicerol al 20 % y bromofenol azul al 0,02 %). Se usaron 10 μ l de la solución para realizar la electroforesis en gel de poliacrilamida de SDS (gel al 10 %). Los resultados se presentan en la figura 3

(2) Medición de la activación del plasminógeno

Se mezclaron 10 µl de una solución de SMTP (10 µl) con 40 µl de un líquido de reacción a una concentración de 1,25 veces (0,0625 µM de plasminógeno, 62,5 U/ ml de urocinasa, y 0,125 mM de VLK-pNA) en una microplaca de 96 pocillos, y la medición se hizo controlando inmediatamente la absorción de la hidrólisis de VLK-pNA a 405 nm a lo largo del tiempo con un lector de microplacas. La medición se realizó a 37 °C durante 60 minutos a un intervalo de 2 minutos. Los resultados se presentan en la figura 4.

Como se muestra en la figura 3 y la figura 4, los resultados no indicaron ninguna acción de potenciación de la activación del plasminógeno a ninguna concentración (véase la figura 3). Además, el compuesto no presentó ninguna acción sobre la generación de fragmentos plasminógeno que tuviesen la actividad inhibidora de la angiogénesis (véase la figura 4).

Cuando la amina secundaria de tal SMTP-0 se modifica con un aminoácido tal como D-triptófano, puede obtenerse un compuesto de triprenilfenol activo que presenta una fuerte acción potenciadora de la activación del plasminógeno.

En el presente ejemplo, pudo proporcionarse un compuesto de triprenilfenol intermedio que podía inducir fácilmente un compuesto de triprenilfenol activo.

De ese modo, puede obtenerse un compuesto de triprenilfenol activo que es estable y no puede producirse mediante un método de fermentación.

[Ejemplo 6]

El tiempo para la adición de un compuesto de amina se examinó como se indica a continuación.

El medio para el cultivo principal (medio restringido) usado se preparó disolviendo sacarosa (5 %), NaNO₃ (0,3 %), K₂HPO₄ (0,1 %), MgSO₄·7H₂O (0,05 %) y KCl (0,05 %) en agua, ajustando la solución a pH 5,8 usando HCl, añadiendo un agente desespumante CB442 (0,01 %) (Nippon Oil & Fats Co., Ltd., Japón), dividiendo la mezcla en una cantidad de 100 ml cada vez en una incubadora, y esterilizando en autoclave (121 °C, 15 min). El cultivo se realizó de la misma manera que en el Ejemplo 1.

24 horas, 48 horas, 72 horas, 96 horas y 120 horas después del inicio del cultivo, respectivamente, se añadió L-cistina (0,3 %) como un compuesto amina, y después el sistema se incubó durante 24 horas, después de lo cual se midió la cantidad de producción. Para la medición de la cantidad de producción, a la solución de cultivo se le añadió una doble cantidad de metanol, la mezcla se agitó durante 1 hora, se extrajo un compuesto SMTP, el extracto se centrifugó a 10,000 rpm para separar el sobrenadante, y este sobrenadante se usó. 0,01 ml de este sobrenadante se sometieron a cromatografía líquida de alto rendimiento usando una columna de sílice ODS, y mientras se desarrollaba con metanol al 80 % que contenía acetato amónico 50 mM a un caudal de 1 ml/min, se concentró la absorbancia a 260 nm. La cuantificación se realizó comparando el área del pico de la muestra correspondiente al tiempo de retención de la muestra convencional, con el área pico de la muestra convencional.

Los resultados se presentan en la Tabla 3.

[Tabla 3]

Tiempo de adición de L-cistina (Tiempo después del inicio del cultivo productor)	Cantidad acumulada de SMTP-9 mg/ml
24	0,14
48	0,04
72	0,67
96	0,34
120	0,30

Como se muestra en la Tabla 3, la cantidad de producción de SMTP aumentó realizando el cultivo usando un medio de producción que contenía un aminoácido, no inmediatamente después del inicio del cultivo usando un cultivo restringido que no contiene compuesto de amina, sino tras un determinado periodo de tiempo. En particular, cuando no se añadió un aminoácido durante la fase temprana de cultivo tras el inicio del cultivo usando un medio restringido, sino tras 72 horas, es decir, en la fase intermedia de cultivo, la cantidad de producción de SMTP-9 aumentó en una gran magnitud.

Como ejemplo comparativo, se obtuvo SMTP-9 añadiendo L-cistina a un medio en el que la cantidad y el tipo del compuesto de amina no estaban restringidos, durante la fase temprana de cultivo (véanse los documentos JP-A N° 2002-65288 y 2004-224737). Sin embargo, en comparación con el método de producción usando en el presente ejemplo, la cantidad de producción era de aproximadamente 0,1 mg/ml como máximo, lo que era el 15 % o menos de la cantidad del presente método. Además, según este método convencional, en particular, cuando se añadió un aminoácido o aminoalcohol tras 5 días desde el inicio del cultivo, la producción del producto disminuyó enormemente, mientras que en el presente ejemplo, pudo mantenerse una alta cantidad de producción incluso mediante la adición tras 5 días.

10 Por lo tanto, el método de producción del presente ejemplo puede producir el compuesto SMTP eficazmente.

[Ejemplo 7]

A continuación, se examinaron sales inorgánicas que pueden añadirse al medio restringido y el medio de producción tal como sigue.

En cuanto al medio para el cultivo principal (medio restringido), glucosa (2 %), NaNO_3 (0,3 %), K_2HPO_4 (0,1 %), $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (0,05 %), KCl (0,05 %) y $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (0,001 %) se disolvieron en agua, la solución se ajustó a pH 5,8 usando HCl , se añadió un agente desespumante CB442 (0,01 %) (Nippon Oil & Fats Co., Ltd., Japón), la mezcla se dividió en una cantidad de 100 ml cada vez en una incubadora, y se realizó esterilizando en autoclave (121 °C, 15 min) para obtener un medio (medio D). Este medio se usó como el medio básico, y los componentes y la concentración se cambiaron como se describe en la Tabla 4. El cultivo se realizó de la misma manera que en el Ejemplo 1 usando estos medios.

25 Se añadió L-cistina (0,1 %) como un compuesto amina al cultivo 72 horas después del inicio del cultivo, y después el cultivo se incubó durante 48 horas. La cantidad de producción se midió mediante el método descrito en el Ejemplo 6.

Los resultados se presentan en la Tabla 4.

30 [Tabla 4]

Componente de medio cambiado o añadido	Concentración (%)	Componente excluido del medio D	Cantidad acumulada de SMTP-9 (mg/ml)
Nitrato sódico	0,1		0,08
	0,3		0,10
	0,5		0,14
Nitrato potásico	0,1	Nitrato sódico	0,06
	0,3		0,18
	0,5		0,26
Sulfato ferroso heptahidrato	0,005		0,43
	0,01		0,26
	0,05		0,38
Fosfato potásico, monobásico	0,025	Fosfato potásico, dibásico	0,06
	0,25		0,31
	0,5		0,05
Fosfato potásico, dibásico	0,025		0,02
	0,25		0,02
	0,5		0,02
Cloruro cálcico dihidrato	0,01		0,10
	0,05		0,31
	0,1		0,27
Cloruro de cobalto hexahidrato	0,001		0,40
	0,005		0,20

	0,01	0,04
Sulfato de magnesio	0,1	0,40
	0,2	0,16
	0,3	0,18
Cloruro potásico	0,1	0,30
	0,25	0,03
	0,5	0,03

[Ejemplo 8]

Además, se realizó tal como sigue el examen de las concentraciones de sal de metal, fuente de carbono, nitrato de sodio y la amina que va a añadirse (L-cistina en el siguiente ejemplo).

En cuanto al medio para el cultivo principal (medio restringido), se disolvieron sacarosa (5 %), peptona (0,1 %), NaNO_3 (0,3 %), K_2HPO_4 (0,1 %), $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (0,05 %) y KCl (0,05 %) en agua, la solución se ajustó a pH 5,8 usando HCl, se añadió un agente desespumante CB442 (0,01 %) (Nippon Oil & Fats Co., Ltd., Japón), la mezcla se dividió en una cantidad de 100 ml cada vez en una incubadora, y se realizó esterilizando en autoclave (121 °C, 15 min) para obtener un medio (medio F). Este medio se usó como el medio básico, y los componentes y la concentración se cambiaron como se describe en la Tabla 5. El cultivo se realizó de la misma manera que en el Ejemplo 1 usando estos medios.

15 Al cultivo se le añadió L-cistina (en la cantidad descrita en la Tabla 5) como un compuesto amina 72 horas después del inicio del cultivo, y después el cultivo se incubó durante 24 horas, 48 horas y 72 horas, respectivamente. La cantidad de producción se midió mediante el método descrito en el Ejemplo 6.

Los resultados se presentan en la Tabla 5.

[Tabla 5]

Cloruro de calcio dehidrato (%)	Sulfato ferroso heptahidrato (%)	Cloruro de cobalto hexahidrato (%)	Componente de medio cambiado o añadido	Concentración (%)	Componente excluido el medio F	Cantidad de adición de L-cistina (%)	Cantidad acumulada de SMTP-9 (mg/ml)		
							Después de 24 horas	Después de 48 horas	Después de 72 horas
0,00065	0,005	0,0005				0,1	0,43	0,53	0,46
0,00065	0,005	0,0005				0,3	0,21	0,25	0,28
0,00065	0,005	0,0005				0,5	0,63	0,92	0,85
0,00065	0,005	0,0005				1	0,55	0,85	0,85
0,00065	0,0015	0,00025				0,1	0,31	0,32	0,30
0,00065	0,0015	0,00025	Nitrato sódico	0,7		0,1	0,48	0,88	0,93
0,00065	0,0015	0,00025				0,3	0,67	0,98	1,01
0,00065	0,005	0,0005	Sacarosa	10		0,3	0,70	1,01	1,01
0,00065	0,005	0,0005	Sacarosa	10		0,5	0,70	1,43	1,75
0,00065	0,005	0,0005	Sacarosa	10		0,5	0,69	1,04	1,05
			Nitrato sódico	0,7					
0,00065	0,005	0,0005	Glucosa	5	Sacarosa	0,1	0,32	0,35	0,37
0,00065	0,005	0,0005	Glucosa	5	Sacarosa	0,3	0,48	0,71	0,67
0,00065	0,0015	0,00025	Glucosa	5	Sacarosa	0,1	0,36	0,34	0,34
0,00065	0,0015	0,00025	Glucosa	5	Sacarosa	0,3	0,57	0,93	0,97

Como puede observarse a partir de estos resultados, cuando se usó un medio que contenía sacarosa como fuente de carbono, extracto de levadura y nitrato de sodio como fuentes de nitrógeno, y fosfato de potasio dibásico, sulfato de magnesio, cloruro de potasio, sulfato ferroso, cloruro de calcio y cloruro de cobalto como sales inorgánicas, la cantidad de producción de SMTP-9 aumentó más de 10 veces (desde 0,08 mg/ml hasta 1 mg/ml o más) la cantidad de producción obtenida mediante el método descrito en el documento JP-A N° 2004-224737 (el cultivo se inicia en 100 ml de un medio que contenía 2 % de glucosa, 0,5 % de peptona, 0,3 % de extracto de levadura, 0,3 % de K_2HPO_4 , 0,01 % de $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ y 100 mg de L-cistina). Además, se añadió L-cistina (0,5 %) como el compuesto amina después de 24 horas, 48 horas, 72 horas, 96 horas y 120 horas, respectivamente, del cultivo en el medio restringido (medio F), posteriormente los sistemas se incubaron durante 48 horas, y las cantidades de producción se midieron. En este caso, las cantidades de producción de SMTP-9 fueron 0,55, 0,70, 0,92, 1,21 y 1,15 mg/ml, respectivamente.

Con el fin de examinar la producción de compuestos distintos de SMTP-9, se realizó un cultivo usando el medio

restringido y el medio de producción usados en el ejemplo 1 y usando 1 mg/ml de ornitina (el momento de adición de ornitina era en el día 4 del cultivo), y se realizó un cultivo, como ejemplo comparativo, usando un medio que contenía el medio básico descrito en el documento JP-A N° 2002-65288 (obtenido disolviendo glucosa (2 %), 0,5 % de peptona, 0,3 % de extracto de levadura, K_2HPO_4 (0,3 %) y $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ (0,01 %) en agua, y ajustando la solución a pH 5,5 usando HCl o NaOH). Se compararon las cantidades de producción. Como resultado, la cantidad de producción de SMTP-7 aumentó en aproximadamente cinco veces (desde 0,3 mg/ml hasta 1,5 mg/ml).

A partir de estos resultados, se encontró que con el fin de obtener compuestos SMTP eficazmente, es preferible que el medio restringido y el medio de producción contengan sales inorgánicas predeterminadas, en el caso de la producción de compuestos SMTP realizando el proceso de cultivo usando medio de producción que contiene un compuesto de amina, que comienza en una fase intermedia tras el inicio del cultivo usando un medio restringido.

[Ejemplo 9]

15 Síntesis del compuesto I-1

Se inocularon esporas de la cepa *Stachybotrys microspora* IFO30018 (Institute for Fermentation, Osaka) en un matraz cónico que tenía una capacidad de 500 ml, en el que se contenían 100 ml de un medio para el cultivo de siembra, y se realizó un cultivo de siembra durante 4 días a 25 °C y 180 rpm usando un agitador giratorio. El medio para el cultivo en siembra se preparó disolviendo glucosa (4 %), harina de semilla de soja (0,5 %), caldo seco (0,3 %) y extracto de levadura en polvo (0,3 %) en agua, ajustando la solución a pH 5,8 usando HCl, añadiendo un agente desespumante CB442 (0,01 %) (se añadió 1 ml/l de una solución de acetona 0,1 g/ml) (Nippon Oil & Fats Co., Ltd.), dividiendo la mezcla en una cantidad de 100 ml cada vez en una incubadora, y después esterilizando en autoclave la cantidad resultante (121 °C, 15 min).

Se inocularon 5 ml de esta solución de cultivo en un matraz cónico que tenía una capacidad de 500 ml, en el que se contuvieron 100 ml de un medio de cultivo principal, y el cultivo principal se realizó durante 5 días a 25 °C y 180 rpm usando un agitador giratorio. El medio para el cultivo principal (medio restringido) usado se preparó disolviendo sacarosa (5 %), extracto de levadura en polvo (0,1 %), $NaNO_3$ (0,3 %), K_2HPO_4 (0,1 %), $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ (0,05 %), KCl (0,05 %), $CoCl_2 \cdot 6H_2O$ (0,00025 %), $FeSO_4 \cdot 7H_2O$ (0,0015 %) y $CaCl_2 \cdot 2H_2O$ (0,00065 %) en agua, ajustando la solución a pH 5,8 usando HCl, añadiendo un agente desespumante CB442 (0,01 %) (se añadió 1 ml/l de una solución de acetona 0,1 g/ml) (Nippon Oil & Fats Co., Ltd.), dividiendo la mezcla en una cantidad de 100 ml cada vez en una incubadora, y después esterilizando en autoclave la cantidad resultante (121 °C, 15 min).

