

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 957 260**

51 Int. Cl.:

C07D 493/20 (2006.01)

A61P 35/00 (2006.01)

A61K 31/337 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **05.02.2021 PCT/EP2021/052843**

87 Fecha y número de publicación internacional: **12.08.2021 WO21156461**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **05.02.2021 E 21704473 (4)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **16.08.2023 EP 4100411**

54 Título: **Compuestos que constituyen derivados de salinomicina modificados en C20, un método de obtención de los mismos, una composición que contiene los mismos, un uso de dichos compuestos y un método de obtención de un producto intermedio**

30 Prioridad:

07.02.2020 PL 43285820

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

16.01.2024

73 Titular/es:

**FILECLO SP. Z O.O. (100.0%)
al. marsz. Jozefa Pilsudskiego 141
92-318 Lodz, PL**

72 Inventor/es:

**HUCZYNSKI, ADAM y
ANTOSZCZAK, MICHAL**

74 Agente/Representante:

UNGRÍA LÓPEZ, Javier

ES 2 957 260 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

5 Compuestos que constituyen derivados de salinomicina modificados en C20, un método de obtención de los mismos, una composición que contiene los mismos, un uso de dichos compuestos y un método de obtención de un producto intermedio

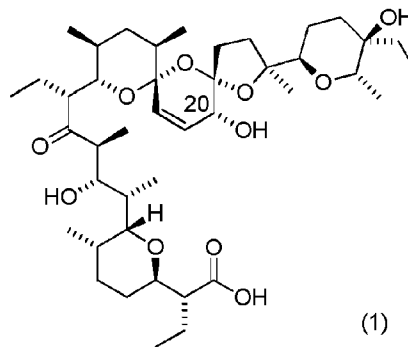
Campo técnico

10 La invención se refiere a derivados de salinomicina modificados individualmente modificados en la posición C-20, a un método de obtención de los mismos, a una composición que contiene los mismos y a un uso de los mismos como un medicamento, particularmente como un agente antineoplásico. La invención también se refiere a un método de obtención de un producto intermedio en un método de obtención de derivados de salinomicina modificados en la posición C-20.

15 Antecedentes

Una de las vías más utilizadas de identificación de nuevos fármacos antineoplásicos es la modificación química de compuestos de origen natural que han demostrado elevada actividad biológica. La salinomicina es un antibiótico ionóforo de poliéter natural aislado de *Streptomyces albus* usado comúnmente en veterinaria con la fórmula (1):

20



25 La salinomicina es conocida por su elevada actividad antimicrobiana, pero también por su actividad antineoplásica. En pruebas *in vitro* e *in vivo*, la salinomicina ha mostrado eficacia contra una variedad de células cancerosas, que incluyen células resistentes a fármacos y células madre de cáncer. El mecanismo de acción biológica de la salinomicina está relacionado con la capacidad de este compuesto para complejar selectivamente cationes metálicos, principalmente cationes sodio y potasio, y para transportarlos posteriormente a través de membranas biológicas. Esto conduce a un desequilibrio de cationes en la célula, cambios en el pH intracelular y, por último lugar, produce la muerte celular. La elevada actividad antineoplásica de la salinomicina también está relacionada con el efecto de dicho compuesto sobre diversas dianas moleculares y vías de señalización, que incluyen AMPK, MAPK, VEGF o Wnt/ β -catenina. La salinomicina se ha usado satisfactoriamente en un pequeño grupo de pacientes con cáncer avanzado de cabeza, cuello, mama y ovario. La terapia con salinomicina produjo la inhibición de la progresión del cáncer sin efectos secundarios agudos, demostrándose así un elevado potencial terapéutico de este compuesto.

35

La solicitud de patente EP3191493 y una publicación científica [Mai et al., *Nature Chemistry*, 9, 2017, 1025-1033] desvelan derivados de amina de salinomicina obtenidos en la posición C-20. En estudios *in vitro*, algunos compuestos presentaron mayor actividad antineoplásica y selectividad contra células madre de cáncer CD24, así como la capacidad para inhibir la formación de mamo esferas en comparación con la salinomicina original. El uso de derivados de amina de salinomicina en la posición C-20 también produjo una reducción en el volumen y peso de tumores en ratones con cáncer de mama MCF-7 humano implantado. La elevada actividad antineoplásica de dichos derivados está relacionada con su capacidad para inducir ferroptosis, es decir, muerte celular programada dependiente del contenido de catión hierro. Los hallazgos desvelados en la solicitud de patente EP3191493 y la publicación científica [Mai et al., *Nature Chemistry*, 9, 2017, 1025-1033] solo se refieren a estudios *in vivo* realizados en ratones. El cuerpo de un ratón se diferencia significativamente del humano, lo que hace imposible trasladar simplemente los resultados de estos estudios en el potencial terapéutico real de los derivados de salinomicina obtenidos.

40

45 Ahora, en la publicación científica [Li et al., *European Journal of Medicinal Chemistry*, 148, 2018, 279-290], los autores desvelaron derivados de *N*-amida y *N*-carbamato (uretano) de C20-*epi*-salinomicina con una configuración absoluta invertida (configuración absoluta *S* en lugar de *R*) en el carbono asimétrico en la posición C-20. La actividad antineoplásica *in vitro* de dichos compuestos se probó nuevamente en una serie de estirpes celulares de cáncer: 4T1 (carcinoma mamario murino), A549 (adenocarcinoma de pulmón humano), HL-60 (leucemia promielocítica humana), HeLa (cáncer de cuello uterino humano), MCF-7 (cáncer de mama humano), SMMC-7721 (cáncer de

50

hígado humano) y SW480 (adenocarcinoma de colon humano). Los datos desvelados en una publicación científica [Li et al., *European Journal of Medicinal Chemistry*, 148, 2018, 279-290] demuestran que la mayoría de los derivados de C20-*epi*-salinomicina obtenidos presentan mayor actividad antineoplásica en comparación con el compuesto de partida. Estudios realizados en la estirpe de linfocitos B normales BEAS-2 (células epiteliales bronquiales humanas) revelaron además que la C20-*epi*-salinomicina con la mayor actividad antineoplásica se caracterizó además por elevada selectividad de acción, que en algunos casos es varias veces superior a la presentada por salinomicina químicamente no modificada. La información desvelada en la publicación científica [Li et al., *European Journal of Medicinal Chemistry*, 148, 2018, 279-290] está limitada a estudios *in vitro* solo, que significa que el efecto de dichos compuestos "en el cuerpo vivo" (estudios *in vivo*) sigue siendo desconocido. La capacidad de los derivados de C20-*epi*-salinomicina resultantes para vencer la resistencia a fármacos de células cancerosas también es desconocido.

Sumario de la invención

La actividad antineoplásica de compuestos biológicamente activos, que incluyen salinomicina y derivados de la misma, está relacionada estrechamente con el tipo de estirpes celulares usadas en las pruebas. Sin embargo, ninguno de los derivados de salinomicina sintetizados hasta la fecha ha descubierto una aplicación médica práctica, que sea debida, por ejemplo, a la baja bioactividad, baja selectividad de acción, ausencia de estudios detallados sobre los mecanismos de acción biológica o propiedades farmacocinéticas y farmacodinámicas. Esto es por lo que se siguen concentrando esfuerzos obtener derivados de salinomicina con un alto índice terapéutico, que se aplicarían en terapia de oncología.

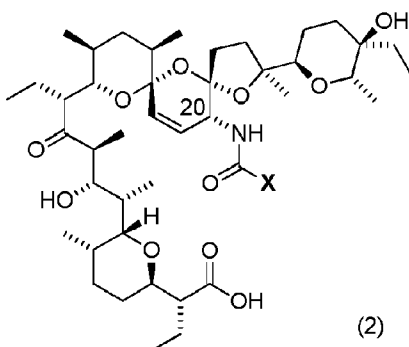
La obtención de nuevos derivados de salinomicina implica varios problemas sintéticos que necesitan ser resueltos. La salinomicina y los productos intermedios requeridos para obtener derivados de la misma pueden ser inestables en el medio de reacción, especialmente en presencia de agentes ácidos y/o básicos. La salinomicina, así como sus derivados, son sensibles a altas temperaturas y, por lo tanto, pueden sufrir degradación irreversible. La presencia de múltiples grupos funcionales presenta un resto adicional para la modificación selectiva de la molécula de salinomicina, que incluye cualquier modificación quimio- y regioselectiva de uno de los tres grupos hidroxilo presentes dentro de su estructura. Otro problema es el exorbitante precio de la salinomicina disponible comercialmente, que impide significativamente el desarrollo de nuevos y eficientes métodos para la modificación química del compuesto.

Por consiguiente, la invención trata las dificultades del estado de la técnica referentes a la preparación de derivados de salinomicina modificados en la posición C-20, mientras que retienen la configuración absoluta *R* en el átomo de carbono C-20 asimétrico (como la salinomicina de partida). Por lo tanto, la materia de la invención fue para obtener nuevos derivados de salinomicina modificados en la posición C-20 usando el método según la invención. Dicho método comprende obtener un producto intermedio como resultado de transformaciones específicas que implican reacciones, reactantes y agentes seleccionados, así como condiciones de reacción que permiten que dichos derivados se obtengan mientras se retiene la configuración absoluta *R* en el carbono asimétrico en la posición C-20 en un proceso relativamente poco complicado y eficiente.

Una materia adicional de la invención era obtener nuevos derivados de la salinomicina ionófora natural, en forma ácida y sales de la misma, modificada en la posición C-20, que se pudieran usar en terapia antineoplásica. También es una materia de la invención proporcionar dichos derivados de salinomicina modificados en el carbono C-20 que tienen una actividad contra células cancerosas con selectividad altamente ventajosa.

Sorprendentemente, se descubrió que los derivados de salinomicina según la invención tienen muy buena actividad y selectividad contra enfermedades neoplásicas, en particular contra cánceres seleccionados del grupo que comprende: melanoma, cáncer de colon, cáncer de mama o leucemia bifenotípica.