El día en que se realizó la inoculación se contó como el día 0 del cultivo, y el día 4 del cultivo (después de 96 horas), al medio se le añadieron 100 mg de p-aminofenol para proporcionar un medio de producción, y el cultivo continuó. Después de aproximadamente 24 horas, se añadieron 200 ml de metanol para terminar el cultivo. Después de esto, la extracción se realizó mediante agitación a 180 rpm y a 25 °C durante aproximadamente 3 horas, usando un agitador giratorio.

A partir de 300 ml del extracto de cultivo obtenido, las células fúngicas se retiraron usando un embudo Buechner, para obtener un sobrenadante de cultivo. La concentración se realizó a presión reducida lograda mediante una bomba de vacío, usando un evaporador rotatorio. En el momento en el que la cantidad residual alcanzó aproximadamente 100 ml o menos, se detuvo la concentración, y el concentrado se ajustó a pH 2 usando ácido fosfórico, y se dejó en reposo durante una noche en una cámara de frío. Un precipitado generado en la misma se separó por centrifugación, y este precipitado se disolvió en acetona. Esta suspensión de acetona se centrifugó, y el sobrenadante se separó, se concentró y se secó para dar sólidos, para obtener 324,1 mg de un producto sólido seco. Se añadió MeOH a este producto sólido secado para obtener una solución de 100 mg/ml, y esta solución se centrifugó a 3000 rpm durante 10 minutos. Antes de realizar el fraccionamiento por HPLC, este sobrenadante se sometió a un pretratamiento con Lichrolut (marca registrada) RP-18 (100 mg) (MERCK KGaA, Darmstadt, Alemania). El análisis por HPLC de fase inversa se realizó en las condiciones de columna: Inertsil PREP-ODS (diámetro de 30 x 250 mm) (GL Sciences, Inc., Tokio, Japón), temperatura: 40 °C, caudal: 25 ml/min, longitud de onda de detección: 260 nm, y disolvente de desarrollo: metanol al 80 % que contenía acetato amónico 50 mM, y un pico se fraccionó a un tiempo de retención de 16 a 17 minutos. El metanol se retiró por destilación usando un evaporador rotatorio, y el residuo se extrajo tres veces con una cantidad equivalente de acetato de etilo, se deshidrató sobre sulfato sódico anhidro, se filtró y después se concentró. Se disolvió en metanol, se filtró, se concentró y se secó para obtener 99,33 mg de un producto purificado del compuesto I-1.

Las propiedades del compuesto I-1 se determinaron como se indica a continuación.

MALDI-TOF-MS se midió usando un Voyager -DE STR (Applied Biosystems, Inc.) en el modo de ión positivo, usando ácido α -ciano-4-hidroxycinnámico como la matriz.

5 Se midió UV usando un espectrofotómetro 320 (Hitachi, Ltd.) en metanol.

Se midió FT-IR usando un instrumento JIR-WINSPEC50 (JEOL, Ltd.). Se aplicó una muestra disuelta en acetona sobre sal de roca y se midió.

10 Las propiedades fisicoquímicas del compuesto I-1 se presentan a continuación.

Fórmula molecular: $C_{29}H_{35}NO_5$

MALDI-TOF-MS (m/z)

15 Observado (M + H)⁺: 478,4473

Calculado: 478,2593 para $C_{29}H_{36}NO_5$

UV $\lambda_{\text{máx}}$ nm (ϵ): 214(sh)(84,000), 260(sh)(21,500), 291(30,000)

20 IR $\nu_{\text{máx}}$ (NaCl) cm^{-1} : 3855, 3747, 3309, 2971, 2919, 2863, 1664, 1618, 1513, 1461, 1373, 1247, 1168, 1074, 943, 835, 765, 684

[Ejemplo 10]

25 Síntesis del Compuesto I-2

El cultivo preliminar se realizó de la misma manera que en el Ejemplo 9.

El cultivo principal se realizó de la misma manera que en el Ejemplo 9, excepto que el compuesto de amina orgánico

30 añadido el día 4 del cultivo principal se cambió a ácido p-aminobenzoico.

A partir de 300 ml del extracto de cultivo obtenido, las células fúngicas se retiraron usando un embudo Buechner, para obtener un sobrenadante de cultivo. La concentración se realizó a presión reducida lograda mediante una bomba de vacío, usando un evaporador rotatorio. En el momento en el que la cantidad residual alcanzó

35 aproximadamente 100 ml o menos, se detuvo la concentración, y el concentrado se ajustó a pH 2 usando ácido fosfórico, y se dejó en reposo durante una noche en una cámara de frío. Un precipitado generado en la misma se separó centrifugación, y este precipitado se disolvió en acetona. Esta suspensión de acetona se centrifugó, y el sobrenadante se separó, se concentró y se secó para dar sólidos, para obtener 603,3 mg de un producto sólido seco. Se añadió MeOH a este producto sólido secado para obtener una solución de 100 mg/ml, y esta solución se

40 centrifugó a 3000 rpm durante 10 minutos. Antes de realizar el fraccionamiento por HPLC, este sobrenadante se sometió a un pretratamiento con Lichrolut RP-18 (100 mg). El análisis por HPLC de fase inversa se realizó en las condiciones de columna: Inertsil PREP-ODS (diámetro de 30 x 250 mm), temperatura: 40 °C, caudal: 25 ml/min, longitud de onda de detección: 260 nm, y disolvente de desarrollo: metanol al 70 % que contenía acetato amónico 50 mM, y un pico se fraccionó a un tiempo de retención de 21 a 22 minutos. El metanol se retiró por destilación usando

45 un evaporador rotatorio, y el residuo se extrajo tres veces con una cantidad equivalente de acetato de etilo, se deshidrató sobre sulfato sódico anhidro, se filtró y después se concentró. Se disolvió en metanol, se filtró, se concentró y se secó para obtener 52,44 mg de un producto purificado del compuesto I-2.

Las propiedades del compuesto I-2 se determinaron como se indica a continuación.

50

MALDI-TOF-MS, UV y FT-IR se midieron de la misma manera que en el Ejemplo 9. La RMN se midió usando ALPHA600 (JEOL, Ltd.) en las condiciones de ^1H 600 MHz, ^{13}C 150 MHz y 60 °C. La muestra usada fue una solución de aproximadamente 10 mg/ml de DMSO- d_6 .

55 Las propiedades fisicoquímicas del compuesto I-2 se presentan a continuación.

Fórmula molecular: $C_{30}H_{35}NO_6$

MALDI-TOF-MS (m/z)

Observado (M + H)⁺: 506,2778
 Calculado: 506,2543 para C₃₀H₃₆NO₆

UV λ_{máx} nm (ε): 296 (29,300)

5

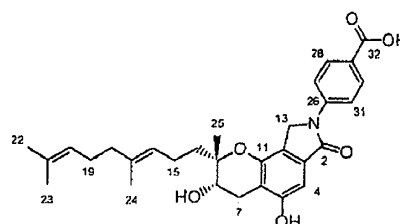
IR ν_{máx} (NaCl) cm⁻¹: 3853, 3739, 3392, 2969, 2915, 2858, 1691, 1610, 1513, 1463, 1429, 1365, 1303, 1267, 1187, 1076, 939, 848, 779, 676, 551

RMN

10

[Tabla 6]

Nº	δ _C	δ _H
2	167,12	
3	131,09	
4	99,68	6,76 (1H, s)
5	156,39	
6	112,90	
7	26,58	2,88 (1H, dd, J = 5,5, 17,6) 2,53 (1H, dd, J = 7,3, 17,6) 3,79 (1 H, dd, J = 5,5, 7,3)
8	65,83	
9	78,88	
11	148,29	
12	118,70	
13	47,53	4,73 (1H, d, J = 15,8) 4,78 (1H, d, J = 15,8)
14	37,02	1,66 (2H, dd, J = 7,5, 8,7)
15	20,91	2,16 (2H, m)
16	124,09	5,16 (1H, t, J = 7,0)
17	134,13	
18	38,94	1,93 (2H, m)
19	26,00	2,01 (2H, m)
20	123,87	5,05 (1H, m)
21	130,36	
22	25,07	1,60 (3H, s)
23	17,19	1,52 (3H, s)
24	15,45	1,57 (3H, s)
25	18,00	1,22 (3H, s)
26	142,82	
27, 31	117,79	7,98 (2H, dd, J = 1,8, 7,0)
28, 30	129,90	7,95 (2H, dd, J = 1,8, 7,0)
29	127,33	
32	167,38	



I - 2 : S M T P - 1 9

El desplazamiento químico es en relación con DMSO-*d*₆ (δ_C 39,5 ppm; δ_H 2,49 ppm). La constante de acoplamiento (J) se da en Hz.

[Ejemplo 11]

15 Síntesis del compuesto 1-3

El cultivo preliminar se realizó de la misma manera que en el Ejemplo 10.

Se inocularon 5 ml de esta solución de cultivo en un matraz cónico que tenía una capacidad de 500 ml, en el que se pusieron 100 ml de un medio de cultivo principal, y el cultivo principal se realizó durante 6 días a 25 °C y 180 rpm usando un agitador giratorio.

5

El medio para el cultivo principal (medio restringido) usado se preparó disolviendo sacarosa (5 %), extracto de levadura en polvo (0,1 %), KNO₃ (0,7 %), K₂HPO₄ (1,5 %), MgSO₄·7H₂O (0,05 %), KCl (0,05 %), CoCl₂·6H₂O (0,00025 %), FeSO₄·7H₂O (0,0015 %) y CaCl₂·2H₂O (0,00065 %) en agua, ajustando la solución a pH 5,8 usando HCl, añadiendo un agente desespumante CB442 (0,01 %) (se añadió 1 ml/l de una solución de acetona 0,1 g/ml)

10 (Nippon Oil & Fats Co., Ltd.), dividiendo la mezcla en una cantidad de 100 ml cada vez en una incubadora, y después esterilizando en autoclave la cantidad resultante (121 °C, 15 min).

El día en que se realizó la inoculación se contó como el día 0 del cultivo, y el día 4 del cultivo (después de 96 horas), al medio se le añadieron 100 mg de ácido m-aminobenzoico para proporcionar un medio de producción, y el cultivo continuó. Después de aproximadamente 40 horas, se añadieron 200 ml de metanol para terminar el cultivo. Después de esto, la extracción se realizó mediante agitación a 180 rpm y a 25 °C durante aproximadamente 2 horas, usando un agitador giratorio.

15

La purificación en bruto se realizó de la misma manera que en el Ejemplo 10, para obtener 223,1 mg de un producto sólido seco. Se añadió MeOH a este producto sólido secado para obtener una solución de 100 mg/ml, y la solución se sometió a un pretratamiento de la misma manera que en el Ejemplo 10. El análisis por HPLC de fase inversa se realizó de la misma manera que en el Ejemplo 10, excepto por las condiciones de desarrollo. Para el disolvente de desarrollo, se usó metanol que contenía acetato amónico 50 mM, y la concentración de metanol se aumentó linealmente del 70 % al 90 % durante 30 minutos. Se fraccionó un pico a un tiempo de retención de 17,5 a 18,5 minutos. La fracción obtenida se purificó de la misma manera que en el Ejemplo 10, para obtener 40,36 mg de un producto purificado del compuesto I-3.

20

25

Las propiedades del compuesto I-3 se determinaron como se indica a continuación.

30

MALDI-TOF-MS, UV y FT-IR se midieron de la misma manera que en el Ejemplo 10, La RMN se midió usando ALPHA600 (JEOL, Ltd.) en las condiciones de ¹H 600 MHz, ¹³C 150 MHz y 25 °C. La muestra usada fue una solución de aproximadamente 10 mg/ml de acetona-d₆.

Las propiedades fisicoquímicas del compuesto 1-3 se presentan a continuación.

35

Fórmula molecular: C₃₀H₃₅NO₆

MALDI-TOF-MS (m/z)

Observado (M + H)⁺: 506,2573

40

Calculado: 506,2543 para C₃₀H₃₆NO₆

UV λ_{máx} nm (ε): 217 (46,786), 281 (17,583)

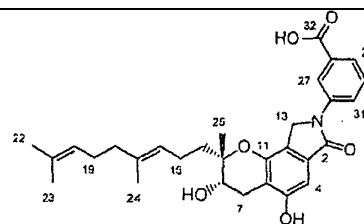
IR ν_{máx} (NaCl) cm⁻¹: 3352, 2970, 2920, 2858, 2634, 2540, 1693, 1616, 1593, 1462, 1367, 1290, 1244, 1155, 1072

45

RMN

[Tabla 7]

Nº	δ _C	δ _H
2	168,26	



I ~ 3 : S M T P - 2 0

3	133,14	
4	100,86	6,84 (1H, s)
5	157,45	
6	113,76	
7	27,75	3,05 (1H, dd, $J = 5,4, 17,4$)
		2,69 (1 H, dd, $J = 7,2, 17,4$)
8	67,67	3,98 (1H, dd, $J = 5,4, 7,2$)
9	80,14	
11	149,87	
12	120,52	
13	48,61	4,81 (2H, s)
14	38,44	1,76 (2H, m)
15	22,23	2,25 (2H, m)
16	125,31	5,19 (1 H, t, $J = 6,6$)
17	135,65	
18	40,44	1,96 (2H, m)
19	27,39	~2,03 (2H, m)
20	125,11	5,07 (1H, t, $J = 6,6$)
21	131,66	
22	25,79	1,61 (3H, s)
23	17,68	1,54 (3H, s)
24	16,01	1,61 (3H, s)
25	18,62	1,32 (3H, s)
26	141,55	
27	120,58	8,60 (1H, s)
28	132,34	
29	125,43	7,79 (1H, d, $J = 7,2$)
30	129,85	7,52 (1H, t, $J = 7,8$)
31	123,76	8,26 (1H, d, $J = 7,8$)
32	167,62	

El desplazamiento químico es en relación con acetona- d_6 (δ_C 29,8 ppm [átomo de carbono de metilo]; δ_H 2,04 ppm). La constante de acoplamiento (J) se da en Hz.

[Ejemplo 12]

Síntesis del compuesto 1-4

5

El cultivo preliminar se realizó de la misma manera que en el Ejemplo 10.

El cultivo principal se realizó de la misma manera que en el Ejemplo 11, excepto que el compuesto de amina orgánico añadido el día 4 del cultivo principal se cambió a ácido o-aminobenzoico.

10

La purificación en bruto se realizó de la misma manera que en el Ejemplo 10, para obtener 120 mg de un producto sólido seco. Se añadió MeOH a este producto sólido secado para obtener una solución de 100 mg/ml, y la solución se sometió a un pretratamiento de la misma manera que en el Ejemplo 10. El análisis por HPLC de fase inversa se realizó de la misma manera que en el Ejemplo 10, excepto por las condiciones de desarrollo. Para el disolvente de

15 desarrollo, se usó metanol que contenía acetato amónico 50 mM, y la concentración de metanol se aumentó

linealmente del 70 % al 90 % durante 40 minutos. Se fraccionó un pico a un tiempo de retención de 22,8 a 23,8 minutos. La fracción obtenida se purificó de la misma manera que en el Ejemplo 10, para obtener 14,58 mg de un producto purificado del compuesto I-4.

5 Las propiedades del compuesto 1-4 se determinaron como se indica a continuación.

MALDI-TOF-MS, UV y FT-IR se midieron de la misma manera que en el Ejemplo 9. La RMN se midió de la misma manera que en el Ejemplo 11 a 40 °C.

10 Las propiedades fisicoquímicas del compuesto I-4 se presentan a continuación.

Fórmula molecular: $C_{30}H_{35}NO_6$

MALDI-TOF-MS (m/z)

15 Observado $(M + H)^+$: 506,2573

Calculado: 506,2543 para $C_{30}H_{36}NO_6$

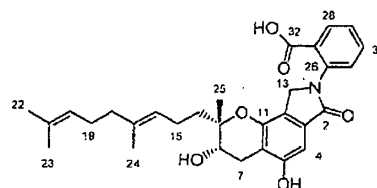
UV $\lambda_{\text{máx}}$ nm (ϵ): 215 (sh) (48,908), 260 (13,440), 301 (sh) (5,255)

20 IR $\nu_{\text{máx}}$ (NaCl) cm^{-1} : 3398, 2970, 2920, 2860, 2630, 2488, 1707, 1612, 1466, 1369, 1240, 1159, 1078, 1036

RMN

[Tabla 8]

Nº	δ_C	δ_H
2	169,04	
3	132,94	
4	101,19	6,83 (1H, m)
5	157,22	
6	113,15	
7	27,75	3,05 (1H, dd, $J=5,4, 17,4$) 2,69 (1H, dd, $J=7,8, 17,4$)
8	67,89	3,96 (1H, m)
9	80,04	
11	149,78	
12	121,78	
13	51,01	4,70 (2H, s)
14	38,66	1,76 (2H, m)
15	22,28	2,24 (2H, m)
16	125,36	5,19 (1H, t, $J=6,6$)
17	135,72	
18	40,48	1,97 (2H, m)
19	27,48	~2,06(2H, m)
20	125,19	5,08 (1H, t, $J=6,6$)
21	131,69	
22	25,80	1,63 (3H, s)
23	17,72	1,56 (3H, s)
24	16,05	1,60 (3H, s)



I - 4 : SMTP - 21

25	18,51	1,30 (3H, s)
26	139,54	
27	130,85	
28	131,66	7,95 (1H, d, $J = 7,2$)
29	127,80	7,44 (1H, t, $J = 7,2$)
30	133,27	7,65 (1H, t, $J = 7,8$)
31	128,88	7,53 (1H, d, $J = 7,8$)
32	167,62	

El desplazamiento químico es en relación con acetona- d_6 (δ_C 29,8 ppm [átomo de carbono de metilo]; δ_H 2,04 ppm). La constante de acoplamiento (J) se da en Hz.

[Ejemplo 13]

Síntesis del compuesto 1-5

5

El cultivo preliminar se realizó de la misma manera que en el Ejemplo 10.

El cultivo principal se realizó de la misma manera que en el Ejemplo 11, excepto que el compuesto de amina orgánico añadido el día 4 del cultivo principal se cambió a ácido 4-aminosalicílico.

10

La purificación en bruto se realizó de la misma manera que en el Ejemplo 10, para obtener 408 mg de un producto sólido seco. Se añadió MeOH a este producto sólido secado para obtener una solución de 150 mg/ml, y la solución se sometió a un pretratamiento de la misma manera que en el Ejemplo 10. El análisis por HPLC de fase inversa se realizó de la misma manera que en el Ejemplo 10, excepto por las condiciones de desarrollo. La longitud de onda de detección fue 290 nm. Para el disolvente de desarrollo, se usó metanol al 70 % que contenía acetato amónico 50 mM, y un pico se fraccionó a un tiempo de retención de 12,7 a 15 minutos. La fracción obtenida se purificó de la misma manera que en el Ejemplo 10, para obtener 18,50 mg de un producto purificado del compuesto 1-5.

Las propiedades del compuesto 1-5 se determinaron como se indica a continuación.

20

FAB-MS se midió usando un instrumento JEOL SX-102A en el modo de ión positivo usando glicerol como la matriz. UV, FT-IR y RMN se midieron de la misma manera que en el Ejemplo 11.

Las propiedades fisicoquímicas del compuesto 1-5 se presentan a continuación.

25

Fórmula molecular: $C_{30}H_{35}NO_7$

MALDI-TOF-MS (m/z)

Observado ($M + H$) $^+$: 522

30

Calculado: 522,2492 para $C_{30}H_{36}NO_7$

UV $\lambda_{\text{máx}}$ nm (ϵ): 212 (sh) (47,641), 288 (18,973), 306 (18,243)

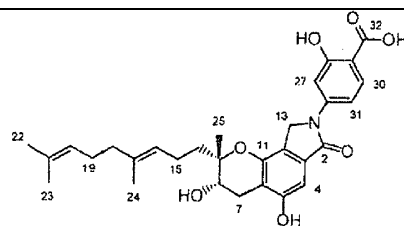
IR $\nu_{\text{máx}}$ (NaCl) cm^{-1} : 3398, 2968, 2922, 2860, 2553, 1689, 1622, 1462, 1362, 1253, 1218, 1157, 1074

35

RMN

[Tabla 9]

Nº	δ_C	δ_H
2	168,67	



I - 5 : S M T P - 2 2

3	132,78	
4	100,77	6,85 (1H, s)
5	157,49	
6	114,18	
7	27,70	3,04 (1H, dd, $J = 5,5, 17,6$)
		2,69 (1H, dd, $J = 7,7, 17,6$)
8	67,56	3,97 (1 H, dd, $J = 5,5, 7,7$)
9	80,18	
11	149,85	
12	120,61	
13	48,62	4,78 (2H, s)
14	38,42	1,77 (2H, m)
15	22,21	2,26 (2H, m)
16	125,31	5,20 (1H, m)
17	135,65	
18	40,45	1,97 (2H, m)
19	27,39	~2,06 (2H, m)
20	125,10	5,08 (1H, m)
21	131,67	
22	25,78	1,62 (3H, s)
23	17,68	1,55 (3H, s)
24	16,00	1,62 (3H, s)
25	18,57	1,32 (3H, s)
26	147,49	
27	106,43	7,69 (1H, d, $J = 2,2$)
28	163,73	
29	108,46	
30	132,00	7,89 (1H, d, $J = 8,8$)
31	110,15	7,54 (1 H, dd, $J = 2,2, 8,8$)
32	172,24	

El desplazamiento químico es en relación con acetona- d_6 (δ_C 29,8 ppm [átomo de carbono de metilo]; δ_H 2,04 ppm)
La constante de acoplamiento (J) se da en Hz.

[Ejemplo 14]

Síntesis del compuesto I-6

5

El cultivo preliminar se realizó de la misma manera que en el Ejemplo 10.

El cultivo principal se realizó de la misma manera que en el Ejemplo 11, excepto que el compuesto de amina orgánico añadido el día 4 del cultivo principal se cambió a ácido 4-amino-3-hidroxibenzoico.

10

La purificación en bruto se realizó de la misma manera que en el Ejemplo 10, para obtener 170 mg de un producto sólido seco. Se añadió MeOH a este producto sólido secado para obtener una solución de 100 mg/ml, y la solución se sometió a un pretratamiento de la misma manera que en el Ejemplo 10. El análisis por HPLC de fase inversa se realizó de la misma manera que en el Ejemplo 10, excepto por las condiciones de desarrollo. Para el disolvente de

15 desarrollo, se usó metanol que contenía acetato amónico 50 mM, y la concentración de metanol se aumentó

linealmente del 70 % al 100 % durante 40 minutos. Se fraccionó un pico a un tiempo de retención de 14,3 a 15,3 minutos. La fracción obtenida se purificó de la misma manera que en el Ejemplo 10, para obtener 9,54 mg de un producto purificado del compuesto I-6.

5 Las propiedades del compuesto I-6 se determinaron como se indica a continuación.

MALDI-TOF-MS, UV, FT-IR y RMN se midieron de la misma manera que en el Ejemplo 11.

Las propiedades fisicoquímicas del compuesto I-6 se presentan a continuación.

10

Fórmula molecular: $C_{30}H_{35}NO_7$

MALDI-TOF-MS (m/z)

Observado (M + H)⁺: 522,2533

15 Calculado: 522,2492 para $C_{30}H_{36}NO_7$

UV $\lambda_{\text{máx}}$ nm(ϵ): 206 (66,823), 263 (16,471), 297 (13,865)

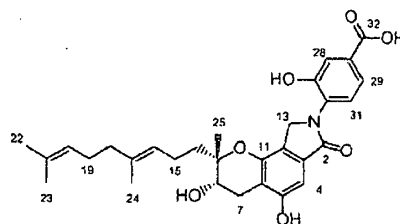
IR $\nu_{\text{máx}}$ (NaCl) cm^{-1} : 3388, 2968, 2922, 2858, 2578, 1697, 1614, 1466, 1371, 1215, 1076

20

RMN

[Tabla 10]

Nº	δ_C	δ_H
2	170,02	
3	132,48	
4	100,86	6,87 (1H, s)
5	157,57	
6	114,25	
7	27,71	3,06 (1H, dd, $J = 5,5, 17,6$) 2,71 (1H, dd, $J = 7,7, 17,6$) 3,98 (1H, dd, $J = 5,5, 7,7$)
8	67,55	
9	80,23	
11	149,82	
12	122,48	
13	50,64	4,93 (2H, d, $J = 4,0$)
14	38,40	1,76 (2H, m)
15	22,18	2,24 (2H, m)
16	125,21	5,18 (1H, m)
17	135,67	
18	40,41	1,96 (2H, m)
19	27,38	~2,05(2H, m)
20	125,07	5,07 (1H, m)
21	131,53	
22	25,77	1,62 (3H, s)
23	17,67	1,55 (3H, s)
24	15,98	1,60 (3H, s)
25	18,57	1,31 (3H, s)



I - 6 : S M T P - 2 3

26	131,66	
27	151,74	
28	121,30	7,65 (1H, d, $J = 1,8$)
29	130,51	
30	122,53	7,63 (1H, dd, $J = 1,8, 8,4$)
31	125,13	7,59 (1H, d, $J = 8,4$)
32	167,05	

El desplazamiento químico es en relación con acetona- d_6 (δ_C 29,8 ppm [átomo de carbono de metilo]; δ_H 2,04 ppm). La constante de acoplamiento (J) se da en Hz.

[Ejemplo 15]

Síntesis del compuesto I-7

5

El cultivo preliminar se realizó de la misma manera que en el Ejemplo 10.

El cultivo principal se realizó de la misma manera que en el Ejemplo 11, excepto que el compuesto de amina orgánico añadido el día 4 del cultivo principal se cambió a ácido 3-hidroxiantranílico.

10

La purificación en bruto se realizó de la misma manera que en el Ejemplo 10, para obtener 200 mg de un producto sólido seco. Se añadió MeOH a este producto sólido secado para obtener una solución de 100 mg/ml, y la solución se sometió a un pretratamiento de la misma manera que en el Ejemplo 10. El análisis por HPLC de fase inversa se realizó de la misma manera que en el Ejemplo 10, excepto por las condiciones de desarrollo. Para el disolvente de desarrollo, se usó metanol que contenía acetato amónico 50 mM, y la concentración de metanol se aumentó linealmente del 70 % al 80 % durante 10 minutos, y después se mantuvo al 80 % durante 10 minutos. Se fraccionó un pico a un tiempo de retención de 12,4 a 13,5 minutos. La fracción obtenida se purificó de la misma manera que en el Ejemplo 10, para obtener 31,1 mg de un producto purificado del compuesto I-7.

20

Las propiedades del compuesto I-7 se determinaron como se indica a continuación.

MALDI-TOF-MS, UV, FT-IR y RMN se midieron de la misma manera que en el Ejemplo 11.

Las propiedades fisicoquímicas del compuesto I-7 se presentan a continuación.

25

Fórmula molecular: $C_{30}H_{35}NO_7$

MALDI-TOF-MS (m/z)

Observado ($M+H$)⁺: 522,2327

30

Calculado: 522,2492 para $C_{30}H_{36}NO_7$

UV $\lambda_{\text{máx}}$ nm (ϵ): 213 (57,753), 255 (11,155), 290 (7,714)

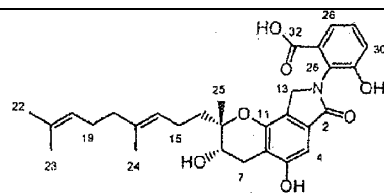
IR $\nu_{\text{máx}}$ (NaCl) cm^{-1} 3356, 2968, 2920, 2858, 1697, 1616, 1470, 1294, 1159, 1076, 762

35

RMN

[Tabla 11]

Nº	δ_C	δ_H
2	170,06	



I - 7 : S M T P - 2 4

3	132,63	
4	101,04	6,83 (1H, d, $J = 4,8$)
5	156,97	
6	112,87	
7	27,62	3,05 (1H, dd, $J = 5,4, 17,4$)
		2,69 (1H, dd, $J = 7,8, 17,4$)
8	67,78	3,98 (1H, dd, $J = 5,4, 7,8$)
9	79,81	
11	149,63	
12	122,29	
13	49,76	4,60 (2H, a)
14	38,57	1,75 (2H, m)
15	22,15	2,22 (2H, m)
16	125,21	5,18 (1H, t, $J = 6,6$)
17	135,62	
18	40,38	1,95 (2H, t, $J = 7,8$)
19	27,35	~2,07 (2H, m)
20	125,07	5,07 (1H, t, $J = 6,6$)
21	131,63	
22	25,76	1,62 (3H, s)
23	17,65	1,55 (3H, s)
24	15,97	1,59 (3H, s)
25	18,37	1,29 (3H, s)
26	126,16	
27	132,97	
28	120,91	7,49 (1H, d, $J = 7,2$)
29	129,32	7,33 (1H, t, $J = 7,8$)
30	122,60	7,23 (1H, d, $J = 7,8$)
31	155,83	
32	167,31	

El desplazamiento químico es en relación con acetona- d_6 (δ_C 29,8 ppm [átomo de carbono de metilo]; δ_H 2,04 ppm). La constante de acoplamiento (J) se da en Hz.

[Ejemplo 16]

Síntesis del compuesto I-8

5

El cultivo preliminar se realizó de la misma manera que en el Ejemplo 10.

El cultivo principal se realizó de la misma manera que en el Ejemplo 11, excepto que el compuesto de amina orgánico añadido el día 4 del cultivo principal se cambió a ácido 3-aminosalicílico.

10

La purificación en bruto se realizó de la misma manera que en el Ejemplo 10, para obtener 280 mg de un producto sólido seco. Se añadió MeOH a este producto sólido secado para obtener una solución de 100 mg/ml, y la solución se sometió a un pretratamiento de la misma manera que en el Ejemplo 10. El análisis por HPLC de fase inversa se realizó de la misma manera que en el Ejemplo 10, excepto por las condiciones de desarrollo. Para el disolvente de

15

desarrollo, se usó metanol al 75 % que contenía acetato amónico 50 mM, y un pico se fraccionó a un tiempo de retención de 16,0 a 18,6 minutos. La fracción obtenida se purificó de la misma manera que en el Ejemplo 10, para

obtener 23,29 mg de un producto purificado del compuesto I-8.