La invención se refiere a compuestos que constituyen derivados de C20-*N*-acilsalinomicina con la fórmula general (2):



en donde:

- X indica R, O-R o NH-R;

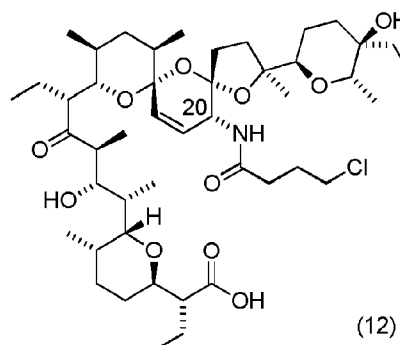
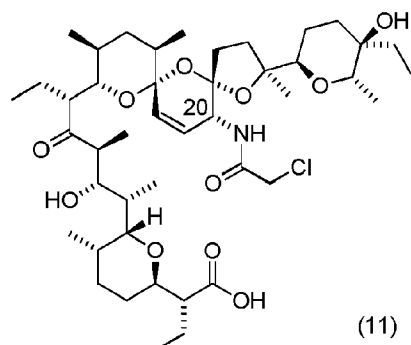
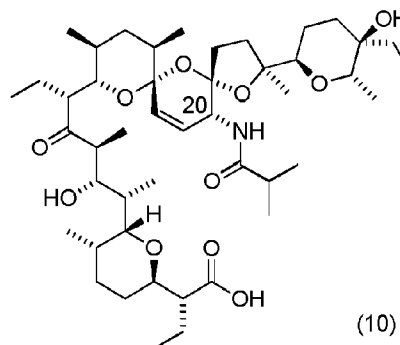
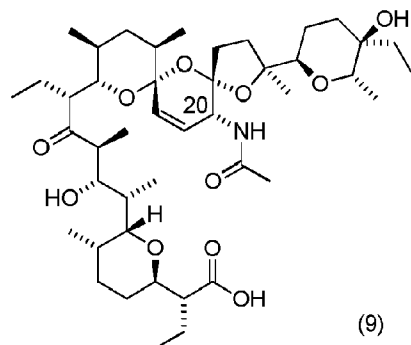
5 - R indica:

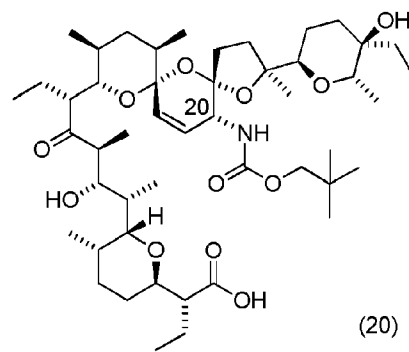
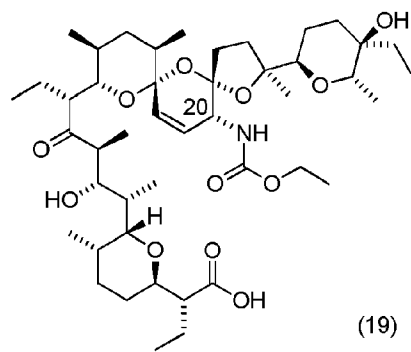
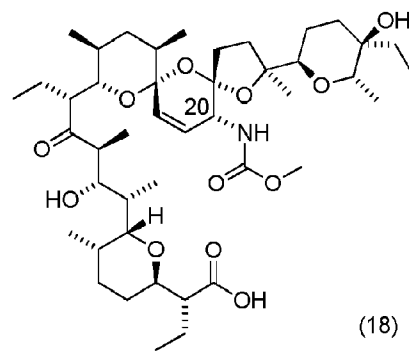
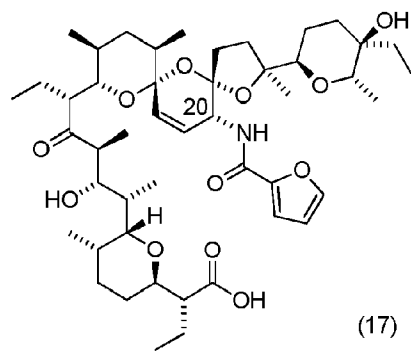
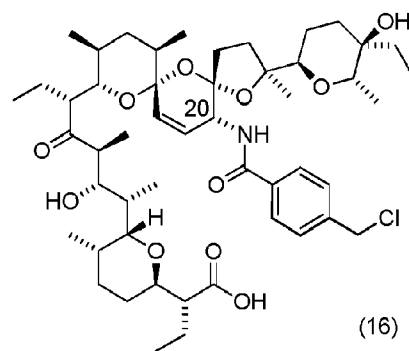
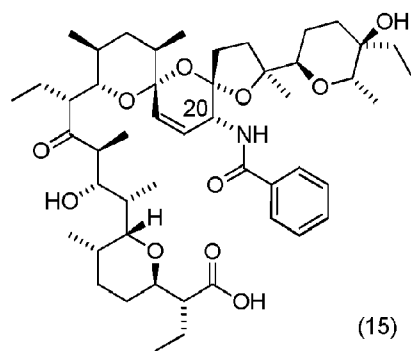
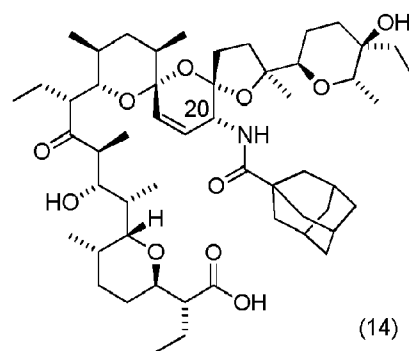
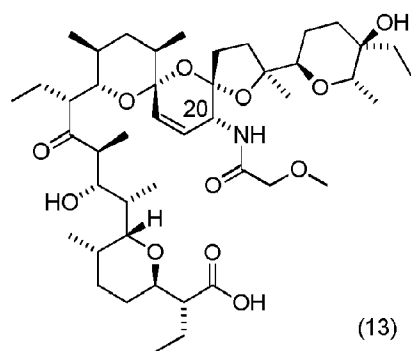
- un grupo alquilo de cadena lineal o cadena ramificada que comprende 1 a 10 carbonos,
- un grupo alquilo de cadena lineal o cadena ramificada que comprende 1 a 10 carbonos que está sustituido en cualquier posición de la cadena de carbonos con 1 a 5 halógenos, que pueden estar presentes en el mismo carbono o en carbonos diferentes,
- 10 - un grupo alquilo de cadena lineal que comprende 2 a 10 carbonos que comprende un resto éter en cualquier posición de la cadena de carbonos,
- un grupo alquilo de cadena lineal que comprende 3 a 10 carbonos que comprende múltiples enlaces, ya sea enlaces dobles o triples, en cualquier posición de la cadena de carbonos,
- 15 - un grupo alquilo monocíclico, dicíclico o tricíclico que comprende 5 a 10 carbonos,
- un grupo arilo aromático, en donde se prefieren aquellos que comprenden un anillo aromático de seis miembros,
- un grupo arilo aromático sustituido con 1 a 3 sustituyentes independientemente seleccionados de grupos alquilo, alcoxi, hidroxilo, nitro y nitrilo, o halógenos,
- 20 - un grupo heteroarilo aromático, en donde 1 o más carbonos están sustituidos con 1 o más heteroátomos de un grupo que comprende átomos de oxígeno, nitrógeno o azufre, o
- un grupo alquil-arilo, en donde el grupo arilo aromático como se ha definido anteriormente está unido a una molécula de salinomicina por una cadena de carbonos que comprende 1 a 5 carbonos (alquilo que comprende 1-5 carbonos);

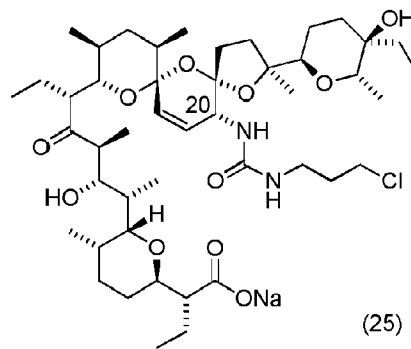
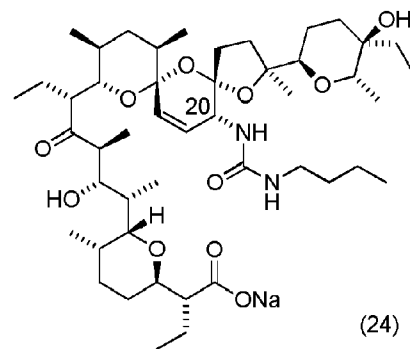
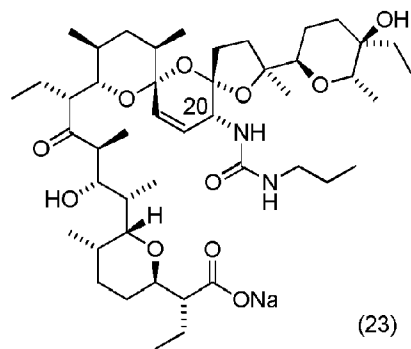
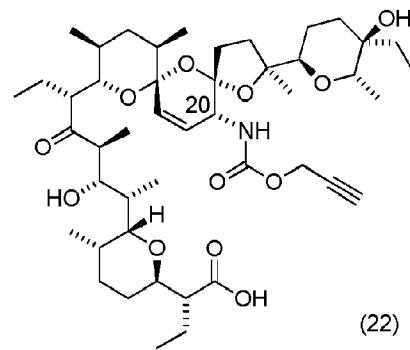
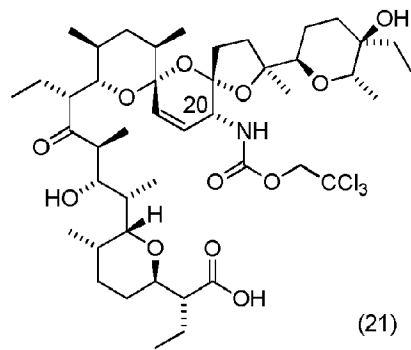
25

así como a sales de los mismos.

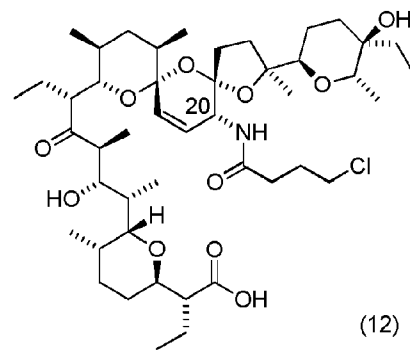
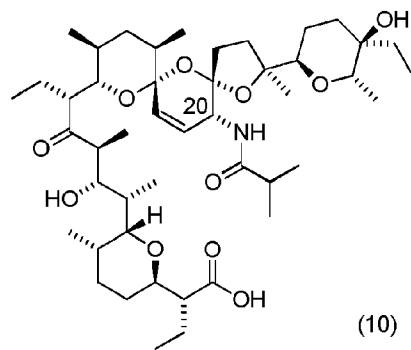
Preferentemente, estos compuestos son derivados con las siguientes fórmulas:

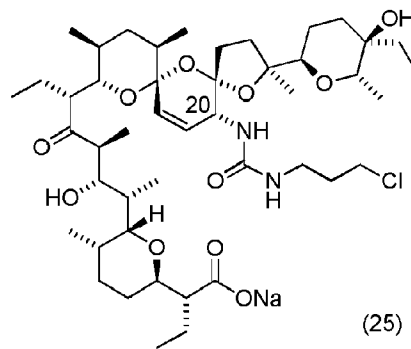
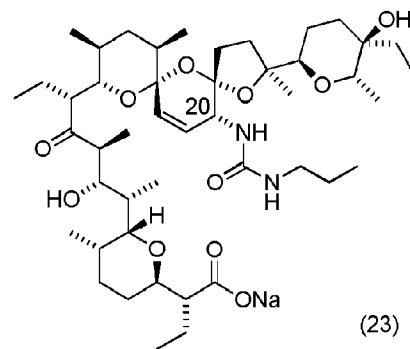
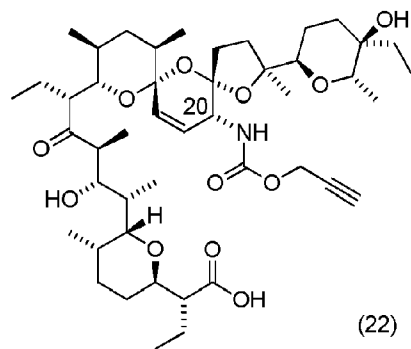
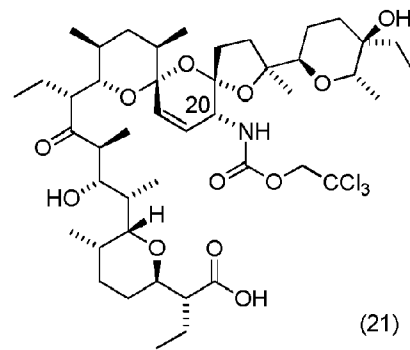
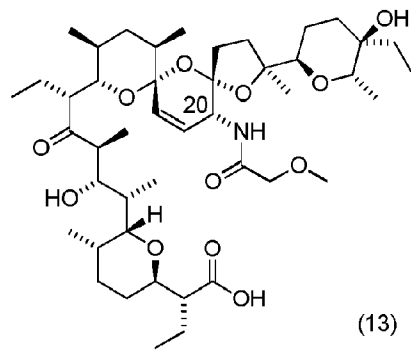