Las propiedades del compuesto I-8 se determinaron como se indica a continuación.

5 MALDI-TOF-MS, UV, FT-IR y RMN se midieron de la misma manera que en el Ejemplo 11.

Las propiedades fisicoquímicas del compuesto 1-8 se presentan a continuación.

Fórmula molecular: $C_{30}H_{35}NO_7$

10

MALDI-TOF-MS (m/z)

Observado (M + H)⁺: 522,2537

Calculado: 2492 para $C_{30}H_{36}NO_7$

15 UV $\lambda_{\text{máx}}$ nm (ϵ): 4 (57,962), 256 (10,633), 304 (11,676)

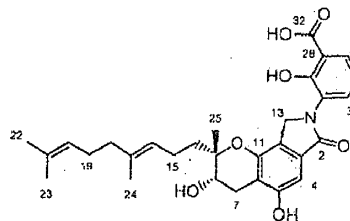
IR $\nu_{\text{máx}}$ (NaCl) cm^{-1} : 221, 2850, 2918, 2976, 1678, 1616, 1464, 1240, 1157, 1074

RMN

20

[Tabla 12]

Nº	δ_C	δ_H
2	168,80	
3	132,48	
4	100,96	6,86 (1H, s)
5	157,22	
6	113,12	
7	27,66	3,03 (1H, dd, $J = 5,5, 17,6$) 2,67 (1H, dd, $J = 7,7, 17,6$) 3,97 (1 H, dd, $J = 5,5, 7,7$)
8	67,67	
9	79,90	
11	149,69	
12	121,74	
13	49,67	4,69 (2H, s)
14	38,45	1,74 (2H, m)
15	22,15	2,21 (2H, m)
16	125,25	5,17 (1 H, t, $J = 7,0$)
17	135,55	
18	40,36	1,94 (2H, m)
19	27,34	2,06 (2H, m)
20	125,06	5,05 (1H, m)
21	131,63	
22	25,76	1,61 (3H, s)
23	17,64	1,53 (3H, s)
24	15,94	1,58 (3H, s)
25	18,39	1,28 (3H, s)



I - 8 : SMT P - 25

26	127,82	
27	158,51	
28	115,53	
29	130,02	7,88 (1H, dd, $J = 1,5, 7,7$)
30	119,13	6,98 (1H, t, $J = 7,7$)
31	135,41	7,65 (1H, dd, $J = 1,5, 7,7$)
32	173,03	

El desplazamiento químico es en relación con acetona- d_6 (δ_C 29,8 ppm [átomo de carbono de metilo]; δ_H 2,04 ppm). La constante de acoplamiento (J) se da en Hz.

[Ejemplo 17]

Síntesis del compuesto I-9

5

El cultivo preliminar se realizó de la misma manera que en el Ejemplo 10.

El cultivo principal se realizó de la misma manera que en el Ejemplo 11, excepto que el compuesto de amina orgánico añadido el día 4 del cultivo principal se cambió a ácido 5-aminosalicílico.

10

La purificación en bruto se realizó de la misma manera que en el Ejemplo 10, para obtener 502 mg de un producto sólido seco. Se añadió MeOH a este producto sólido secado para obtener una solución de 200 mg/ml, y la solución se sometió a un pretratamiento de la misma manera que en el Ejemplo 10. El análisis por HPLC de fase inversa se realizó de la misma manera que en el Ejemplo 10, excepto por las condiciones de desarrollo. Para el disolvente de desarrollo, se usó metanol al 70 % que contenía acetato amónico 50 mM, y un pico se fraccionó a un tiempo de retención de 22,0 a 25,5 minutos. La fracción obtenida se purificó de la misma manera que en el Ejemplo 10, para obtener 66,34 mg de un producto purificado del compuesto I-9.

15

Las propiedades del compuesto 1-9 se determinaron como se indica a continuación.

20

MALDI-TOF-MS, UV, FT-IR y RMN se midieron de la misma manera que en el Ejemplo 11.

Las propiedades fisicoquímicas del compuesto I-9 se presentan a continuación.

25 Fórmula molecular: $C_{30}H_{35}NO_7$

MALDI-TOF-MS (m/z)

Observado ($M + H$) $^+$: 522,2505

Calculado: 522,2492 para $C_{30}H_{36}NO_7$

30

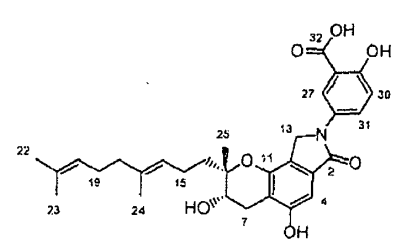
UV $\lambda_{\text{máx}}$ nm (ϵ): 214 (50,665), 259 (sh) (9,591), 295 (14,490)

IR $\nu_{\text{máx}}$ (NaCl) cm^{-1} : 3394, 2970, 2920, 2858, 1676, 1618, 1489, 1464, 1370, 1203, 1161, 1076

35 RMN

[Tabla 13]

Nº	δ_C	δ_H
2	167,84	



I - 9 : S M T P - 2 6

3	133,34	
4	100,78	6,84 (1H, s)
5	157,31	
6	113,23	
7	27,68	3,04 (1H, dd, $J = 5,5, 17,2$) 2,68 (1H, dd, $J = 7,7, 17,2$) 3,96 (1 H, dd, $J = 5,5, 7,7$)
8	67,61	
9	80,02	
11	149,76	
12	120,38	
13	48,98	4,73 (2H, s)
14	38,46	1,76 (2H, m)
15	22,21	2,24 (2H, m)
16	125,31	5,19 (1H, m)
17	135,62	
18	40,43	1,96 (2H, m)
19	27,38	~2,06 (2H, m)
20	125,11	5,07 (1H, m)
21	131,64	
22	25,78	1,61 (3H, m)
23	17,68	1,54 (3H, s)
24	16,00	1,60 (3H, s)
25	18,59	1,31 (3H, s)
26	132,64	
27	117,86	6,94 (1H, d, $J = 9,2$)
28	114,88	
29	159,31	
30	122,02	8,36 (1 H, d, $J = 2,6$)
31	127,82	8,07 (1 H, dd, $J = 2,6, 9,2$)
32	173,07	

El desplazamiento químico es en relación con acetona- d_6 (δ_C 29,8 ppm [átomo de carbono de metilo]; δ_H 2,04 ppm). La constante de acoplamiento (J) se da en Hz.

[Ejemplo 18]

Síntesis del compuesto I-10

5

El cultivo preliminar se realizó de la misma manera que en el Ejemplo 10.

El cultivo principal se realizó de la misma manera que en el Ejemplo 11, excepto que el compuesto de amina orgánico añadido el día 4 del cultivo principal se cambió a ácido 3-amino-4-hidroxibenzoico.

10

La purificación en bruto se realizó de la misma manera que en el Ejemplo 10, para obtener 420 mg de un producto sólido seco. Se añadió MeOH a este producto sólido secado para obtener una solución de 150 mg/ml, y la solución se sometió a un pretratamiento de la misma manera que en el Ejemplo 10. El análisis por HPLC de fase inversa se realizó de la misma manera que en el Ejemplo 10, excepto por las condiciones de desarrollo. Para el disolvente de desarrollo, se usó metanol que contenía acetato amónico 50 mM, y la concentración de metanol se mantuvo a 65 % durante 25 minutos, posteriormente se aumentó linealmente del 65 % al 100 % durante 5 minutos, y después se mantuvo a 100 % durante 10 minutos. Se fraccionó un pico a un tiempo de retención de 28,7 a 32,5 minutos. La fracción obtenida se purificó de la misma manera que en el Ejemplo 10, para obtener 78,94 mg de un producto purificado del compuesto I-10.

20

Las propiedades del compuesto I-10 se determinaron como se indica a continuación.

MALDI-TOF-MS, UV, FT-IR y RMN se midieron de la misma manera que en el Ejemplo 11.

25

Las propiedades fisicoquímicas del compuesto I-10 se presentan a continuación.

Fórmula molecular: $C_{30}H_{35}NO_7$

MALDI-TOF-MS (m/z)

5 Observado (M + H)⁺: 522,2550

Calculado: 522,2492 para $C_{30}H_{36}NO_7$

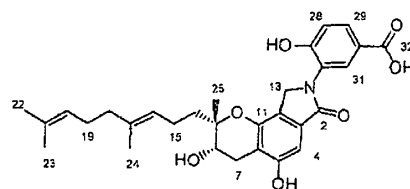
UV $\lambda_{\text{máx}}$ nm (ϵ): 215 (52,124), 252 (22,205), 308 (sh) (6,255)

10 IR $\nu_{\text{máx}}$ (NaCl) cm^{-1} : 3803, 3429, 3068, 2970, 2924, 2860, 2549, 2517, 1691, 1601, 1464, 1302, 1076, 1036

RMN

[Tabla 14]

Nº	δ_C	δ_H
2	169,92	
3	131,78	
4	100,82	6,87 (1N, s)
5	157,43	
6	113,91	
7	27,69	3,05 (1H, dd, $J = 5,4, 17,4$) 2,70 (1H, dd, $J = 7,8, 17,4$) 3,98 (1H, dd, $J = 5,4, 7,8$)
8	67,54	
9	80,15	
11	149,83	
12	122,39	
13	50,58	4,88 (2H, d, $J = 1,8$)
14	38,45	1,76 (2H, m)
15	22,18	2,24 (2H, m)
16	125,26	5,18 (1H, m)
17	135,63	
18	40,40	1,95 (2H, m)
19	27,36	-2,06 (2H, m)
20	125,09	5,06 (1H, m)
21	131,63	
22	25,78	1,61 (3H, s)
23	17,68	1,54 (3H, s)
24	15,98	1,60 (3H, s)
25	18,54	1,31 (3N, s)
26	127,96	
27	156,64	
28	119,43	7,08 (1H, d, $J = 8,4$)
29	130,36	7,87 (1H, dd, $J = 2,4, 8,4$)
30	123,67	
31	128,11	8,09 (1 H, d, $J = 2,4$)
32	167,05	



I - 1 0 : S M T P - 2 7

El desplazamiento químico es en relación con acetona- d_6 (δ_C 29,8 ppm [átomo de carbono de metilo]; δ_H 2,04 ppm). La constante de acoplamiento (J) se da en Hz.

15

[Ejemplo 19]

Síntesis del compuesto I-11

El cultivo preliminar se realizó de la misma manera que en el Ejemplo 10.

5

El cultivo principal se realizó de la misma manera que en el Ejemplo 11, excepto que el compuesto de amina orgánico añadido el día 4 del cultivo principal se cambió a ácido 5-hidroxiantranílico.

La purificación en bruto se realizó de la misma manera que en el Ejemplo 10, para obtener 305 mg de un producto sólido seco. Se añadió MeOH a este producto sólido secado para obtener una solución de 100 mg/ml, y la solución se sometió a un pretratamiento de la misma manera que en el Ejemplo 10. El análisis por HPLC de fase inversa se realizó de la misma manera que en el Ejemplo 10, excepto para el método de detección y las condiciones de desarrollo. La detección se realizó usando un detector de matriz de diodos, y se controló la región de 260 a 350 nm. Para el disolvente de desarrollo, se usó metanol al 80 % que contenía ácido fórmico al 0,1 % (vol/vol), y un pico se fraccionó a un tiempo de retención de 16,7 a 17,7 minutos. La fracción obtenida se concentró en un evaporador rotatorio para eliminar el metanol, y después se liofilizó. Al producto sólido seco se le añadió n-Hexano, y la mezcla se agitó y después se centrifugó para recuperar el producto insoluble. Esta operación se repitió tres veces para disolver el producto insoluble en metanol, y la solución resultante se filtró, se concentró y se secó para dar los sólidos, para obtener de este modo 43,37 mg de un producto purificado del compuesto I-11.

20

Las propiedades del compuesto I-11 se determinaron como se indica a continuación.

MALDI-TOF-MS, UV, FT-IR y RMN se midieron de la misma manera que en el Ejemplo 11.

25 Las propiedades fisicoquímicas del compuesto I-11 se presentan a continuación.

Fórmula molecular: $C_{30}H_{35}NO_7$

MALDI-TOF-MS (m/z)

30 Observado (M + H)⁺: 522,2516

Calculado: 522,2492 para $C_{30}H_{36}NO_7$

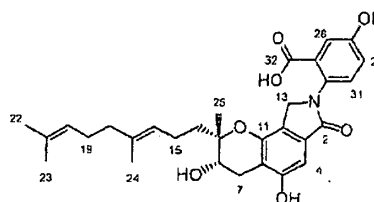
UV $\lambda_{\text{máx}}$ nm (ϵ): 214 (66,614), 260 (16,471), 297 (sh) (9,695)

35 IR $\nu_{\text{máx}}$ (NaCl) cm^{-1} : 3373, 3329, 2970, 2920, 2860, 1705, 1660, 1610, 1504, 1464, 1338, 1296, 1219, 1076, 1032

RMN

[Tabla 15]

Nº	δ_C	δ_H
2	169,32	
3	133,00	
4	100,97	6,82 (1H, d, J = 2,9)
5	157,08	
6	112,83	
7	27,65	3,04 (1H, dd, J = 5,5, 17,6) 2,68 (1H, dd, J = 7,7, 17,6)
8	67,75	3,94 (1H, dd, J = 5,5, 7,7)
9	79,89	



I - 1 1 : S M T P - 2 8

11	149,64	
12	121,70	
13	51,48	4,61 (2H, s)
14	38,56	1,74 (2H, m)
15	22,17	2,22 (2H, m)
16	125,25	5,18 (1H, m)
17	135,63	
18	40,42	1,95 (2H, m)
19	27,39	~ 2,06 (2H, m)
20	125,10	5,07 (1H, m)
21	131,65	
22	25,79	1,62 (3H, m)
23	17,68	1,55 (3H, s)
24	15,97	1,59 (3H, s)
25	18,42	1,28 (3H, s)
26	131,22	
27	131,58	
28	118,08	7,44 (1H, d, $J = 2,9$)
29	157,16	
30	120,07	7,09 (1H, dd, $J = 2,9, 8,4$)
31	130,95	7,34 (1H, d, $J = 8,4$)
32	167,09	

Los desplazamientos químicos son proporcionales a acetona- d_6 (δ_C 29,8 ppm [átomo de carbono de metilo]; δ_H 2,04 ppm). La constante de acoplamiento (J) se da en Hz.

[Ejemplo 20]

Síntesis del compuesto 1-16

5

El cultivo preliminar se realizó de la misma manera que en el Ejemplo 9.

El cultivo principal se realizó de la misma manera que en el Ejemplo 11, excepto que el compuesto de amina orgánico añadido el día 4 del cultivo principal se cambió a adenina.