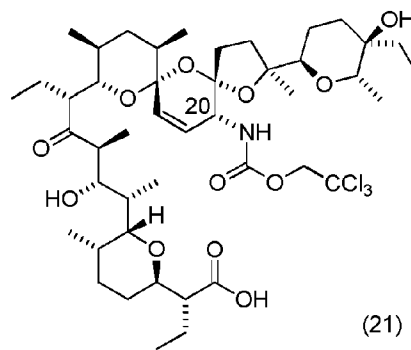
Más preferentemente, los compuestos inventivos tienen las siguientes fórmulas:





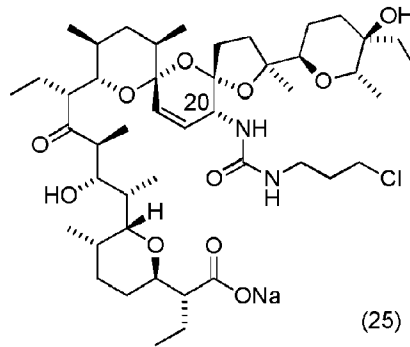
5

Preferentemente, el compuesto tiene la siguiente fórmula:



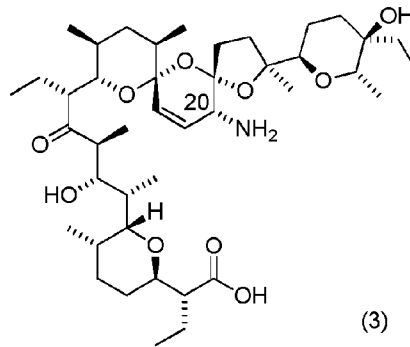
10

También preferentemente, el compuesto tiene la siguiente fórmula:



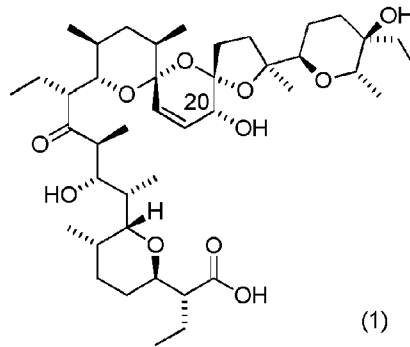
La invención también se refiere a una composición farmacéutica que comprende el compuesto definido anteriormente y al menos un excipiente farmacéuticamente aceptable.

5 Otra materia de la invención es un método de obtención de un producto intermedio para obtener los compuestos definidos anteriormente. El producto intermedio es C20-aminosalinomicina con la siguiente fórmula (3):

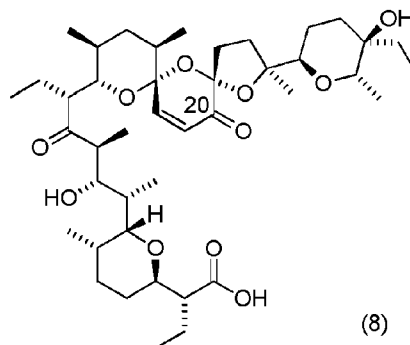


10 o una sal del mismo. El método de obtención de este producto intermedio implica las siguientes etapas:

a) oxidación quimioselectiva del grupo hidroxilo C20 de la salinomicina con la fórmula (1):

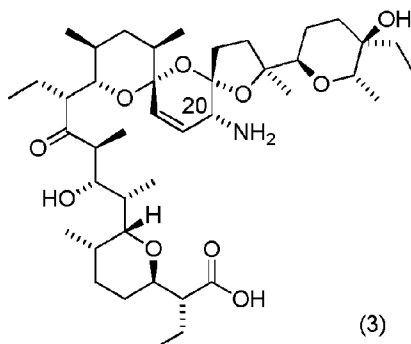


15 b) seguido por aminación reductora estereoselectiva de la C20-oxosalinomicina resultante con la fórmula (8):



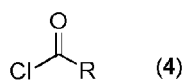
en donde una disolución alcohólica de amoniaco se usa como agente de aminación, dando como resultado la formación *in situ* de un derivado de imina que entonces se reduce con borohidruro de sodio o un derivado de borohidruro de sodio, en particular cianoborohidruro de sodio, en presencia de una sal de cerio.

- 5 Otra materia de la invención es un método de obtención de los compuestos definidos anteriormente en la reacción entre C20-aminosalinomicina con la fórmula (3):

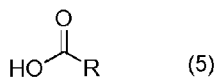


y:

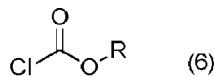
- 10 cloruro de ácido con la fórmula general (4):



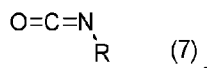
- 15 ácido carboxílico con la fórmula general (5):



- o
cloroformiato con la fórmula general (6):



- 20 o
isocianato con la fórmula general (7):



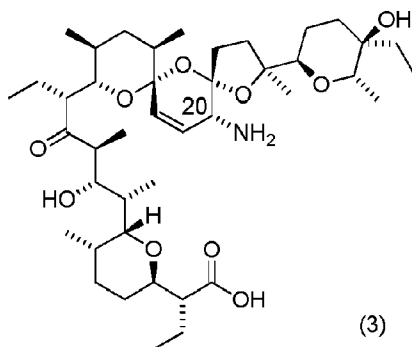
en donde R indica:

- 25 - un grupo alquilo de cadena lineal o cadena ramificada que comprende 1 a 10 carbonos,
 - un grupo alquilo de cadena lineal o cadena ramificada que comprende 1 a 10 carbonos que está sustituido en cualquier posición de la cadena de carbonos con 1 a 5 halógenos, que pueden estar presentes en el mismo carbono o en carbonos diferentes,
 30 - un grupo alquilo de cadena lineal que comprende 2 a 10 carbonos que comprende un resto éter en cualquier posición de la cadena de carbonos,
 - un grupo alquilo de cadena lineal que comprende 3 a 10 carbonos que comprende múltiples enlaces, ya sea enlaces dobles o triples, en cualquier posición de la cadena de carbonos,
 - un grupo alquilo monocíclico, dicíclico o tricíclico que comprende 5 a 10 carbonos,
 35 - un grupo arilo aromático, en donde se prefieren aquellos que comprenden un anillo aromático de seis miembros,
 - un grupo arilo aromático sustituido con 1 a 3 sustituyentes independientemente seleccionados de grupos alquilo, alcoxi, hidroxilo, nitro y nitrilo, o halógenos,
 - un grupo heteroarilo aromático, en donde 1 o más carbonos están sustituidos con 1 o más heteroátomos de un grupo que comprende átomos de oxígeno, nitrógeno o azufre,
 40 - un grupo alquil-arilo, en donde el grupo arilo aromático como se ha definido anteriormente está unido a una molécula de salinomicina por una cadena de carbonos que comprende 1 a 5 carbonos (alquilo que comprende 1-5 carbonos);

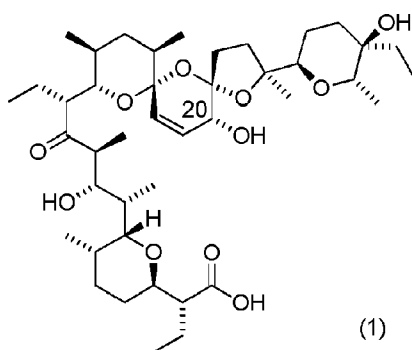
- 45 opcionalmente, que comprende una etapa de transformar el compuesto resultante en forma ácida en una sal del mismo.

Preferentemente, el método de obtención de dichos compuestos comprende lo siguiente:

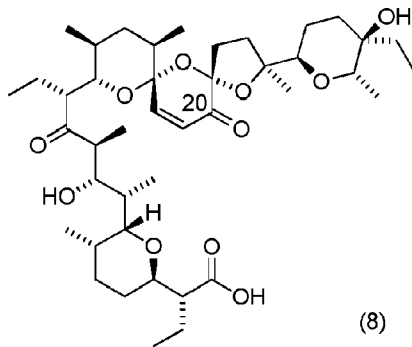
a) en la primera etapa, obtener el producto intermedio con la fórmula (3):



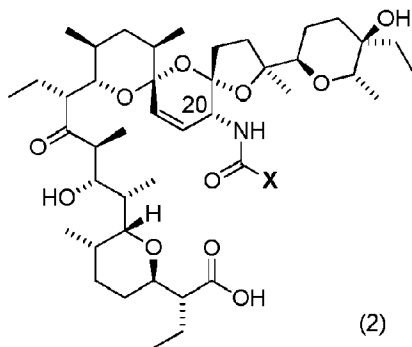
5 por la reacción de oxidación quimioselectiva del grupo C20-hidroxi de salinomicina con la fórmula (1):



10 seguido por aminación reductora estereoselectiva de la C20-oxosalinomicina resultante con la fórmula (8):



b) en la segunda etapa, obtener un compuesto con la fórmula general (2):



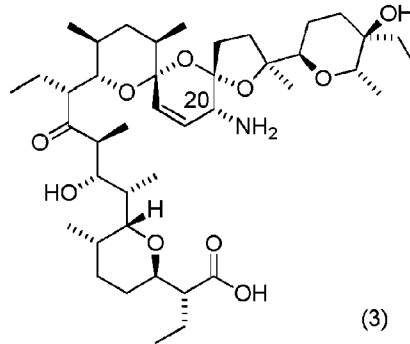
15 en donde:

- X indica R, O-R o NH-R;

20 - R indica:

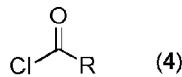
- un grupo alquilo de cadena lineal o cadena ramificada que comprende 1 a 10 carbonos,
- un grupo alquilo de cadena lineal o cadena ramificada que comprende 1 a 10 carbonos que está sustituido en cualquier posición de la cadena de carbonos con 1 a 5 halógenos, que pueden estar presentes en el mismo carbono o en carbonos diferentes,
- un grupo alquilo de cadena lineal que comprende 2 a 10 carbonos que comprende un resto éter en cualquier posición de la cadena de carbonos,
- un grupo alquilo de cadena lineal que comprende 3 a 10 carbonos que comprende múltiples enlaces, ya sea enlaces dobles o triples, en cualquier posición de la cadena de carbonos,
- un grupo alquilo monocíclico, dicíclico o tricíclico que comprende 5 a 10 carbonos,
- un grupo arilo aromático, en donde se prefieren aquellos que comprenden un anillo aromático de seis miembros,
- un grupo arilo aromático sustituido con 1 a 3 sustituyentes independientemente seleccionados de grupos alquilo, alcoxi, hidroxilo, nitro y nitrilo, o halógenos,
- un grupo heteroarilo aromático, en donde 1 o más carbonos están sustituidos con 1 o más heteroátomos de un grupo que comprende átomos de oxígeno, nitrógeno o azufre, o
- un grupo alquil-arilo, en donde el grupo arilo aromático como se ha definido anteriormente está unido a una molécula de salinomicina por una cadena de carbonos que comprende 1 a 5 carbonos (alquilo que comprende 1-5 carbonos),

haciendo reaccionar C20-aminosalinomicina con la fórmula (3):

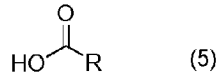


y:

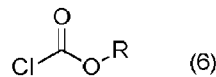
cloruro de ácido con la fórmula general (4):



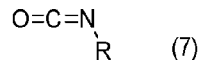
o
ácido carboxílico con la fórmula general (5):



o
cloroformiato con la fórmula general (6):



o
isocianato con la fórmula general (7):



en donde R es como se indica anteriormente;
opcionalmente, comprende una etapa de transformar el compuesto resultante en forma ácida en una sal del mismo.

La invención también se refiere al compuesto definido anteriormente para su uso como un medicamento. Preferentemente, el compuesto es para su uso como un agente antineoplásico. Más preferentemente, el compuesto definido anteriormente es para su uso en el tratamiento de afecciones seleccionadas del grupo que comprende leucemia, que incluye sin limitación leucemia mieloide aguda, leucemia mieloide crónica, leucemia linfoblástica aguda, mieloma múltiple; cáncer de pulmón de células no pequeñas, que incluye sin limitación carcinoma de pulmón de células epiteliales, adenocarcinoma de pulmón, cáncer de pulmón de células escamosas humanas; cáncer de intestino grueso (colon), que incluye sin limitación adenocarcinoma de intestino grueso, cáncer de colon de células epiteliales; tumor del sistema nervioso central, que incluye sin limitación tumores cerebrales, tales como glioma; melanoma, que incluye sin limitación melanoma maligno, melanoma epitelial, melanoma no epitelial; cáncer de ovario, que incluye sin limitación cáncer de ovario epitelial, cistadenocarcinoma de ovario; cáncer de riñón, que incluye sin limitación carcinoma de células renales; cáncer de próstata, que incluye sin limitación adenocarcinoma de próstata; cáncer de mama, que incluye sin limitación adenocarcinoma de mama, cáncer de mama inflamatorio, adenocarcinoma metastásico; cáncer de estómago; cáncer pancreático; sarcoma y cáncer del cuerpo del útero, así como su variante resistente a fármacos; cáncer de cuello uterino; cáncer de vejiga.

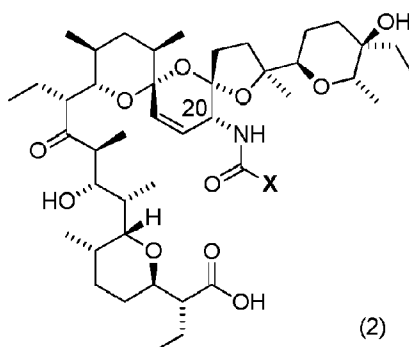
Más preferentemente, el compuesto es para su uso en el tratamiento de afecciones seleccionadas del grupo de: melanoma, cáncer de colon, cáncer de mama y leucemia bifenotípica.

20 Descripción detallada de la invención

Se desvelan realizaciones preferidas de la invención en la siguiente descripción detallada y en las reivindicaciones adjuntas. Diversas realizaciones de la invención se definen en el presente documento en mayor detalle. Cualquiera de los aspectos así definidos se puede combinar con cualquier otro aspecto o aspectos, a menos que se establezca explícitamente lo contrario. En particular, cualquiera de las características indicadas como ventajosas o preferibles se puede combinar con cualquier otra característica o características indicadas como ventajosas o preferibles.

Referencia en toda la descripción a una "realización" o un "aspecto" de la invención se debe entender que un rasgo, estructura o característica particular descrita a propósito de dicha realización está comprendida en al menos una realización de la presente invención. Por lo tanto, casos de los términos "realización" o "aspecto" o "variante" en diversos lugares de esta descripción pueden o pueden no referirse a la misma realización. Además, rasgos, estructuras o características particulares se pueden combinar en cualquier modo adecuado, como sería evidente por un experto en la técnica de la presente divulgación, en una o más realizaciones. Además, aunque algunos aspectos de la invención descritos en el presente documento incluyen algunos rasgos, que no se diferencian de los incluidos en otras realizaciones, combinaciones de características de diferentes realizaciones pretenden estar dentro del alcance de la invención y forman diferentes realizaciones, como sería evidente por los expertos en la técnica. Cualquiera de las realizaciones reivindicadas se puede usar en cualquier combinación.

En general, la invención se refiere a compuestos que constituyen derivados de C20-*N*-acilo (*N*-amida, *N*-carbamato (uretano) y urea) de salinomicina con la fórmula general (2):



en donde:

- 45 - X indica R, O-R o NH-R, respectivamente;
- R indica:
 - 50 - un grupo alquilo de cadena lineal o cadena ramificada que comprende 1 a 10 carbonos,
 - un grupo alquilo de cadena lineal o cadena ramificada que comprende 1 a 10 carbonos que está sustituido en cualquier posición de la cadena de carbonos con 1 a 5 halógenos, que pueden estar presentes en el mismo carbono o en carbonos diferentes,
 - un grupo alquilo de cadena lineal que comprende 2 a 10 carbonos que comprende un resto éter en

- cualquier posición de la cadena de carbonos,
- un grupo alquilo de cadena lineal que comprende 3 a 10 carbonos que comprende múltiples enlaces, ya sea enlaces dobles o triples, en cualquier posición de la cadena de carbonos,
 - un grupo alquilo monocíclico, dicíclico o tricíclico que comprende 5 a 10 carbonos,
 - 5 - un grupo arilo aromático, en donde se prefieren aquellos que comprenden un anillo aromático de seis miembros,
 - un grupo arilo aromático sustituido con 1 a 3 sustituyentes independientemente seleccionados de grupos alquilo, alcoxi, hidroxilo, nitro y nitrilo, o halógenos,
 - un grupo heteroarilo aromático, en donde 1 o más carbonos están sustituidos con 1 o más heteroátomos de un grupo que comprende átomos de oxígeno, nitrógeno o azufre,
 - 10 - un grupo alquil-arilo, en donde el grupo arilo aromático como se ha definido anteriormente está unido a una molécula de salinomicina por una cadena de carbonos que comprende 1 a 5 carbonos (alquilo que comprende 1-5 carbonos);
- 15 y sales de los mismos.

Los compuestos según la invención tienen una configuración absoluta R en el carbono C-20 asimétrico. La configuración absoluta de los novedosos derivados en el carbono C-20 asimétrico es la misma que la configuración absoluta en el carbono C-20 asimétrico de la salinomicina de partida. Por lo tanto, la preparación de los novedosos derivados de salinomicina según la invención proporciona una retención de la configuración en el carbono C-20 asimétrico de salinomicina.

20

El resto X en los compuestos según la invención puede ser R, O-R o NH-R. Preferentemente, X indica R. Entonces los derivados de salinomicina se pueden denominar derivados de *N*-amida. También preferentemente, R indica O-R. Los derivados de salinomicina se pueden denominar entonces derivados de *N*-carbamato (uretano). También preferentemente, R puede indicar NH-R. Los derivados de salinomicina se pueden denominar entonces derivados de urea. Para todos los tipos de los novedosos derivados de salinomicina citados en el presente documento, el sustituyente R es como se define con detalle a continuación, sin limitaciones. Será evidente para un experto en la técnica que otros sustituyentes R similares a los citados a continuación, incluso a los citados como grupos específicos, también están dentro del alcance de la invención.

25

30

En una realización preferida de la invención, el sustituyente R en la fórmula general (2) que define los compuestos según la invención es un grupo alquilo de cadena lineal o cadena ramificada que comprende 1 a 10 carbonos. Preferentemente, el sustituyente R es un grupo alquilo de cadena lineal. También preferentemente, R es un grupo alquilo de cadena ramificada. Preferentemente, el grupo alquilo comprende 1 a 10 carbonos, más preferentemente 1 a 5 carbonos, también más preferentemente 1 a 3 carbonos. Preferentemente, R es un residuo metilo, etilo, *n*-butilo, isopropilo, neopentilo.

35

En otra realización preferida de la invención, el sustituyente R en la fórmula general (2) que define los compuestos según la invención es un grupo alquilo de cadena lineal o cadena ramificada que comprende 1 a 10 carbonos que está sustituido en cualquier posición de la cadena de carbonos con 1 a 5 halógenos, que pueden estar presentes en el mismo carbono o en carbonos diferentes. "Halógeno" indica un átomo de flúor (F), cloro (Cl), bromo (Br) o yodo (I), en particular un cloro. Preferentemente, el sustituyente R es un grupo alquilo de cadena lineal. También preferentemente, R es un grupo alquilo de cadena ramificada. Preferentemente, el grupo alquilo comprende 1 a 10 carbonos, más preferentemente 1 a 5 carbonos, también más preferentemente 1 a 3 carbonos. Preferentemente, R es un monohaluro de alquilo. También preferentemente, R es un dihaluro de alquilo o un trihaluro de alquilo. Preferentemente, R es un resto clorometilo, 3-cloropropilo, 2,2,2-tricloroetilo.

40

45

En otra realización preferida, el sustituyente R en la fórmula general (2) que define los compuestos según la invención es un grupo alquilo de cadena lineal que comprende 2 a 10 carbonos que comprende un resto éter en cualquier posición de la cadena de carbonos (resto éter, -O-). Preferentemente, el sustituyente R es un grupo alquilo de cadena lineal. También preferentemente, R es un grupo alquilo de cadena ramificada. Preferentemente, el grupo alquilo comprende 2 a 10 carbonos, más preferentemente 2 a 5 carbonos, también más preferentemente 2 a 3 carbonos. El grupo alquilo puede contener 1 a 3 restos éter, preferentemente 2, e incluso más preferentemente un grupo -O-. Preferentemente, R es un resto de dimetil éter.

50

55

En variantes preferibles de la invención, también puede haber R grupos que constituyen un grupo alquilo como se ha definido anteriormente, que comprende tanto uno o más sustituyentes de halógeno como un resto éter. "Halógeno" indica un átomo de flúor (F), cloro (Cl), bromo (Br) o yodo (I), en particular un cloro. Preferentemente, R es un alquilo sustituido con un halógeno y que comprende un resto éter.

60

En otra realización preferida, el sustituyente R en la fórmula general (2) que define los compuestos según la invención es un grupo alquilo de cadena lineal que comprende 3 a 10 carbonos que comprende múltiples enlaces, ya sea enlaces dobles o triples, en cualquier posición de la cadena de carbonos. Preferentemente, el grupo alquilo comprende 3 a 10 carbonos, más preferentemente 3 a 5 carbonos, también más preferentemente 3 carbonos. Preferentemente, el grupo R es un resto propargilo (prop-2-inilo).