10

La purificación en bruto se realizó de la misma manera que en el Ejemplo 9, para obtener 123 mg de un producto sólido seco. Se añadió MeOH a este producto sólido secado para obtener una solución de 100 mg/ml, y la solución se sometió a un pretratamiento de la misma manera que en el Ejemplo 9. El análisis por HPLC de fase inversa se realizó de la misma manera que en el Ejemplo 9, excepto por las condiciones de desarrollo. Para el disolvente de desarrollo, se usó metanol que contenía acetato amónico 50 mM, y la concentración de metanol se aumentó linealmente del 70 % al 100 % durante 30 minutos. Se fraccionó un pico a un tiempo de retención de 17,5 a 18 minutos. La fracción obtenida se purificó de la misma manera que en el Ejemplo 9, para obtener 1,66 mg de un producto purificado del compuesto I-16.

15

20 Las propiedades del compuesto 1-16 se determinaron como se indica a continuación. MALDI-TOF-MS y UV se midieron de la misma manera que en el Ejemplo 9.

Las propiedades fisicoquímicas del compuesto I-16 se presentan a continuación.

25

Fórmula molecular: $C_{28}H_{33}N_5O_4$

MALDI-TOF-MS (m/z)

Observado ($M + H$)⁺: 504,2665

Calculado: 504,2611 para $C_{28}H_{34}N_5O_4$

30

UV $\lambda_{\text{máx}}$ nm (ϵ): 212 (43,984), 258 (9,260), 301 (3,422)

[Ejemplo 21]

Síntesis del compuesto I-17

El cultivo preliminar se realizó de la misma manera que en el Ejemplo 9.

- 5 El cultivo principal se realizó de la misma manera que en el Ejemplo 11, excepto que el compuesto de amina orgánico añadido el día 4 del cultivo principal se cambió a 5-amino-2,3-dihidro-1,4-ftalazinadiona.

La purificación en bruto se realizó de la misma manera que en el Ejemplo 9, para obtener 130 mg de un producto sólido seco. Se añadió MeOH a este producto sólido secado para obtener una solución de 100 mg/ml, y la solución se sometió a un pretratamiento de la misma manera que en el Ejemplo 9. El análisis por HPLC de fase inversa se realizó de la misma manera que en el Ejemplo 9, excepto por las condiciones de desarrollo. Para el disolvente de desarrollo, se usó metanol al 75 % que contenía acetato amónico 50 mM, y un pico se fraccionó a un tiempo de retención de 16,5 a 17,5 minutos. La fracción fraccionada se purificó de la misma manera que en el Ejemplo 9, para obtener 10,20 mg de un producto purificado del compuesto I-17.

- 15 Las propiedades del compuesto I-17 se determinaron como se indica a continuación.

MALDI-TOF-MS, UV y FT-IR se midieron de la misma manera que en el Ejemplo 9.

- 20 Las propiedades fisicoquímicas del compuesto I-17 se presentan a continuación.

Fórmula molecular: $C_{31}H_{35}N_3O_6$

MALDI-TOF-MS (m/z)

- 25 Observado (M + H)⁺: 546,2742

Calculado: 546,2604 para $C_{31}H_{36}N_3O_6$

UV $\lambda_{\text{máx}}$ nm (ϵ): 208 (85,822), 260 (14,722), 306 (11,668)

- 30 IR $\nu_{\text{máx}}$ (NaCl) cm^{-1} : 3408, 3259, 2968, 2918, 2858, 1659, 1605, 1473, 1333, 1159, 1076, 1041

[Ejemplo 22]

Síntesis del compuesto I-18

- 35 El cultivo preliminar se realizó de la misma manera que en el Ejemplo 9.

El cultivo principal se realizó de la misma manera que en el Ejemplo 11, excepto que el compuesto de amina orgánico añadido el día 4 del cultivo principal se cambió a ácido 1-amino-2-naftol-4-sulfónico.

- 40 La purificación en bruto se realizó de la misma manera que en el Ejemplo 9, para obtener 199 mg de un producto sólido seco. Se añadió MeOH a este producto sólido secado para obtener una solución de 100 mg/ml, y la solución se sometió a un pretratamiento de la misma manera que en el Ejemplo 9. El análisis por HPLC de fase inversa se realizó de la misma manera que en el Ejemplo 9, excepto por las condiciones de desarrollo. Para el disolvente de desarrollo, se usó metanol que contenía acetato amónico 50 mM, y la concentración de metanol se aumentó linealmente del 70 % al 100 % durante 30 minutos. Se fraccionó un pico a un tiempo de retención de 14,5 a 15,5 minutos. La fracción obtenida se purificó de la misma manera que en el Ejemplo 9, para obtener 18,40 mg de un producto purificado del compuesto I-18.

- 50 Las propiedades del compuesto I-18 se determinaron como se indica a continuación.

MALDI-TOF-MS, UV y FT-IR se midieron de la misma manera que en el Ejemplo 9.

Las propiedades fisicoquímicas del compuesto I-18 se presentan a continuación.

- 55 Fórmula molecular: $C_{33}H_{37}NO_8S$

MALDI-TOF-MS (m/z)

Observado (M + H)⁺: 608,2346

Calculado: 608,2318 para $C_{33}H_{38}NO_8S$

UV $\lambda_{\text{máx}}$ nm (ϵ) : 217 (63,880), 234 (sh) (49,185), 260 (12,144), 285 (11,173), 296 (11,051), 326 (5,586), 338 (60,72)

5 IR $\nu_{\text{máx}}$ (NaCl) cm^{-1} : 3452, 3242, 2968, 2916, 2858, 2146, 1670, 1616, 1464, 1425, 1358, 1171, 1051

[Ejemplo 23]

Síntesis del compuesto I-19

10

El cultivo preliminar se realizó de la misma manera que en el Ejemplo 9.

El cultivo principal se realizó de la misma manera que en el Ejemplo 11, excepto que el compuesto de amina orgánico añadido el día 4 del cultivo principal se cambió a ácido p-sulfanílico.

15

La purificación en bruto se realizó de la misma manera que en el Ejemplo 9, para obtener 316 mg de un producto sólido seco. Se añadió MeOH a este producto sólido secado para obtener una solución de 100 mg/ml, y la solución se sometió a un pretratamiento de la misma manera que en el Ejemplo 9. El análisis por HPLC de fase inversa se realizó de la misma manera que en el Ejemplo 9, excepto por las condiciones de desarrollo. Para el disolvente de desarrollo, se usó metanol que contenía acetato amónico 50 mM, y la concentración de metanol se aumentó linealmente del 65 % al 100 % durante 35 minutos. Se fraccionó un pico a un tiempo de retención de 18 a 18,5 minutos. La fracción obtenida se purificó de la misma manera que en el Ejemplo 19, para obtener 12,33 mg de un producto purificado del compuesto I-19.

25

Las propiedades del compuesto I-19 se determinaron como se indica a continuación.

MALDI-TOF-MS, UV, FT-IR y RMN se midieron de la misma manera que en el Ejemplo 12.

Las propiedades fisicoquímicas del compuesto I-19 se presentan a continuación.

30

Fórmula molecular: $C_{29}H_{35}NO_7S$

MALDI-TOF-MS (m/z)

Observado ($M + H$)⁺: 542,2233

35

Calculado: 542,2212 para $C_{29}H_{36}NO_7S$

UV $\lambda_{\text{máx}}$ nm(ϵ):224(sh) (25,112), 286(19,484)

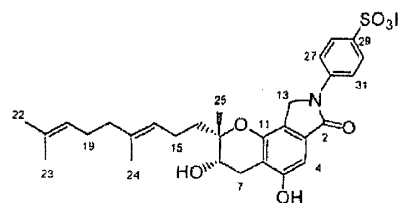
IR $\nu_{\text{máx}}$ (NaCl) cm^{-1} : 3188, 3057, 2972, 2918, 2856, 1697, 1606, 1460, 1367, 1174, 1132, 1080, 1036

40

RMN

[Tabla 16]

Nº	δ_C	δ_H
2	166,88	
3	131,47	
4	99,62	6,73 (1H, s)
5	156,34	



I - 19 : S M T P - 4 2

6	112,57	
7	26,66	2,86 (1H, dd, $J=5,5, 17,6$)
		2,51 (1H, dd, $J=7,7, 17,6$)
8	65,83	3,77 (1H, dd, $J=5,5, 7,3$)
9	78,88	
11	148,35	
12	118,71	
13	47,71	4,71 (1H, dd, $J=16,1, 24,9$)
14	37,08	1,63 (2H, dd, $J=7,0, 9,2$)
15	20,98	2,15 (2H, m)
16	124,16	5,14 (1H, m)
17	134,26	
18	~39,5	1,92 (2H, m)
19	26,07	2,00 (2H, m)
20	123,96	5,04 (1H, m)
21	130,52	
22	25,27	1,60 (3H, s)
23	17,36	1,52 (3H, s)
24	15,57	1,56 (3H, s)
25	18,12	1,20 (3H, s)
26	143,77	
27,31	126,06	7,61 (2H, m)
28,30	117,85	7,83 (2H, m)
29	139,55	

El desplazamiento químico es en relación con dimetil- d_6 -sulfóxido (δ_C 39,5 ppm [átomo de carbono de metilo]; δ_H 2,49 ppm). La constante de acoplamiento (J) se da en Hz.

[Ejemplo 24]

Síntesis del compuesto I-20

5

El cultivo preliminar se realizó de la misma manera que en el Ejemplo 9.

El cultivo principal se realizó de la misma manera que en el Ejemplo 11, excepto que el compuesto de amina orgánico añadido el día 4 del cultivo principal se cambió a L-fenilglicina.

10

La purificación en bruto se realizó de la misma manera que en el Ejemplo 9, para obtener 270 mg de un producto sólido seco. Se añadió MeOH a este producto sólido secado para obtener una solución de 100 mg/ml, y la solución se sometió a un pretratamiento de la misma manera que en el Ejemplo 9. El análisis por HPLC de fase inversa se realizó de la misma manera que en el Ejemplo 9, excepto por las condiciones de desarrollo. Para el disolvente de desarrollo, se usó metanol que contenía acetato amónico 50 mM, y la concentración de metanol se aumentó linealmente del 75 % al 90 % durante 40 minutos. Se fraccionó un pico a un tiempo de retención de 15 a 18,5 minutos. La fracción obtenida se purificó de la misma manera que en el Ejemplo 9, para obtener 37,85 mg de un producto purificado del compuesto I-20.

15

20 Las propiedades del compuesto I-20 se determinaron como se indica a continuación.

MALDI-TOF-MS, UV, FT-IR y RMN se midieron de la misma manera que en el Ejemplo 11.

Las propiedades fisicoquímicas del compuesto I-20 se presentan a continuación.

25

Fórmula molecular: $C_{31}H_{37}NO_6$

MALDI-TOF-MS (m/z)

Observado ($M + H$)⁺: 520,2662

30

Calculado: 520,2699 para $C_{31}H_{38}NO_6$

UV $\lambda_{\text{máx}}$ nm (ϵ): 214 (46,214), 259 (11,112), 300 (3,012)

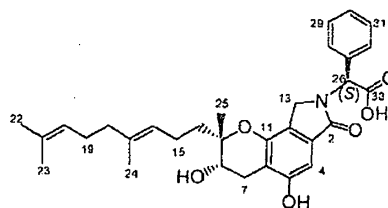
IR vmáx (NaCl) cm^{-1} : 3423, 2968, 2920, 2864, 1726, 1660, 1620, 1464, 1350, 1205, 1169, 1074

RMN

5

[Tabla 17]

Nº	δ_{C}	δ_{H}
2	169,12	
3	132,22	
4	100,77	6,81 (1H, s)
5	157,10	
6	112,88	
7	27,59	2,99 (1H, dd, $J = 5,5, 17,6$) 2,63 (1H, dd, $J = 7,7, 17,6$) 3,91 (1H, dd, $J = 5,5, 7,7$)
8	67,47	
9	79,94	
11	149,82	
12	121,82	
13	45,62	4,53 (1H, d, $J = 16,5$) 3,73 (1H, d, $J = 16,5$)
14	38,35	1,69 (2H, m)
15	22,19	2,16 (2H, m)
16	125,23	5,15 (1H, m)
17	135,61	
18	40,40	1,95 (2H, t, $J = 7,8$)
19	27,38	~2,06 (2H, m)
20	125,12	5,08 (1H, m)
21	131,65	
22	25,80	1,63 (3H, s)
23	17,70	1,56 (3H, s)
24	15,95	1,57 (3H, s)
25	18,58	1,20 (3H, s)
26	58,81	6,16 (1H, s)
27	136,19	
28,32	129,70	7,45 (2H, m)
29,31	129,83	7,45 (2H, m)
30	129,32	7,40 (1H, m)
33	171,81	



1 - 2 0 : S M T P - 4 3

El desplazamiento químico es proporcional a la acetona- d_6 (δ_{C} 29,8 ppm [átomo de carbono de metilo]; 2,04 ppm). La constante de acoplamiento (J) se da en Hz.

[Ejemplo 25]

10 Síntesis del compuesto 1-21

El cultivo preliminar se realizó de la misma manera que en el Ejemplo 9.

El cultivo principal se realizó de la misma manera que en el Ejemplo 11, excepto que el compuesto de amina

orgánico añadido el día 4 del cultivo principal se cambió a D-fenilglicina.

La purificación en bruto se realizó de la misma manera que en el Ejemplo 9, para obtener 150 mg de un producto sólido seco. Se añadió MeOH a este producto sólido secado para obtener una solución de 75 mg/ml, y la solución se sometió a un pretratamiento de la misma manera que en el Ejemplo 9. El análisis por HPLC de fase inversa se realizó de la misma manera que en el Ejemplo 9, excepto por las condiciones de desarrollo. Para el disolvente de desarrollo, se usó metanol que contenía acetato amónico 50 mM, y la concentración de metanol se aumentó linealmente del 70 % al 100 % durante 30 minutos. Se fraccionó un pico a un tiempo de retención de 19 a 20,5 minutos. La fracción obtenida se purificó de la misma manera que en el Ejemplo 9, para obtener 17,59 mg de un producto purificado del compuesto I-21.

Las propiedades del compuesto I-21 se determinaron como se indica a continuación.

MALDI-TOF-MS, UV, FT-IR y RMN se midieron de la misma manera que en el Ejemplo 11.

Las propiedades fisicoquímicas del compuesto I-21 se presentan a continuación.

Fórmula molecular: $C_{31}H_{37}NO_6$

MALDI-TOF-MS (m/z)

Observado $(M + H)^+$: 520,2747

Calculado: 520,2699 para $C_{31}H_{38}NO_6$

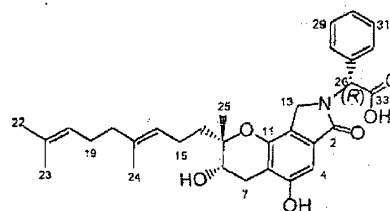
UV $\lambda_{\text{máx}}$ nm (ϵ): 215 (44,864), 259 (11,008), 300 (3,012)

IR $\nu_{\text{máx}}$ (NaCl) cm^{-1} : 3354, 2968, 2922, 2862, 1714, 1664, 1620, 1466, 1356, 1207, 1169, 1074

RMN

[Tabla 18]

Nº	δ_C	δ_H
2	169,12	
3	132,20	
4	100,78	6,81 (1H, s)
5	157,13	
6	112,83	
7	27,58	2,97 (1H, dd, $J = 5,4, 17,4$) 2,65 (1H, dd, $J = 7,2, 17,6$) 3,87 (1H, dd, $J = 5,4, 7,2$)
8	67,55	
9	79,94	
11	149,79	
12	121,81	
13	45,61	4,52 (1H, d, $J = 16,8$) 3,73 (1H, d, $J = 16,8$)
14	38,27	1,65 (2H, m)
15	22,16	2,09 (2H, m)
16	125,20	5,08 (1H, m)



I - 2 1 : S M T P - 4 3 D

17	135,46	
18	40,32	1,88 (2H, t, $J = 7,8$)
19	27,29	2,00 (2H, m)
20	123,98	5,04 (1H, m)
21	131,62	
22	25,77	1,61 (3H, s)
23	17,68	1,54 (3H, s)
24	15,83	1,47 (3H, s)
25	18,64	1,25 (3H, s)
26	58,82	6,16 (1H, s)
27	136,12	
28, 32	129,68	7,44 (2H, m)
29, 31	129,78	7,44 (2H, m)
30	129,27	7,40 (1H, m)
33	171,89	

El desplazamiento químico es en relación con acetona- d_6 (δ_C 29,8 ppm [átomo de carbono de metilo]; δ_H 2,04 ppm). La constante de acoplamiento (J) se da en Hz.

[Ejemplo 26]

Síntesis del compuesto I-22

5

El cultivo preliminar se realizó de la misma manera que en el Ejemplo 9.

El cultivo principal se realizó de la misma manera que en el Ejemplo 11, excepto que el compuesto de amina orgánico añadido el día 4 del cultivo principal se cambió a L-4-hidroxifenilglicina.

10

La purificación en bruto se realizó de la misma manera que en el Ejemplo 9, para obtener 365 mg de un producto sólido seco. Se añadió MeOH a este producto sólido secado para obtener una solución de 150 mg/ml, y la solución se sometió a un pretratamiento de la misma manera que en el Ejemplo 9. El análisis por HPLC de fase inversa se realizó de la misma manera que en el Ejemplo 19, excepto por las condiciones de desarrollo. Para el disolvente de desarrollo, se usó metanol y 0,1 % (vol/vol) de ácido fórmico, y la concentración de metanol se aumentó linealmente del 75 % al 90 % durante 30 minutos. Se fraccionó un pico a un tiempo de retención de 13 a 14 minutos. La fracción obtenida se purificó de la misma manera que en el Ejemplo 19, para obtener 69,68 mg de un producto purificado del compuesto I-22.

15

20 Las propiedades del compuesto I-22 se determinaron como se indica a continuación.

MALDI-TOF-MS, UV, FT-IR y RMN se midieron de la misma manera que en el Ejemplo 11.

Las propiedades fisicoquímicas del compuesto I-22 se presentan a continuación.

25

Fórmula molecular: $C_{31}H_{37}NO_7$

MALDI-TOF-MS (m/z)

Observado ($M + H$)⁺: 536,2656

30

Calculado: 536,2648 para $C_{31}H_{38}NO_7$

UV $\lambda_{\text{máx}}$ nm (ϵ): 216 (42,714), 262 (11,026), 300 (2,783)

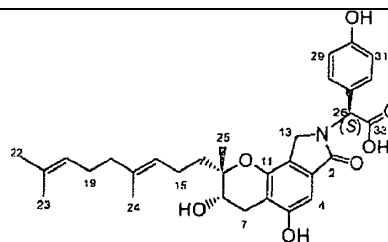
IR $\nu_{\text{máx}}$ (NaCl) cm^{-1} : 3348, 2974, 2922, 2856, 1718, 1660, 1612, 1514, 1464, 1365, 1211, 1173, 1072

35

RMN

[Tabla 19]

Nº	δ_C	δ_H
2	169,02	



I - 2 2 : S M T P - 4 4

3	132,42	
4	100,70	6,80 (1H, s)
5	157,03	
6	112,76	
7	27,59	2,99 (1H, dd, $J = 5,5, 17,6$)
		2,63 (1H, dd, $J = 7,7, 17,6$)
8	67,45	3,91 (1H, dd, $J = 5,5, 7,7$)
9	79,90	
11	149,80	
12	121,85	
13	45,62	4,50 (1H, d, $J = 16,5$)
		3,74 (1 H, d, $J = 16,5$)
14	38,35	1,69 (2H, m)
15	22,18	2,16 (2H, m)
16	125,23	5,15 (1H, m)
17	135,60	
18	40,40	1,96 (2H, m)
19	27,37	~2,06 (2H, m)
20	125,12	5,08 (1H, m)
21	131,65	
22	25,80	1,63 (3H, m)
23	17,70	1,56 (3H, s)
24	15,95	1,57 (3H, m)
25	18,56	1,20 (3H, s)
26	58,27	6,05 (1H, s)
27	126,74	
28, 32	131,03	7,27 (2H, m)
29, 31	116,48	6,91 (2H, m)
30	158,43	
33	172,13	

El desplazamiento químico es en relación con acetona- d_6 (δ_C 29,8 ppm [átomo de carbono de metilo]; δ_H 2,04 ppm). La constante de acoplamiento (J) se da en Hz.

[Ejemplo 27]

Síntesis del compuesto I-23

5

El cultivo preliminar se realizó de la misma manera que en el Ejemplo 9.

El cultivo principal se realizó de la misma manera que en el Ejemplo 11, excepto que el compuesto de amina orgánico añadido el día 4 del cultivo principal se cambió a D-4-hidroxifenilglicina.

10

La purificación en bruto se realizó de la misma manera que en el Ejemplo 9, para obtener 510 mg de un producto sólido seco. Se añadió MeOH a este producto sólido secado para obtener una solución de 200 mg/ml, y la solución se sometió a un pretratamiento de la misma manera que en el Ejemplo 9. El análisis por HPLC de fase inversa se realizó de la misma manera que en el Ejemplo 19, excepto por las condiciones de desarrollo. Para el disolvente de

15 desarrollo, se usó metanol y 0,1 % (vol/vol) de ácido fórmico, y la concentración de metanol se aumentó linealmente

del 75 % al 90 % durante 30 minutos. Se fraccionó un pico a un tiempo de retención de 13,5 a 15 minutos. La fracción obtenida se purificó de la misma manera que en el Ejemplo 19, para obtener 150,39 mg de un producto purificado del compuesto I-23

5 Las propiedades del compuesto I-23 se determinaron como se indica a continuación.

MALDI-TOF-MS, UV, FT-IR y RMN se midieron de la misma manera que en el Ejemplo 11.

Las propiedades fisicoquímicas del compuesto I-23 se presentan a continuación.

10

Fórmula molecular: $C_{31}H_{37}NO_7$

MALDI-TOF-MS (m/z)

Observado $(M + H)^+$: 536,2671

15 Calculado: 536,2648 para $C_{31}H_{38}NO_7$

UV $\lambda_{\text{máx}}$ nm (ϵ): 215 (52,563), 261 (13,274), 300 (5,353)

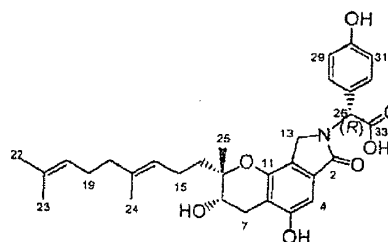
IR $\nu_{\text{máx}}$ (NaCl) cm^{-1} : 3325, 2970, 2922, 2858, 1711, 1662, 1612, 1512, 1464, 1365, 1217, 1173, 1074

20

RMN

[Tabla 20]

Nº	δ_C	δ_H
2	169,00	
3	132,43	
4	100,69	6,80 (1H, s)
5	157,05	
6	112,68	
7	27,56	2,97 (1H, dd, $J=5,5, 17,6$) 2,65 (1H, dd, $J=7,3, 17,6$) 3,87 (1H, dd, $J=5,5, 7,3$)
8	67,52	
9	79,91	
11	149,79	
12	121,85	
13	45,61	4,48 (1H, d, $J=16,5$) 3,75 (1H, d, $J=16,5$)
14	38,28	1,65 (2H, m)
15	22,17	2,11 (2H, m)
16	125,20	5,09 (1H, m)
17	135,48	
18	40,34	1,89 (2H, m)
19	27,29	2,00 (2H, m)
20	125,08	5,04 (1H, m)
21	131,63	
22	25,78	1,61 (3H, m)



I - 2 3 : S M T P - 4 4 D

23	17,68	1,49 (3H, s)
24	15,84	1,54 (3H, s)
25	18,65	1,26 (3H, s)
26	58,28	6,04 (1H, s)
27	126,73	
28, 32	131,00	7,27 (2H, m)
29, 31	116,45	6,90 (2H, m)
30	158,42	
33	172,18	

El desplazamiento químico es en relación con acetona- d_6 (δ_c 29,8 ppm [átomo de carbono de metilo]; δ_H 2,04 ppm). La constante de acoplamiento (J) se da en Hz.

[Ejemplo 28]

Síntesis del compuesto I-24 y síntesis del compuesto I-25

5

El cultivo preliminar se realizó de la misma manera que en el Ejemplo 9.

El cultivo principal se realizó de la misma manera que en el Ejemplo 11, excepto que el compuesto de amina orgánico añadido el día 4 del cultivo principal se cambió a 50 mg de DL-3-hidroxifenilglicina.

10

La purificación en bruto se realizó de la misma manera que en el Ejemplo 9, para obtener 230 mg de un producto sólido seco. Se añadió MeOH a este producto sólido secado para obtener una solución de 70 mg/ml, y la solución se sometió a un pretratamiento de la misma manera que en el Ejemplo 9. El análisis por HPLC de fase inversa se realizó de la misma manera que en el Ejemplo 19, excepto por las condiciones de desarrollo. Para el disolvente de desarrollo, se usó metanol y 0,1 % (vol/vol) de ácido fórmico, y la concentración de metanol se aumentó linealmente del 75 % al 90 % durante 30 minutos. Se fraccionó un pico a un tiempo de retención de 16 a 17 minutos (compuesto I-24), y se fraccionó otro pico a un tiempo de retención de 17,5 a 19 minutos (compuesto I-25). Cada una de las fracciones obtenidas se purificó de la misma manera que en el Ejemplo 19, para obtener 16,43 mg de un producto purificado del compuesto I-24 y 22,98 mg de un producto purificado del compuesto I-25.

20

Las propiedades del compuesto I-24 se determinaron como se indica a continuación.

MALDI-TOF-MS, UV y FT-IR se midieron de la misma manera que en el Ejemplo 9.

25 Las propiedades fisicoquímicas del compuesto I-24 se presentan a continuación.

Fórmula molecular: $C_{31}H_{37}NO_7$

MALDI-TOF-MS (m/z)

30 Observado ($M+H$) $^+$: 536,2716

Calculado: 536,2648 para $C_{31}H_{38}NO_7$

UV $\lambda_{\text{máx}}$ nm (ϵ): 215 (47,531), 261 (11,348), 299 (3,212)

35 IR $\nu_{\text{máx}}$ (NaCl) cm^{-1} : 3294, 2970, 2926, 2858, 1703, 1662, 1605, 1464, 1367, 1219, 1161, 1076

Las propiedades del compuesto I-25 se determinaron como se indica a continuación.

MALDI-TOF-MS, UV, FT-IR y RMN se midieron de la misma manera que en el Ejemplo 11.

40

Las propiedades fisicoquímicas del compuesto I-25 se presentan a continuación.

Fórmula molecular: $C_{31}H_{37}NO_7$

45 MALDI-TOF-MS (m/z)

Observado ($M+H$) $^+$: 536,2723

Calculado: 536,2648 para $C_{31}H_{38}NO_7$

UV $\lambda_{\text{máx}}$ nm (ϵ): 215 (57,915), 261 (13,703), 300 (3,747)

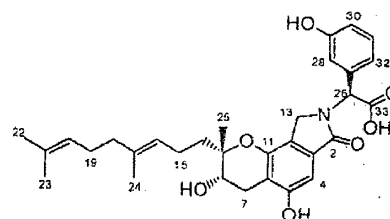
IR $\nu_{\text{máx}}$ (NaCl) cm^{-1} : 3309, 2974, 2924, 2864, 1707, 1662, 1603, 1465, 1365, 1224, 1163, 1076

5

RMN

[Tabla 21]

Nº	δ_{C}	δ_{H}
2	169,13	
3	132,23	
4	100,74	6,81 (1H, s)
5	157,09	
6	112,81	
7	27,57	2,98 (1H, dd, $J = 5,5, 17,6$) 2,65 (1H, dd, $J = 7,3, 17,6$) 3,88 (1H, dd, $J = 5,5, 7,3$)
8	67,51	
9	79,95	
11	149,82	
12	121,87	
13	45,67	4,53 (1 H, d, $J = 16,5$) 3,78 (1H, d, $J = 16,5$)
14	38,30	1,66 (2H, m)
15	22,17	2,10 (2H, m)
16	125,16	5,09 (1H, t, $J = 7,0$)
17	135,53	
18	40,33	1,89 (2H, m)
19	27,29	2,00 (2H, m)
20	125,10	5,04 (1H, m)
21	131,62	
22	25,78	1,66 (3H, s)
23	17,68	1,54 (3H, s)
24	16,85	1,48 (3H, s)
25	18,69	1,26 (3H, s)
26	58,71	6,08 (1H, s)
	137,43	
28	116,38	6,91 (1H, m)
29	158,64	
30	116,25	6,86 (1 H, dd, $J = 2,2, 7,7$)
31	130,88	7,26 (1H, t, $J = 7,7$)
32	120,59	6,89 (1H, d, $J = 7,7$)
33	171,91	



I - 2 5 : S M T P - 4 5 - . II

El desplazamiento químico es en relación con acetona- d_6 (δ_{C} 29,8 ppm [átomo de carbono de metilo]; δ_{H} 2,04 ppm).
La constante de acoplamiento (J) se da en Hz.

10 [Ejemplo 29]

Síntesis del compuesto I-26

El cultivo preliminar se realizó de la misma manera que en el Ejemplo 9.

El cultivo principal se realizó de la misma manera que en el Ejemplo 11, excepto que el compuesto de amina 5 orgánico añadido el día 4 del cultivo principal se cambió a L-tirosina.

La purificación en bruto se realizó de la misma manera que en el Ejemplo 9, para obtener 310 mg de un producto sólido seco. Se añadió MeOH a este producto sólido secado para obtener una solución de 100 mg/ml, y la solución se sometió a un pretratamiento de la misma manera que en el Ejemplo 9. El análisis por HPLC de fase inversa se realizó de la misma manera que en el Ejemplo 19, excepto por las condiciones de desarrollo. Para el disolvente de desarrollo, se usó metanol y 0,1 % de ácido fórmico, y la concentración de metanol se aumentó linealmente del 70 % al 80 % durante 30 minutos. Se fraccionó un pico a un tiempo de retención de 21 a 23 minutos. La fracción obtenida se purificó de la misma manera que en el Ejemplo 19, para obtener 53,94 mg de un producto purificado del compuesto I-26.