65

En otra realización preferida de la invención, el sustituyente R en la fórmula general (2) que define los compuestos según la invención es un grupo alquilo monocíclico, dicíclico o tricíclico que comprende 5 a 10 carbonos. Preferentemente, el grupo alquilo cíclico se puede sustituir con un halógeno. "Halógeno" indica un átomo de flúor (F), cloro (Cl), bromo (Br) o yodo (I), en particular un cloro. Preferentemente, R es adamantilo. R también puede ser un sustituyente de ciclopentilo o ciclohexilo.

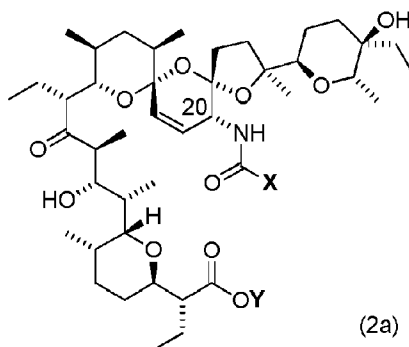
En otra realización preferida de la invención, el sustituyente R en la fórmula general (2) que define los compuestos según la invención es un grupo arilo aromático. Preferentemente, R es un anillo aromático de seis miembros. Preferentemente, R es un sustituyente de fenilo.

En otra realización preferida, el sustituyente R en la fórmula general (2) que define los compuestos según la invención es un grupo arilo aromático sustituido con 1 a 3 sustituyentes independientemente seleccionados de grupos alquilo, alcoxi, hidroxilo, nitro y nitrilo, o halógenos. "Halógeno" indica un átomo de flúor (F), cloro (Cl), bromo (Br) o yodo (I), en particular un cloro. Preferentemente, el grupo arilo comprende dos de los sustituyentes mencionados anteriormente. Estos pueden ser dos halógenos. También pueden ser dos grupos nitro. También preferentemente, el grupo arilo comprende un alquilo sustituido con uno, dos o tres halógenos. Dichos grupos pueden estar en la posición *orto*, *meta* o *para* del grupo arilo. Preferentemente, el sustituyente R es un sustituyente de *para*-clorometilfenilo.

En otra realización preferida, el sustituyente R en la fórmula general (2) que define los compuestos según la invención es un grupo heteroarilo aromático, en donde 1 o más carbonos están sustituidos con 1 o más heteroátomos de un grupo que comprende átomos de oxígeno, nitrógeno o azufre. Preferentemente, el heteroátomo es un átomo de oxígeno. Preferentemente, el heteroátomo es un átomo de azufre. Preferentemente, el heteroátomo es un átomo de nitrógeno. Preferentemente, el sustituyente R es un residuo de 1-furilo.

En otra realización preferida, el sustituyente R en la fórmula general (2) que define los compuestos según la invención es un grupo alquil-arilo, en donde el grupo arilo aromático como se ha definido anteriormente está unido a una molécula de salinomicina por una cadena de carbonos que comprende 1 a 5 carbonos. Preferentemente, la cadena de carbonos es lineal o ramificada.

Preferentemente, los compuestos según la invención también pueden estar en forma de sales. La fórmula general de las sales de derivados de salinomicina según la invención se ilustra por la fórmula general (2a):



Sales preferidas de los compuestos según la invención son sal de sodio, potasio o litio. Y en la fórmula general (2a) es entonces respectivamente: Na, K, Li. Preferentemente, Y indica Na. El alcance de la invención también incluye sales con metales divalentes, tales como, por ejemplo, magnesio.

Un experto en la técnica sabrá cómo para seleccionar y ajustar las condiciones para obtener un derivado ácido o una sal deseada del mismo. La extracción de salinomicina y sus derivados con una disolución acuosa de ácido sulfúrico (VI) o ácido clorhídrico produce la forma ácida (Y=H). La extracción de salinomicina y sus derivados con una disolución acuosa de una sal inorgánica adecuada, a su vez, da compuestos en forma de sales (Y=Na, K, Li). Preferentemente, para obtener la sal de sodio, potasio o litio del compuesto según la invención, se usa extracción con carbonato de sodio, potasio o litio.

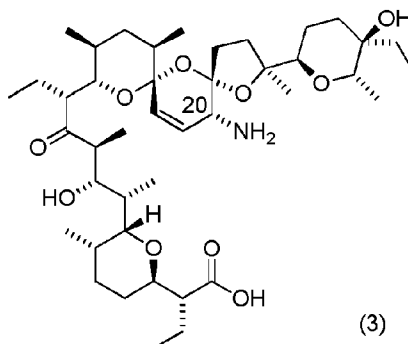
La invención también se refiere a una composición que comprende el compuesto según la invención y al menos un excipiente farmacéuticamente aceptable. Excipientes farmacéuticamente aceptables se conocen en la técnica y se ejemplifican en Remington: The Science and Practice of Pharmacy 1995, ed. por E. W. Martin, Mack Publishing Company, 19.^a edición, Easton, Pa. Preferentemente, la composición comprende un compuesto según la invención y al menos un excipiente farmacéuticamente aceptable.

La invención también se refiere a un método de obtención de compuestos novedosos según la invención, derivados

de salinomicina modificados en C-20, haciendo reaccionar C20-aminosalinomicina (3) y compuestos con las fórmulas generales (4), (5), (6) o (7) según las reivindicaciones. Para una aclaración adicional, este método se explicará para dos aspectos preferidos:

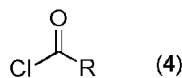
- 5 - donde los reactantes son compuestos con la fórmula general (4), (5) o (6),
 - donde el reactante es un compuesto con la fórmula general (7).

Por lo tanto, una realización preferida de la invención es un método de obtención de compuestos según la invención, tales como: derivados de salinomicina de C20-*N*-amida y C20-*N*-carbamato (uretano) con la fórmula general (2),
 10 donde X indica R u O-R, respectivamente, y R es, como se ha definido anteriormente, en la reacción entre C20-aminosalinomicina con la fórmula (3):



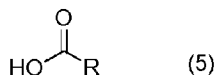
15 y

cloruro de ácido con la fórmula general (4):



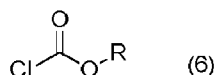
20 o

ácido carboxílico con la fórmula general (5):



25 o

cloroformiato con la fórmula general (6):



30 en donde R es como se ha definido anteriormente.

El método comprende opcionalmente una etapa de transformar el compuesto resultante en forma ácida en una sal del mismo. Un experto en la técnica sabrá cómo seleccionar las condiciones de reacción para la conversión de un derivado de salinomicina en forma ácida en una sal del mismo.

35 El orden correcto de adición de los reactantes individuales es esencial para las reacciones satisfactorias para obtener derivados de salinomicina de C20-*N*-amida y C20-*N*-carbamato (uretano) con la fórmula general (2), donde X indica R u O-R, respectivamente, y R es como se ha definido anteriormente. Debido a la elevada susceptibilidad de la salinomicina a cloruros de ácido con la fórmula general (4), los cloroformiatos con la fórmula general (6) y el cloruro de hidrógeno resultante de la reacción, tanto el cloruro de ácido con la fórmula general (4), como el cloroformiato con la fórmula general (6), se mezclan primero con 4-dimetilaminopiridina (DMAP) y una amina alifática adecuada, y finalmente se añade C20-aminosalinomicina con la fórmula (3) a la mezcla según el procedimiento descrito con detalle a continuación.

45 Cuando se usan cloruros de ácido con la fórmula general (4) o cloroformiatos con la fórmula general (6), la reacción se lleva a cabo en disolvente cloroalifático o aromático apolar o en tetrahidrofurano, preferentemente en cloroformo, cloruro de metileno, tolueno, benceno, tetrahidrofurano, lo más preferentemente en cloroformo o cloruro de metileno, o en un disolvente polar aprótico, tal como nitrilo simple, preferentemente en acetonitrilo, o en una amida terciaria simple, preferentemente en *N,N*-dimetilformamida, en presencia de 4-dimetilaminopiridina (DMAP) que actúa de

activador de la reacción y una amina alifática. También preferentemente, la reacción se realiza en condiciones anhidras. La amina alifática usada es trietilamina, tripropilamina, tributilamina, diisopropilamina, triisopropilamina, triisobutilamina, *N,N*-diisopropiletilamina, lo más preferentemente trietilamina. Las aminas alifáticas complejan el subproducto resultante de la reacción, concretamente el cloruro de hidrógeno. La unión de cloruro de hidrógeno por la amina alifática previene reacciones secundarias no deseadas y previene la descomposición irreversible del compuesto con la fórmula (3).

En una etapa inicial de la reacción, una amina alifática, preferentemente trietilamina, seguido por cloruro de ácido con la fórmula general (4) o cloroformiato con la fórmula general (6), se añade a 0 °C a una disolución de 4-dimetilaminopiridina (DMAP) en un disolvente cloroalifático o aromático apolar, o en tetrahidrofurano, preferentemente en cloroformo, cloruro de metileno, tolueno, benceno, tetrahidrofurano, lo más preferentemente en cloroformo o cloruro de metileno, o en un disolvente aprótico polar, tal como nitrilo simple, preferentemente en acetonitrilo, o en una amida terciaria simple, preferentemente en *N,N*-dimetilformamida. Esto se mezcla a temperatura reducida (<5 °C) durante 30 minutos, seguido de la adición de C20-aminosalinomicina con la fórmula (3) previamente disuelta en una cantidad mínima de disolvente cloroalifático o aromático apolar o en tetrahidrofurano, preferentemente en cloroformo, cloruro de metileno, tolueno, benceno, tetrahidrofurano, lo más preferentemente en cloroformo o cloruro de metileno, o en una cantidad mínima del disolvente polar aprótico, tal como nitrilo simple, preferentemente en acetonitrilo, o en una amida terciaria simple, preferentemente en *N,N*-dimetilformamida. Dado el riesgo de reacciones secundarias y la posibilidad de descomposición irreversible del compuesto con la fórmula (3), la reacción se debe llevar a cabo a una temperatura reducida (<5 °C) durante otros 30 minutos. El enfriamiento del sistema de reacción se interrumpe entonces, la mezcla de reacción se deja calentar hasta temperatura ambiente y la mezcla continúa hasta que la reacción finaliza, siendo la completitud de la reacción monitorizada preferentemente por cromatografía en capa fina CCF.

La mezcla de reacción se lava entonces con una disolución acuosa de carbonato sódico (0,1 M). La fase orgánica se evapora a presión reducida, y el residuo se purifica por cromatografía en columna, preferentemente usando un cromatógrafo CombiFlash® con un detector ELS, usando una columna rellena de sílice y una mezcla de disolventes orgánicos, preferentemente una mezcla de acetato de etilo:n-hexano con un gradiente creciente de concentración de acetato de etilo desde el 0 % hasta el 100 %. Las fracciones combinadas que contienen la C20-N-amida o C20-N-carbamato (uretano) como el producto de reacción se evaporan hasta que se secan a presión reducida, el residuo se disuelve en un disolvente cloroalifático apolar, preferentemente cloruro de metileno o cloroformo, seguido por extracción con una disolución acuosa de una sal adecuada (0,1 M), o con una disolución acuosa de ácido sulfúrico (VI) o ácido clorhídrico (pH = 1,0) y finalmente con agua. Las fases orgánicas combinadas se evaporan hasta que se secan a presión reducida, y entonces se evaporan repetidamente con n-pentano.

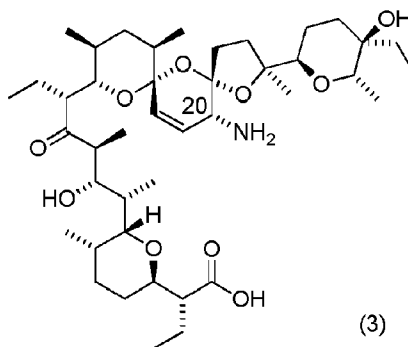
Cuando se usan los ácidos carboxílicos con la fórmula general (5), es esencial para el éxito de la reacción que se preactiven apropiadamente con agentes de acoplamiento/activadores adecuados según el procedimiento descrito con detalle a continuación. La reacción se lleva a cabo en disolvente cloroalifático o aromático apolar o en tetrahidrofurano, preferentemente en cloroformo, cloruro de metileno, tolueno, benceno, tetrahidrofurano, lo más preferentemente en cloroformo o cloruro de metileno, o en un disolvente polar aprótico, tal como nitrilo simple, preferentemente en acetonitrilo, o en una amida terciaria simple, preferentemente en *N,N*-dimetilformamida. También preferentemente, la reacción se realiza en condiciones anhidras y en presencia de un agente de acoplamiento. El agente de acoplamiento usado es *N,N'*-diciclohexilcarbodiimida (DCC), *N,N'*-diisopropilcarbodiimida (DIC), 1,1'-carbonyldiimidazol (CDI), clorhidrato de 1-etil-3-(3'-dimetilaminopropil)carbodiimida (EDC), hexafluorofosfato de 2-(7-aza-1*H*-benzotriazol-1-il)-1,1,3,3-tetrametiluronio (HATU), en donde, si se usa *N,N'*-diciclohexilcarbodiimida (DCC), es preferible usar también ácido *p*-toluenosulfónico, *N*-hidroxisuccinimida, 3-hidroxi-4-ceto-1,2,3-benzotriazina, *N*-hidroxibenzotriazol (HOBt), 4-dimetilaminopiridina (DMAP) o 4-pirrolidinopiridina.

En la etapa inicial de la reacción, un agente de acoplamiento se añade a una disolución de ácido carboxílico con la fórmula general (5) en disolvente cloroalifático o aromático apolar o en tetrahidrofurano, preferentemente en cloroformo, cloruro de metileno, tolueno, benceno, tetrahidrofurano, lo más preferentemente en cloroformo o cloruro de metileno, o en un disolvente polar aprótico, tal como nitrilo simple, preferentemente en acetonitrilo, o en una amida terciaria simple, preferentemente en *N,N*-dimetilformamida, a temperatura ambiente. Esto se mezcla a temperatura ambiente durante 30 minutos, seguido de la adición de C20-aminosalinomicina con la fórmula (3) previamente disuelta en una cantidad mínima de disolvente cloroalifático o aromático apolar o en tetrahidrofurano, preferentemente en cloroformo, cloruro de metileno, tolueno, benceno, tetrahidrofurano, lo más preferentemente en cloroformo o cloruro de metileno, o en una cantidad mínima del disolvente polar aprótico, tal como nitrilo simple, preferentemente en acetonitrilo, o en una amida terciaria simple, preferentemente en *N,N*-dimetilformamida. La mezcla continúa a temperatura ambiente hasta que la reacción finaliza, y la completitud de la reacción de los reactantes se monitoriza preferentemente por cromatografía en capa fina CCF.

La mezcla de reacción se evapora entonces a presión reducida, y el residuo se purifica por cromatografía en columna, preferentemente usando un cromatógrafo CombiFlash® con un detector ELS, usando una columna rellena de sílice y una mezcla de disolventes orgánicos, preferentemente una mezcla de acetato de etilo:n-hexano con un gradiente creciente de concentración de acetato de etilo desde el 0 % hasta el 100 %. Las fracciones combinadas que contienen el producto de reacción de C20-N-amida se evaporan hasta que se secan a presión reducida, el

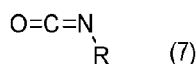
residuo se disuelve en un disolvente cloroalifático apolar, preferentemente cloruro de metileno o cloroformo, seguido por extracción con una disolución acuosa de una sal adecuada (0,1 M), o con una disolución acuosa de ácido sulfúrico (VI) o ácido clorhídrico (pH = 1,0) y finalmente con agua. Las fases orgánicas combinadas se evaporan hasta que se secan a presión reducida, y entonces se evaporan repetidamente con n-pentano.

5 En otra realización preferida mencionada, la invención se refiere a un método de obtención de novedosos derivados de salinomicina de C20-urea con la fórmula general (2), donde X indica NH-R, y R es como se ha definido anteriormente, en una reacción entre C20-aminosalinomicina con la fórmula (3):



10

e
isocianato con la fórmula general (7):



15

en donde R es como se ha definido anteriormente.

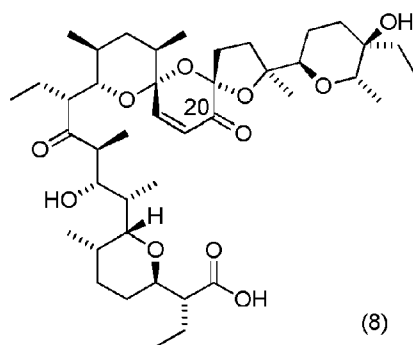
20 El método comprende opcionalmente una etapa de transformar el compuesto resultante en forma ácida en una sal del mismo. Un experto en la técnica sabrá cómo seleccionar las condiciones de reacción para la conversión de un derivado de salinomicina en forma ácida en una sal del mismo.

25 La reacción con el isocianato con la fórmula general (7) se lleva a cabo en disolvente cloroalifático o aromático apolar o en tetrahidrofurano, preferentemente en cloroformo, cloruro de metileno, tolueno, benceno, tetrahidrofurano, lo más preferentemente en cloroformo o cloruro de metileno, o en un disolvente polar aprótico, tal como nitrilo simple, preferentemente en acetonitrilo, o en una amida terciaria simple, preferentemente en *N,N*-dimetilformamida, a temperatura ambiente. También preferentemente, la reacción se realiza en condiciones anhidras.

30 Una vez la reacción finaliza, la completitud de la reacción se monitoriza preferentemente usando cromatografía en capa fina CCF, la mezcla de reacción se lava con una disolución acuosa de bicarbonato sódico (0,1 M). La fase orgánica se evapora a presión reducida, y el residuo se purifica por cromatografía en columna, preferentemente usando un cromatógrafo CombiFlash® con un detector ELS, usando una columna rellena de sílice y una mezcla de disolventes orgánicos, preferentemente una mezcla de acetato de etilo:n-hexano con un gradiente creciente de concentración de acetato de etilo desde el 0 % hasta el 100 %. Las fracciones combinadas que contienen el
35 producto de reacción de C20-urea se evaporan hasta que se secan a presión reducida, el residuo se disuelve en un disolvente cloroalifático apolar, preferentemente cloruro de metileno o cloroformo, seguido por extracción con una disolución acuosa de una sal adecuada (0,1 M), o con una disolución acuosa de ácido sulfúrico (VI) o ácido clorhídrico (pH = 1,0) y finalmente con agua. Las fases orgánicas combinadas se evaporan hasta que se secan a presión reducida, y entonces se evaporan repetidamente con n-pentano.

40

45 La invención también se refiere a un método de obtención de un producto intermedio para el método de obtención de derivados de salinomicina modificados en el carbono C-20. El procedimiento de tres etapas para la síntesis del compuesto intermedio con la fórmula (3) empieza con la oxidación quimioselectiva del grupo C20-hidroxi de salinomicina con la fórmula (1) que tiene lugar en un disolvente cloroalifático apolar, preferentemente en cloruro de metileno o cloroformo, a temperatura ambiente usando óxido de manganeso (IV) activado [según: documento de patente EP3191493 o Mai et al., Nature Chemistry, 9, 2017, 1025-1033], seguido por una aminación reductora de dos etapas de la C20-oxosalinomicina resultante [siguiendo el procedimiento general descrito en: documento de patente EP3191493 o Mai et al., Nature Chemistry, 9, 2017, 1025-1033] con la fórmula (8):



La conversión del compuesto con la fórmula (8) en el compuesto con la fórmula (3) como se ilustra ampliamente en el estado de la técnica se ha potenciado y modificado para los fines de la invención. El procedimiento modificado para la preparación del compuesto con la fórmula (8) comprende el uso de una disolución alcohólica de amoniaco a una concentración adecuada, así como aumentar el tiempo de activación (formación de imina) hasta horas. En el procedimiento modificado, tampoco es necesario usar ácido acético en la etapa de formación de imina ni tratar la mezcla de postreacción por extracción líquido-líquido, que simplifica y acelera significativamente todo el procedimiento de síntesis.

En la primera etapa de aminación reductora, reacciona amoniaco (7,0 N en metanol) con C20-oxosalinomicina con la fórmula (8) disuelta en un disolvente alcohólico, preferentemente metanol o etanol, a temperatura ambiente para formar imina *in situ*. Según la reducción de Luche, en la segunda etapa de aminación reductora, el producto de reacción intermedio (imina) se reduce lentamente añadiendo borohidruro de sodio o un derivado de borohidruro de sodio, en particular cianoborohidruro de sodio, en presencia de sales de cerio, preferentemente cloruro de cerio (III), para obtener C20-aminosalinomicina con la fórmula (3).

La invención también se refiere a los novedosos derivados de salinomicina según la invención para su uso como un medicamento. En una realización preferida, los compuestos según la invención están previstos para su uso como agentes antineoplásicos.

El compuesto según la invención es adecuado para su uso en afecciones seleccionadas sin limitaciones del grupo que comprende leucemia, que incluye sin limitación leucemia mieloide aguda, leucemia mieloide crónica, leucemia linfoblástica aguda, leucemia bifenotípica, mieloma múltiple; cáncer de pulmón de células no pequeñas, que incluye sin limitación carcinoma de pulmón de células epiteliales, adenocarcinoma de pulmón, cáncer de pulmón de células escamosas humanas; cáncer de intestino grueso (colon), que incluye sin limitación adenocarcinoma de intestino grueso, cáncer de colon de células epiteliales; tumor del sistema nervioso central, que incluye sin limitación tumores cerebrales, tales como glioma; melanoma, que incluye sin limitación melanoma maligno, melanoma epitelial, melanoma no epitelial; cáncer de ovario, que incluye sin limitación cáncer de ovario epitelial, cistadenocarcinoma de ovario; cáncer de riñón, que incluye sin limitación carcinoma de células renales; cáncer de próstata, que incluye sin limitación adenocarcinoma de próstata; cáncer de mama, que incluye sin limitación adenocarcinoma de mama, cáncer de mama inflamatorio, adenocarcinoma metastásico; cáncer de estómago; cáncer pancreático; sarcoma y cáncer del cuerpo del útero, así como su variante resistente a fármacos; cáncer de cuello uterino; cáncer de vejiga.

En esta descripción, los términos "cáncer", "tumor", "neoplasia" y "carcinoma" se usan indistintamente.