Las propiedades del compuesto I-26 se determinaron como se indica a continuación.

MALDI-TOF-MS, UV y FT-IR se midieron de la misma manera que en el Ejemplo 9.

La RMN se midió usando ALPHA600 (JEOL, Ltd.) en las condiciones de ^1H 600 MHz, ^{13}C 150 MHz y 40 °C. La muestra usada era una solución en DMSO- d_6 de aproximadamente 30 mg/ml.

Las propiedades fisicoquímicas del compuesto I-26 se presentan a continuación.

Fórmula molecular: $\text{C}_{32}\text{H}_{39}\text{NO}_7$

MALDI-TOF-MS (m/z)

Observado ($\text{M} + \text{H}^+$): 550,4594

Calculado: 550,2805 para $\text{C}_{32}\text{H}_{40}\text{NO}_7$

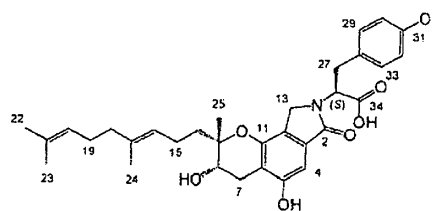
UV $\lambda_{\text{máx}}$ nm (ϵ): 215 (39,050), 261 (8,690), 297 (sh) (2,530)

IR $\nu_{\text{máx}}$ (NaCl) cm^{-1} : 3379, 2922, 2854, 1707, 1664, 1514, 1464, 1363, 1221, 1167, 1074

RMN

[Tabla 22]

Nº	δ_{C}	δ_{H}
2	168,07	
3	130,79	
4	99,53	6,59 (1H, m)
5	156,08	
6	111,58	
7	26,54	2,80 (1H, dd, $J=5,1, 17,7$) -2,46 (1H, m)
8	65,79	3,73 (1 H, t, $J=5,7$)
9	78,73	
11	148,30	



I - 2 6 : S M T P - 1 4

12	119,53	
13	44,47	4,19 (1H, d, $J = 16,8$)
		4,13 (1H, d, $J = 16,8$)
14	36,92	1,56 (2H, m)
15	21,00	2,09 (2H, m)
16	124,06	5,11 (1H, m)
17	134,27	
18	39,04	1,92 (2H, m)
19	26,10	2,00 (2H, m)
20	124,00	5,05 (1H, m)
21	130,52	
22	25,28	1,61 (3H, s)
23	17,37	1,52 (3H, s)
24	15,48	1,52 (3H, s)
25	18,35	1,17 (3H, s)
26	54,83	4,97 (1H, dd, $J = 5,1, 11,1$)
27	33,75	3,22 (1H, dd, $J = 4,8, 15,0$)
		3,07 (1H, dd, $J = 11,4, 14,4$)
28	127,42	
29, 33	129,18	6,99 (2H, d, $J = 8,4$)
30, 32	115,04	6,60 (2H, d, $J = 9,0$)
31	155,89	
34	172,03	

El desplazamiento químico es en relación con dimetil- d_6 -sulfóxido (δ_C 39,5 ppm [átomo de carbono de metilo]; δ_H 2,49 ppm). La constante de acoplamiento (J) se da en Hz.

[Ejemplo 30]

Para los diversos compuestos de triprenilfenol obtenidos tal como se ha descrito anteriormente, se evaluó el
5 rendimiento con respecto a la actividad trombolítica como actividad para promover la activación del plasminógeno (plg) mediante catálisis por urocinasa.

Además, se usó orniplabina (SMTP-7) en el Ejemplo Comparativo. Los compuestos respectivos son como se indica a continuación.

10

[Tabla 23]

Compuesto N°	Amina añadida	Comentarios
I-1	p-aminofenol	SMTP-18
I-2	ácido p-aminobenzoico	SMTP-19
I-3	ácido m-aminobenzoico	SMTP-20
I-4	ácido o-aminobenzoico	SMTP-21
I-5	ácido 4-aminosalicílico	SMTP-22
I-6	4-amino-3-hidroxibenzoico	SMTP-23
I-7	ácido 3-Hidroxiantranílico	SMTP-24
I-8	ácido 3-aminosalicílico	SMTP-25
I-9	ácido 5-aminosalicílico	SMTP-26
I-10	ácido 3-amino-4-hidroxibenzoico	SMTP-27
I-11	ácido 5-Hidroxiantranílico	SMTP-28
I-16	Adenina	SMTP-32
I-17	5-Amino-2,3-dihidro-1,4-ftalazinadiona	SMTP-36
I-18	ácido 1-amino-2-naftol-4-sulfónico	SMTP-37
I-19	ácido p-sulfanílico	SMTP-42
I-20	L-fenilglicina	SMTP-43
I-21	D-fenilglicina	SMTP-43 D
I-22	L-4-hidroxi-fenilglicina	SMTP-44
I-23	D-4-hidroxi-fenilglicina	SMTP-44D
I-24	DL-3-hidroxi-fenilglicina	SMTP-45-I

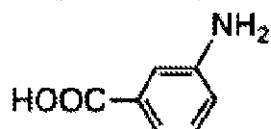
I-25	DL-3-hidroxi-fenilglicina	SMTP-45-II
I-26	L-tirosina	SMTP-14
Orniplabina	Ornitina	Ejemplo Comparativo
X-1	Serina	Ejemplo Comparativo
X-2	Fenilalanina metil éster	Ejemplo Comparativo



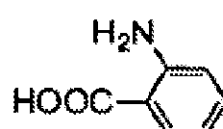
(p-Aminofenol)



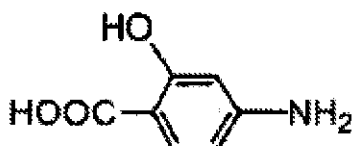
(Ácido p-aminobenzoico)



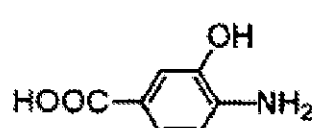
(Ácido m-aminobenzoico)



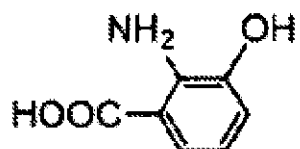
(Ácido o-aminobenzoico)



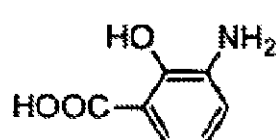
(Ácido 4-aminosalicílico)



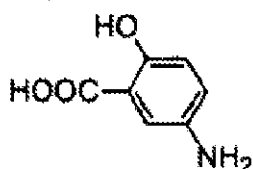
(Ácido 4-amino-3-hidroxibenzoico)



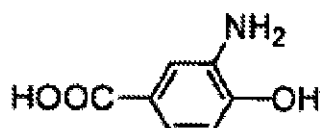
(Ácido 3-hidroxiantranílico)



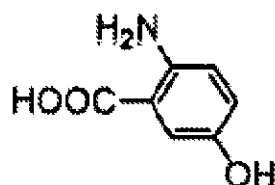
(Ácido 3-aminosalicílico)



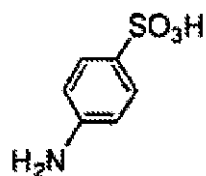
(Ácido 5-aminosalicílico)



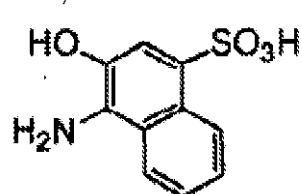
(Ácido 3-amino-4-hidroxibenzoico)



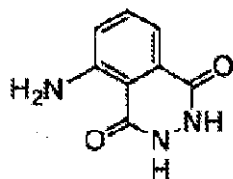
(Ácido 5-hidroxiantranílico)



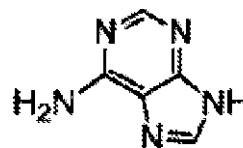
(Ácido p-sulfanílico)



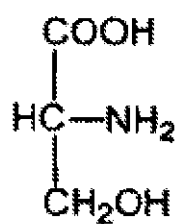
(Ácido 1-amino-2-naftol-4-sulfónico)



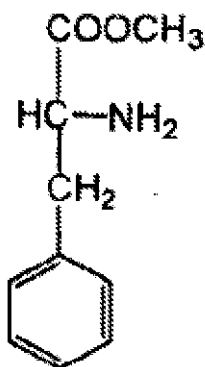
(5-Amino-2-3-dihidro-1,4-ftalazindiona)



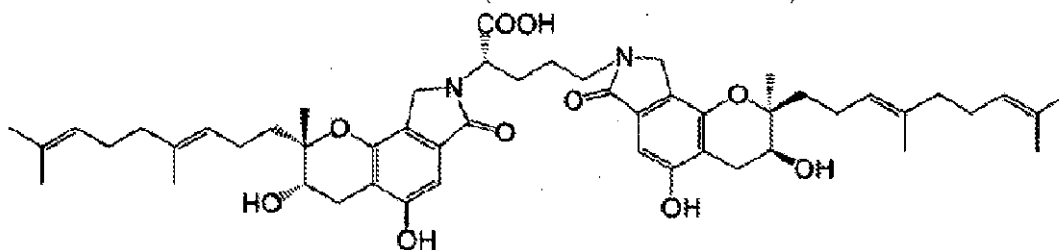
(Adenina)



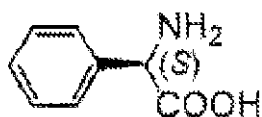
(Serina)



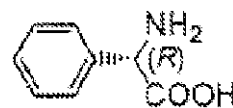
(Éster metílico de fenilalanina)



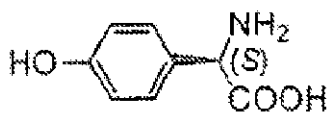
(orniplabina)



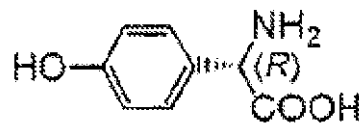
(L-fenilglicina)



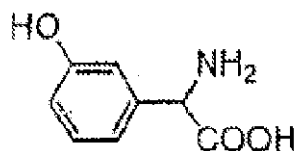
(D-fenilglicina)



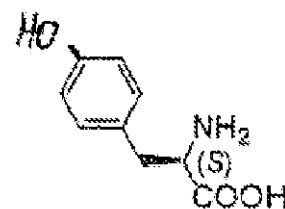
(L-4-hidroxi-fenilglicina)



(D-4-hidroxi-fenilglicina)



(DL-3-hidroxi-fenilglicina)



(L-tirosina)

Se usó la propiedad de la plasmina de cortar el enlace peptídico del sustrato cromogénico sintético VLK-pNA (Val-Leu-Lys-p-nitroanilida) para generar p-nitroanilina (pNA), para medir la coloración amarilla de pNA que se absorbe a 405 nm, y de ese modo se mide la actividad potenciadora de la activación del plasminógeno de una muestra. Se
 5 empleó un lector de microplacas de tipo MTP-500 (Corona Electric Co., Ltd.) como dispositivo de medición, y se realizó la medición con una microplaca de fondo redondo de 96 pocillos.

Se realizó la medición en las condiciones de medición cinética a 37 °C con longitud de onda doble de 405 nm (actividad) a 595 nm (fondo), 60 veces en cada minuto.

10

Se preparó cada una de las muestras purificadas en una disolución de DMSO o una disolución acuosa de sal de sodio. Se diluyó esta disolución con TBS/T (Tris-HCl 50 mM, NaCl 100 mM y Tween80 al 0,01 %, pH 7,4) para proporcionar una muestra para la medición. A 15 µl de la muestra, se le añadieron 35 µl de cada uno del líquido de
 15 reacción (ajustado con TBS/T de manera que las concentraciones finales se lograron a VLK-pNA 0,1 mM, Glu-plg 50 nM y u-PA 50 U/ml, respectivamente) para dar como resultado 50 µl/pocillo, y se realizó la medición por triplicado para cada concentración.

Además, como blanco, se realizó una reacción usando un líquido de reacción que no contenía u-PA, y se restó el valor obtenido a partir de la misma de los valores obtenidos de las reacciones descritas anteriormente. Se
 20 representó gráficamente la absorbancia frente al cuadrado del tiempo, y se definió la pendiente como la velocidad de reacción inicial. Se tomó una disolución de reacción a la que no se le añadió ningún compuesto de triprenilfenol como control y se comparó con las muestras, para determinar el grado de actividad de los respectivos compuestos.

El término "concentración de actividad potenciadora de 10 veces" indica la concentración a la que se obtiene una
 25 actividad potenciadora de 10 veces en el caso en el que el valor obtenido usando una disolución de reacción que no contiene ningún compuesto SMTP (control) se toma como 1. El término "actividad potenciadora máxima" indica la concentración a la que la potenciación de la activación del plasminógeno por un compuesto SMTP alcanza el máximo.

30 Los resultados se presentan en la Tabla 24.

[Tabla 24]

Compuesto		Peso Molecular	Actividad potenciadora de 10 veces		Actividad Potenciadora Máxima		
			Concentración en peso (µg/ ml)	Concentración en mol (µM)	Factor de Multiplicación	Concentración en peso (µg/ ml)	Concentración en mol (µM)
I-1	SMT P-18	477	86	180	18	95	200
I-2	SMT P-19	505	42	83	126	81	160
I-3	SMT P-20	505	102	202	52	151	300
I-4	SMT P-21	505	67	133	51	101	200
I-5	SMT P-22	521	52	100	158	101	200
I-6	SMT P-23	521	68	131	65	151	290
I-7	SMT P-24	521	90	173	37	151	290
I-8	SMT P-25	521	37	71	91	52	100
I-9	SMT P-26	521	NA*	NA*	8	63	120
I-10	SMT P-27	521	98	188	43	151	290
I-11	SMT P-28	521	66	127	65	101	200
I-16	SMT P-32	503	NA*	NA*	5	200	398
I-17	SMT P-36	545	52	95	45	95	174
I-18	SMT P-37	607	50	82	60	150	247
I-19	SMT P-42	541	74	137	60	163	300
I-20	SMT P-43	519	46	89	402	150	289
I-21	SMT P-43D	519	54	104	44	150	289
I-22	SMT P-44	535	113	211	18	160	299
I-23	SMT P-44D	535	177	331	22	215	402
I-24	SMT P-45-I	535	74	138	112	107	200
I-25	SMT P-45-II	535	123	230	29	215	402
I-26	SMT P-14	549	42	77	76	110	200
Orniplabina		868	56	65	100	78	90
X-1		473	NA**	NA**	1	NA**	NA**
X-2		547	NA**	NA**	1	NA**	NA**

*No medible debido a la baja solubilidad o baja actividad.
 **No aplicable debido a que la actividad potenciadora está ausente.