Estudios preliminares indican que los compuestos según la invención tienen actividad antineoplásica contra las estirpes celulares citadas a continuación:

HL-60(TB), K-562, MOLT-4, RPMI-8226, SR, A549/ATCC, EK VX, HOP-62, HOP-92, NCI-H226, NCI-H23, NCI-H460, NCI-H522, COLO 205, HCC-2998, HCT-116, HCT-15, HT29, KM12, SW-620, SF-268, SF-295, SF-539, SNB-19, SNB-75, U251, LOX IMVI, MALME-3M, M14, MDA-MB-435, SK-MEL-2, SK-MEL-28, SK-MEL-5, UACC-257, UACC-62, IGROV1, OVCAR-3, OVCAR-4, OVCAR-5, OVCAR-8, NCI/ADR-RES, SK-OV-3, 786-0, A498, ACHN, CAKI-1, RXF 393, SN12C, TK-10, UO-31, PC-3, DU-145, MCF7, MDA-MB-231/ATCC, HS 578T, BT-549, T-47D, MDA-MB-468, KATOIII, NCI-N87, SNU-16, SNU-5, AGS, SNU-1, Capan-2, ATCC HTB-80, Panc 10.05, CFPAC-1, HPAF-II, SW 1990, BxPC-3, AsPC-1, MES-SA, MES-SA/DX5, KLE, HEC-1-A, AN3 CA, Ca-Ski, DoTc2 4510, SiHa, C-33-A, 5637, KU-19-19, MBT-2, HCV29T, Hu1703He. Para algunas de estas estirpes celulares, las condiciones asociadas específicas ya se han citado en la lista anteriormente.

Actividad antineoplásica se entiende como:

- prevenir el desarrollo de cáncer,
- inhibir el crecimiento de células cancerosas (inhibir la proliferación),
- inducir la muerte de células cancerosas (efecto proapoptótico),
- prevenir o inhibir la metástasis de células cancerosas,

- inhibir el fenómeno de multiresistencia a fármaco,
- inhibir el proceso de angiogénesis,
- eliminar o minimizar el impacto de enfermedad neoplásica.

5 Estudios *in vitro* realizados en varias estirpes celulares de cáncer confirmaron la alta actividad citotóxica de los compuestos recientemente preparados, que superó enormemente la bioactividad de una salinomocina químicamente sin modificar. Los derivados de salinomocina obtenidos no solo demuestran elevada actividad antineoplásica, sino también elevada selectividad de acción contra células cancerosas. Además, la comparación de la actividad antineoplásica y la toxicidad de los compuestos recientemente sintetizados con las presentadas por los derivados de salinomocina conocidos del estado de la técnica, que incluye los derivados de C20-*N*-amida y C20-*N*-carbamato (uretano) de C20-*epi*-salinomocina estructuralmente similares con una configuración absoluta invertida (configuración absoluta *S* en lugar de *R*) en el carbono asimétrico en la posición C-20 [Li et al., European Journal of Medicinal Chemistry, 148, 2018, 279-290], demostró claramente la superioridad de los compuestos que son la materia de la presente invención en el contexto de su posible uso terapéutico.

15 Las siguientes estirpes celulares de cáncer se usaron en estudios *in vitro*:

- B16-F0 (melanoma murino),
- Hs294T (melanoma humano),
- 20 - LoVo (cáncer de colon humano sensible a fármacos),
- LoVo/DX (cáncer de colon humano resistente a fármacos),
- MCF-7 (cáncer de mama humano),
- MV-4-11 (leucemia bifenotípica humana).

25 También se usaron fibroblastos murinos normales BALB/3T3 en las pruebas para determinar los coeficientes de selectividad de los compuestos usados en los ensayos. Estos valores permiten predecir la dirección de la acción de derivados de salinomocina respondiendo a la pregunta de si estos compuestos destruirán primero las células cancerosas o atacarán a células normales del cuerpo.

30 La Tabla 1 resume los datos para todas las estirpes celulares (tanto cancerosas como normales) usadas en los estudios *in vitro*.

Tabla 1.

Símbolo de estirpe celular	Nombre de estirpe celular	Fuente de origen de la estirpe celular	Número de células por pocillo en la prueba
B16-F0	melanoma murino	ATCC	0,25×10 ⁴
Hs294T	melanoma humano	ATCC	0,20×10 ⁴
LoVo	cáncer de colon humano sensible a fármacos	ATCC	1,00×10 ⁴
LoVo/DX	cáncer de colon humano resistente a fármacos	Prof. E. Borowski, Politechnika Gdańska (Universidad Tecnológica de Gdańsk)	1,00×10 ⁴
MCF-7	cáncer de mama humano	ECACC	0,75×10 ⁴
MV-4-11	leucemia bifenotípica humana	ATCC	1,00×10 ⁴
BALB/3T3	fibroblastos murinos normales	ATCC	1,00×10 ⁴

35 Durante las pruebas de citotoxicidad *in vitro*, se usaron los medios de cultivo y reactivos resumidos en la Tabla 2.

Tabla 2.

Nombre	Fabricante
medio de cultivo para la estirpe B16-F0	<ul style="list-style-type: none"> • OptiMEM (PChO, IITD PAN, Polonia), • RPMI 1640 + HEPES (PChO, IITD PAN, Polonia), • 5 % de FBS (Sigma-Aldrich, Alemania), • L-glutamina 2 mM (Sigma-Aldrich, Alemania), • piruvato de sodio 0,5 mM (Sigma-Aldrich, Alemania), • 4,5 g/l de glucosa (Sigma-Aldrich, Alemania), • 0,1 mg/ml de estreptomocina, 100 U/ml de penicilina (Sigma-Aldrich, Alemania y Polfa Tarchomin, Polonia)

ES 2 957 260 T3

(continuación)

Nombre	Fabricante
medio de cultivo para la estirpe Hs294T	<ul style="list-style-type: none"> • RPMI 1640 W/GLUTAMAX-I (Gibco, GB), • OptiMEM W/GLUTAMAX (Invitrogen, EE. UU.), • 10 % de FBS (Sigma-Aldrich, Alemania), • 5,5 g/l de glucosa (Sigma-Aldrich, Alemania), • 0,1 mg/ml de estreptomicina, 100 U/ml de penicilina (Sigma-Aldrich, Alemania y Polfa Tarchomin, Polonia)
medio de cultivo para la estirpe LoVo	<ul style="list-style-type: none"> • OptiMEM + RPMI1640 (1:1) (PChO, IITD PAN, Polonia), • 5 % de FBS HyClone (GE Healthcare, EE. UU.), • L-glutamina 2 mM (Sigma-Aldrich, Alemania), • piruvato de sodio 1 mM (Sigma-Aldrich, Alemania), • 0,1 mg/ml de estreptomicina, 100 U/ml de penicilina (Sigma-Aldrich, Alemania y Polfa Tarchomin, Polonia)
medio de cultivo para la estirpe LoVo/DX	<ul style="list-style-type: none"> • medio para la estirpe LoVo/DX como para la estirpe LoVo; adicionalmente doxorubicina (Accord, GB) a 10 µg/100 ml de medio
medio de cultivo para la estirpe MCF-7	<ul style="list-style-type: none"> • medio Eagle (PChO, IITD PAN, Polonia), • 10 % de FBS (Sigma-Aldrich, Alemania), • L-glutamina 2 mM (Sigma-Aldrich, Alemania), • 1 % de aminoácidos (Sigma-Aldrich, Alemania), • 8 µg/ml de insulina (Sigma-Aldrich, Alemania), • 0,1 mg/ml de estreptomicina, 100 U/ml de penicilina (Sigma-Aldrich, Alemania y Polfa Tarchomin, Polonia)
medio de cultivo para la estirpe MV-4-11	<ul style="list-style-type: none"> • RPMI 1640 W/GLUTAMAX-I (Gibco, GB), • 10 % de FBS (Sigma-Aldrich, Alemania), • piruvato de sodio 1 mM (Sigma-Aldrich, Alemania), • 0,1 mg/ml de estreptomicina, 100 U/ml de penicilina (Sigma-Aldrich, Alemania y Polfa Tarchomin, Polonia)
medio de cultivo para la estirpe BALB/3T3	<ul style="list-style-type: none"> • medio de Dulbecco (Gibco, GB), • 10 % de FBS HyClone (GE Healthcare, EE. UU.), • L-glutamina 2 mM (Sigma-Aldrich, Alemania), • 0,1 mg/ml de estreptomicina, 100 U/ml de penicilina (Sigma-Aldrich, Alemania y Polfa Tarchomin, Polonia)
medio de prueba para diluciones	<ul style="list-style-type: none"> • RPMI1640+ HEPES (PChO, IITD PAN, Polonia), • 10 % de FBS HyClone (GE Healthcare, EE. UU.), • L-glutamina 2 mM (Sigma-Aldrich, Alemania), • 0,1 mg/ml de estreptomicina, 100 U/ml de penicilina (Sigma-Aldrich, Alemania y Polfa Tarchomin, Polonia)
TRIS 10 mM	<ul style="list-style-type: none"> • agua desionizada, para fines generales de laboratorio, no estéril, • TRIZMA BASE (Sigma-Aldrich, Alemania)
1 % de ácido acético	<ul style="list-style-type: none"> • agua desionizada, para fines generales de laboratorio, no estéril, • ácido acético 80 %, calidad analítica (POCH S.A., Polonia)
50 % de ácido tricloroacético	<ul style="list-style-type: none"> • agua desionizada, para fines generales de laboratorio, no estéril, • ácido tricloroacético, calidad analítica (POCH S.A., Polonia) (un sólido a pesar y disolver en agua para lograr una concentración al 50 %)
disolución al 0,1 % de sulforodamina B (SRB)	<ul style="list-style-type: none"> • sal de sodio de sulforodamina B (Sigma-Aldrich, Alemania), • 1 % de ácido acético
MTT	<ul style="list-style-type: none"> • azul de tiazolilo - bromuro de tetrazolio, -98 % (Sigma-Aldrich, Alemania), • PBS (PChO, IITD PAN, Polonia)
tampón de lisis para MTT	<ul style="list-style-type: none"> • agua MilliQ UF Plus, • dodecilsulfato de sodio (Sigma-Aldrich, Alemania), • N,N-dimetilformamida, calidad analítica (POCH S.A., Polonia)
cisplatino	<ul style="list-style-type: none"> • concentrado para disolución para infusión, 1 mg/ml (10 mg/10 ml), 1 vial de 10 ml (Teva Pharmaceuticals, Polonia)

Se realizaron pruebas de citotoxicidad *in vitro* según el procedimiento descrito a continuación. Se prepararon disoluciones madre de los compuestos de prueba a 10 mg/ml para cada experimento espontáneamente disolviendo 1 mg de la preparación en 100 µl de sulfóxido de dimetilo (DMSO). El disolvente para diluciones adicionales fue un medio de cultivo. Los compuestos se probaron a intervalos de concentración de 100 a 0,00001 µg/ml (para las estirpes celulares B16-F0 y Hs294T) y 100 a 0,1 µg/ml (para las estirpes celulares LoVo, LoVo/DX, MCF-7, MV-4-11 y BALB/3T3).