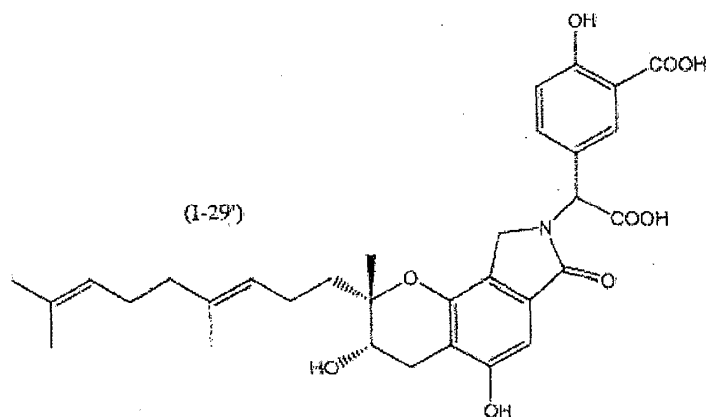
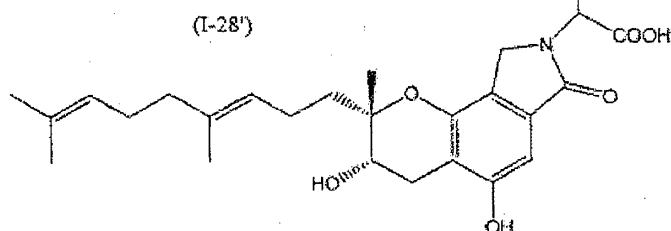
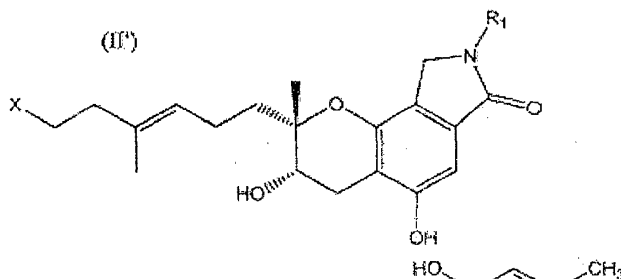
Los compuestos de triprenilfenol de I-1 a I-11 y I-16 a I-19 eran compuestos obtenidos añadiendo aminofenol o ácido aminobenzoico, adenina, adenosina, aminodihidroftalazindiona, ácido aminonaftolsulfónico, ácido sulfanílico o un derivado de los mismos. En estos compuestos, un grupo aromático que tiene un grupo carboxilo o un grupo hidroxilo como sustituyente está conectado
5 directamente a la estructura de triprenilfenol.

Los compuestos de triprenilfenol de I-20 a I-26 son compuestos obtenidos añadiendo fenilglicina o tirosina. En estos compuestos, hay uno o dos grupos metilo dispuestos entre el anillo aromático y la estructura de triprenilfenol.

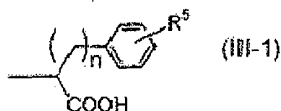
- 10 Como se muestra en la Tabla 24, se reconoció que todos estos compuestos tenían actividad potenciadora de la activación del plasminógeno, siendo útiles por lo tanto como agente trombolítico como orniplabina. Además, puesto que estos compuestos son todos compuestos de bajo peso molecular, se espera una capacidad de absorción superior a la de orniplabina.
- 15 En particular, los compuestos I-2, I-5, I-8, I-20, I-24 y I-26 presentaban actividad potenciadora de la activación del plasminógeno equivalente o superior en comparación con orniplabina, y por lo tanto se sugirió que estos compuestos podrían usarse como agentes trombolíticos que son mejores que la orniplabina, desde el punto de vista de la capacidad de absorción.
- 20 Por lo tanto, es obvio que los compuestos de los presentes Ejemplos pueden usarse como agentes trombolíticos eficaces con buena capacidad de absorción y alta actividad.

REIVINDICACIONES

1. Un compuesto de triprenilfenol representado por la siguiente fórmula (II), (I-28) o (I-29):

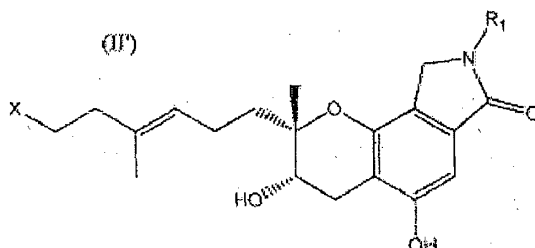


en las que R^1 representa un grupo representado por la siguiente fórmula (III-1); X es $-CHY-C(CH_3)_2Z$; e Y y Z son respectivamente -H o -OH, o juntos forman un enlace sencillo;



- 10 en el que R^5 representa un grupo hidroxilo que puede estar presente o ausente; y n representa un número entero de 0; el grupo representado por la fórmula (III-1) puede tener adicionalmente otro sustituyente distinto del grupo carboxilo en la posición α , como un sustituyente adicional, tal sustituyente adicional puede ser un grupo hidroxilo, un grupo carboxilo o un grupo alquilo que tiene de 1 a 5 átomos de carbono.

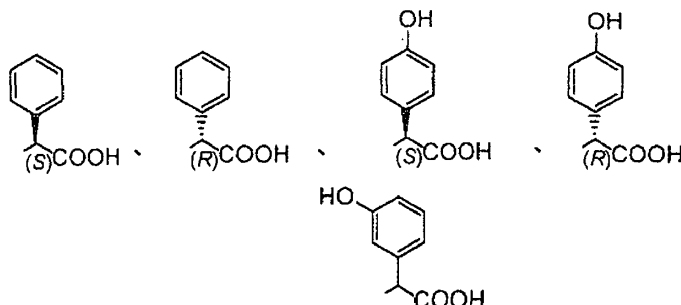
- 15 2. Un compuesto de triprenilfenol representado por la fórmula (II)',



en la que R^1 es un grupo obtenido eliminando el grupo amino de fenilglicina, hidroxifenilglicina, hidroximetilfenilglicina, hidroxietilfenilglicina, carboxifenilglicina, carboximetilfenilglicina o carboxietilfenilglicina, y X es $-CHY-C(CH_3)_2Z$; e Y y Z son respectivamente -H o -OH, o juntos forman un enlace sencillo.

5

3. El compuesto de trifenilfenol de la reivindicación 1, en el que R^1 en fórmula (II)' se selecciona entre los siguientes:



10

4. Un método para producir el compuesto de triprenilfenol de una cualquiera de las reivindicaciones 1 o 3, comprendiendo el método:

15

cultivar un hongo filamentoso en una solución de cultivo que comprende un compuesto de amina aditivo seleccionado entre el grupo que consiste en un compuesto amina obtenido añadiendo un grupo amino al extremo izquierdo de un grupo representado por la fórmula (III-1); y separar el compuesto de triprenilfenol de una cualquiera de las reivindicaciones 1 o 3 de un cultivo obtenido después del cultivo.

20

5. Un método para producir el compuesto de triprenilfenol de acuerdo con la reivindicación 2, comprendiendo el método:

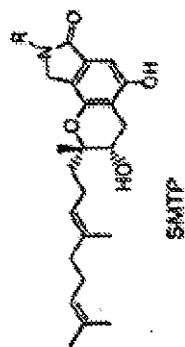
25

cultivar un hongo filamentoso en una solución de cultivo que comprende un compuesto de amina aditivo cuyo compuesto de amina aditivo es al menos uno seleccionado entre el grupo que consiste en fenilglicina, hidroxifenilglicina, hidroximetilfenilglicina, hidroxietilfenilglicina, carboxifenilglicina, carboximetilfenilglicina y carboxietilfenilglicina o mezclas de los mismos; y separar el compuesto de triprenilfenilo de la reivindicación 2 de un cultivo obtenido después del cultivo.

30

6. Un potenciador de la trombólisis que comprende el compuesto triprenilfenol de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3 como un principio activo.

FIG.1



SMTP-0	SMTP-1	SMTP-3	SMTP-4	SMTP-5	SMTP-6	SMTP-7 (n = 2)	SMTP-8 (n = 3)	SMTP-10L	SMTP-11L
R	H								

SMTP-4D	SMTP-5D	SMTP-6D	SMTP-7D (n = 2)	SMTP-8D (n = 3)
R				

SMTP-8L
R

FIG.2

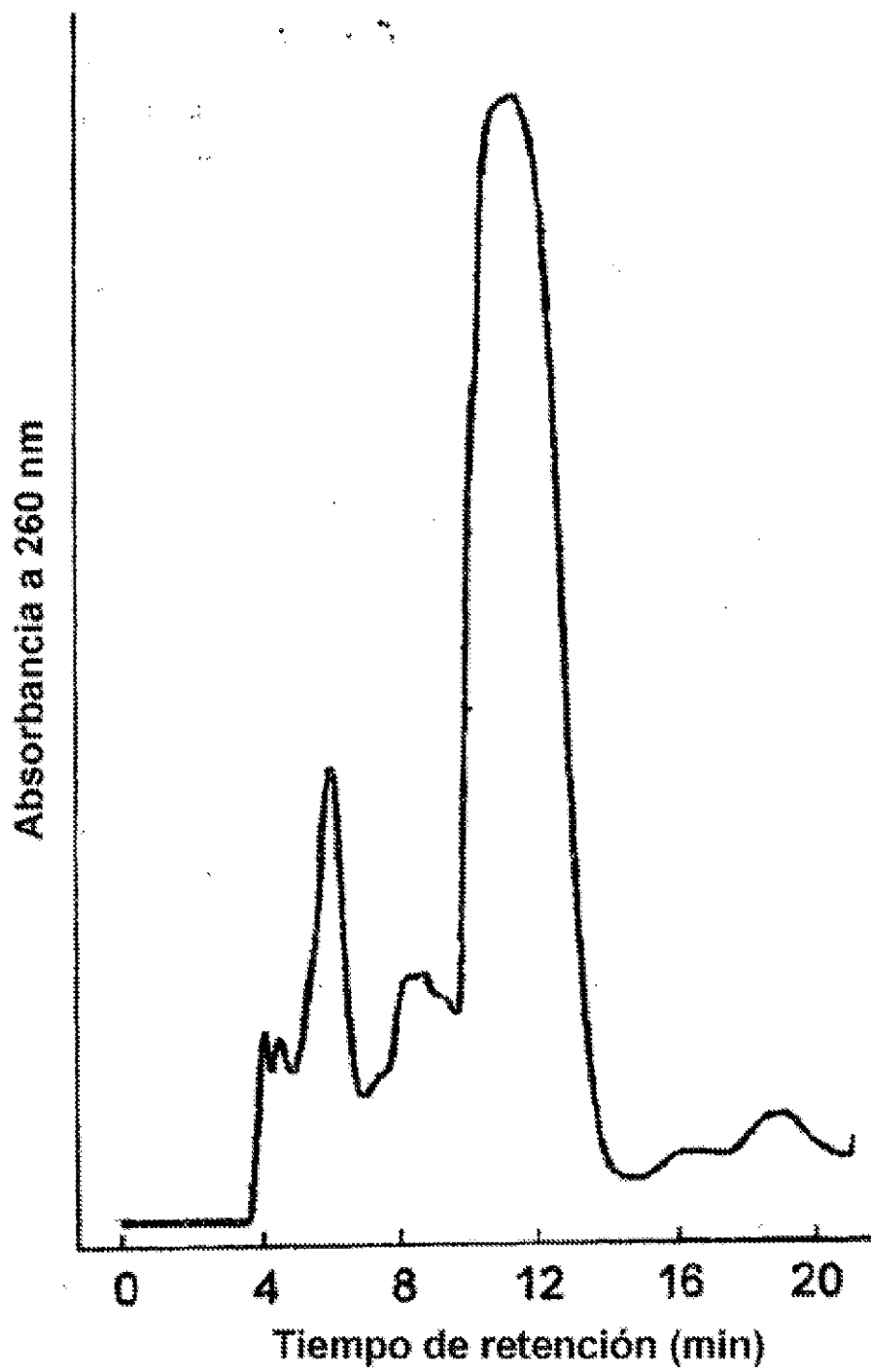


FIG.3

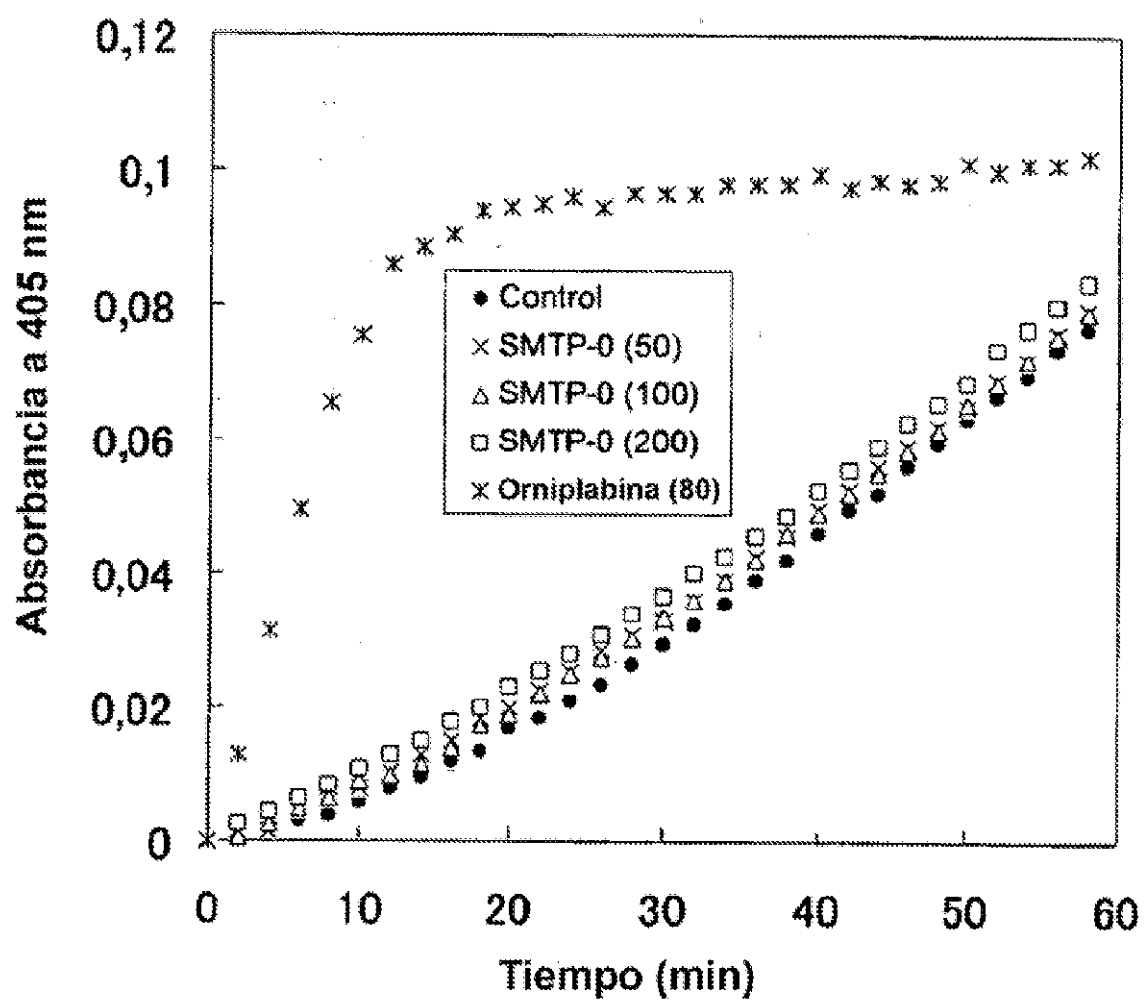


FIG.4