10 Los ensayos de los efectos citotóxicos de los compuestos probados y el compuesto de referencia - cisplatino (un fármaco antineoplásico comúnmente usado) se llevaron a cabo en cultivos *in vitro* de 96 horas. Se realizó un ensayo

de reducción de sal de tetrazolio MTT [según: Wietrzyk et al., *Anti-cancer drugs*, 2007, 18, 447-457] para células MV-4-11 (leucemia bifenotípica humana) para evaluar la actividad metabólica de células cancerosas. Por otra parte, para determinar la actividad antiproliferativa de todos los compuestos probados contra las estirpes celulares B16-F0 (melanoma murino), Hs294T (melanoma humano), LoVo (cáncer de colon humano sensible a fármacos), LoVo/DX (cáncer de colon humano resistente a fármacos), MCF-7 (cáncer de mama humano) y BALB/3T3 (fibroblastos normales de ratón), se usó el ensayo colorimétrico SRB [según: Skehan et al., *Journal of the National Cancer Institute*, 1990, 82, 1107-1112] que medía la inhibición de la proliferación de células diana basada en la cantidad de proteína celular medida. En cada experimento, muestras que contenían concentraciones específicas del compuesto de prueba se aplicaron a placas de 96 pocillos por triplicado. Los experimentos se repitieron al menos 3 veces. Las pruebas de citotoxicidad *in vitro* se realizaron según el siguiente procedimiento:

- (a) Se sembraron células (derivadas de cultivo *in vitro*) en los pocillos de una placa a una densidad de $0,20 \times 10^4$ (estirpe Hs294T), $0,25 \times 10^4$ (estirpe B16-F0), $0,75 \times 10^4$ (estirpe MCF-7) o $1,00 \times 10^4$ (estirpe LoVo, LoVo/DX, MV-4-11 y BALB/3T3) células en 100 μ l de medio de cultivo y luego se incubaron a 37 °C en una atmósfera húmeda (85-95 % de humedad) saturada con 5 % de dióxido de carbono (CO₂),
- (b) después de 24 horas, se añadió a los pocillos otros 100 μ l del medio (control de crecimiento celular) o el medio que contenía los compuestos de prueba a las concentraciones especificadas,
- (c) las placas se incubaron durante otras 72 horas en una estufa de incubación (37 °C, atmósfera húmeda (85-95 % de humedad) saturada con 5 % de CO₂),
- (d) después de 72 horas de incubación de las células con los compuestos de prueba, se realizó el ensayo de MTT o SRB,
- (e) en cada experimento, muestras que contenían concentraciones determinadas del compuesto de prueba se aplicaron por triplicado, y los experimentos se reprodujeron 3 a 5 veces.

25 Lectura de MTT: se añadieron 20 μ l de disolución de MTT a cada pocillo de la placa de 96 pocillos. Después de 4 horas de incubación a 37 °C, se añadió 80 μ l de tampón de lisis a cada pocillo. Después de otras 24 horas de incubación a 37 °C, se leyó la densidad óptica de muestras individuales a 570 nm usando un lector de placas Synergy H4 (universal) (BioTek Instruments, EE. UU.).

30 Lectura de SRB: se añadió 50 μ l de ácido tricloroacético frío al 50 % a cada pocillo de la placa de 96 pocillos. Después de 60 minutos de incubación a temperatura ambiente, las placas se lavaron 4 veces con agua y luego se secaron sobre toallas de papel. Entonces se añadió 50 μ l de una disolución al 0,1 % de sulforodamina B (SRB) en 1 % de ácido acético a cada pocillo para teñir la proteína celular precipitada en el pocillo. Después de una incubación de 30 min con SRB a temperatura ambiente, las placas se lavaron 4 veces con 1 % de ácido acético y se secaron otra vez sobre toallas de papel. En la siguiente etapa, se añadió 150 μ l de tampón Tris 10 mM a cada pocillo para disolver el colorante unido con la proteína celular. La densidad óptica de muestras individuales se leyó a 540 nm usando un lector de placas Synergy H4 (universal) (BioTek Instruments, EE. UU.).

40 La inhibición de la proliferación se calculó como un porcentaje para cada compuesto de prueba a una concentración dada basada en la medición de la absorbancia de pocillos individuales usando la siguiente ecuación:

$$\text{porcentaje de inhibición de la proliferación} = \left(\left(\frac{A_t - A_m}{A_k - A_m} \right) \times 100 \right) - 100$$

en donde:

- 45 A_m – valor medio de absorbancia del medio de control,
- A_k – valor medio de absorbancia de las células de control, es decir, células sin tratar,
- A_t – valor medio de absorbancia de las células tratadas con compuestos de prueba en una particular concentración.

50 Cuando se calcula el valor medio de absorbancia para un conjunto de pocillos (células sin tratar, células tratadas con un compuesto específico en una concentración específica, control de medio solo), se rechazaron los valores atípicos usando un coeficiente de variación CV del 10 %. Los datos de porcentaje de inhibición de proliferación se usaron para determinar valores de CI₅₀, es decir, la concentración del compuesto de prueba requerida para inhibir el crecimiento celular en el 50 % [según: Nevozhay, *PLoS One*, 2014, 9, e106186]. Entonces se calcularon los valores medios de CI₅₀ basándose en otros 3 a 5 duplicados de la prueba, junto con valores de desviación estándar.

60 Para fines comparativos, se realizaron estudios análogos usando un fármaco antineoplásico usado comúnmente, es decir, cisplatino. Los resultados de la actividad citotóxica *in vitro* de los compuestos de prueba se presentan como valores de CI₅₀ expresados en concentraciones de micromol (μ M), que se han resumido en la Tabla 3. Todos los derivados de salinomicina recién obtenidos tienen una actividad antineoplásica muy alta, que en la mayoría de los casos supera significativamente la de la salinomicina químicamente sin modificar con la fórmula (1), C20-aminosalinomicina con la fórmula (3), así como el fármaco de oncología de referencia cisplatino. Además, a diferencia de la salinomicina, la mayoría de los derivados recién sintetizados de este ionóforo se han identificado

5 como agentes antineoplásicos capaces de vencer eficazmente la resistencia a fármacos de las células cancerosas en consideración con valores del índice de resistencia a fármaco RI de $<1,0$. Todos los derivados de salinomicina recién obtenidos se caracterizan por elevada selectividad de la acción hacia células cancerosas, que se manifiesta por coeficientes de selectividad SI $>3,0$, mientras que algunos de ellos se han identificado como compuestos extremadamente altamente selectivos (SI $>100,0$). Esto indica claramente que el efecto de los derivados de salinomicina recién sintetizados contra células cancerosas es muy superior al que de su toxicidad contra células del cuerpo normal.

Tabla 3. Ejemplos de uso de compuestos según la invención.

Compuesto de prueba	B16-F0				Hs294T				LoVo				LoVo/DX				MCF-7				MV-4-11				Células normales BALB/3T3	
	Cl ₅₀ (µM)	SI	Cl ₅₀ (µM)	SI	Cl ₅₀ (µM)	SI	Cl ₅₀ (µM)	SI	Cl ₅₀ (µM)	SI	Cl ₅₀ (µM)	SI	Cl ₅₀ (µM)	SI	Cl ₅₀ (µM)	SI	Cl ₅₀ (µM)	SI	Cl ₅₀ (µM)	SI	Cl ₅₀ (µM)	SI	Cl ₅₀ (µM)	SI	Cl ₅₀ (µM)	
salirromicina (1)	0.63	3.3	0.56	3.7	0.21	9.9	0.48	4.3	2.3	2.3	0.6	1.9	5.92	11.2	66.42											
(3)	9.44	7.0	9.73	6.8	33.07	2.0	20.49	3.2	11.4	1.5	1.5	2.94	5.6	0.30	54.5											
(9)	0.65	25.2	0.17	96.2	0.97	15.9	1.43	11.4	1.5	1.5	2.94	5.6	0.30	54.5												
(10)	0.07	50.3	0.02	176.0	0.67	5.3	0.19	18.5	0.3	0.70	5.0	0.70	5.0	0.07	50.3											
(11)	0.40	6.5	0.06	43.2	0.93	2.8	0.62	4.2	0.7	0.81	3.2	0.28	9.2	2.59												
(12)	0.56	30.5	0.07	243.9	0.63	27.1	1.55	11.0	2.5	0.90	19.0	0.20	85.4	17.07												
(13)	0.53	26.4	0.06	233.5	0.67	20.9	2.33	6.0	3.5	1.31	10.7	0.27	51.9	14.01												
(14)	4.19	2.4	4.75	2.2	4.14	2.5	2.94	3.5	0.7	7.21	1.4	3.35	3.1	10.25												
(15)	0.02	81.5	0.02	81.5	0.28	5.1	0.05	32.6	0.2	0.28	5.8	0.06	27.2	1.63												
(16)	0.48	5.2	0.03	83.3	0.29	8.6	0.63	4.0	2.2	0.58	4.3	0.03	83.3	2.50												
(17)	0.05	18.3	0.03	36.7	0.36	3.1	0.40	2.8	1.1	0.49	2.2	0.07	15.7	1.10												
(18)	0.05	35.2	0.02	88.0	0.48	3.7	0.16	11.0	0.3	0.57	3.1	0.07	25.1	1.76												
(19)	0.03	32.3	0.01	97.0	0.16	6.1	43.11	0.02	269.4	1.8	0.54	0.04	24.3	0.97												
(20)	0.64	5.1	0.28	11.6	0.62	4.0	0.64	5.1	0.8	2.38	1.4	6.36	9.0	3.24												
(21)	0.0034	197.1	0.0002	3350.0	0.09	7.4	0.05	13.4	0.6	0.36	1.9	0.02	33.5	0.67												
(22)	0.02	66.0	0.0041	322.0	0.30	4.4	0.05	26.4	0.2	0.34	3.9	0.05	26.4	1.32												
(23)	0.07	22.0	0.01	154.0	0.06	25.7	0.15	10.3	2.5	0.37	4.2	0.0011	1400.0	1.54												
(24)	0.05	16.0	0.04	20.0	0.07	11.4	0.11	7.3	1.6	0.40	2.0	0.0010	800.0	0.80												
(25)	0.01	135.0	0.0056	241.1	0.02	67.5	0.22	6.1	11.0	0.18	7.5	0.0003	4500.0	1.35												
cisplatino	3.84	1.7	4.01	3.6	6.97	0.9	8.00	0.8	1.1	7.17	0.9	3.40	1.9	6.50												

B16-F0 (melanoma murino), Hs294T (melanoma humano), LoVo (cáncer de colon humano sensible a fármacos), LoVo/DX (cáncer de colon humano resistente a fármacos), MCF-7 (cáncer de mama humano), MV-4-11 (leucemia bifenotípica humana), BALB/3T3 (fibroblastos murinos normales);
 Valor de Cl₅₀ - concentración de un compuesto que corresponde al 50 % de inhibición del crecimiento de células usadas en las pruebas. SI > 1.0 el compuesto tiene un efecto citotóxico más fuerte contra células cancerosas que contra células normales; RI < 2, células sensibles al compuesto de prueba. RI de 2-10, las células tienen sensibilidad moderada al compuesto de prueba; RI > 10 indica una fuerte resistencia al compuesto de prueba;
 el valor del coeficiente de selectividad SI se calculó usando la siguiente ecuación:

$$SI = \frac{Cl_{50}}{Cl_{50}} \text{ para la estirpe celular normal BALB/3T3}$$

$$SI = \frac{Cl_{50}}{Cl_{50}} \text{ para estirpes celulares de cáncer particulares}$$

el valor del coeficiente de resistencia al fármaco RI se calculó usando la siguiente ecuación:

$$RI = \frac{Cl_{50}}{Cl_{50}} \text{ para la estirpe celular de cáncer resistente a fármacos LoVo/DX}$$

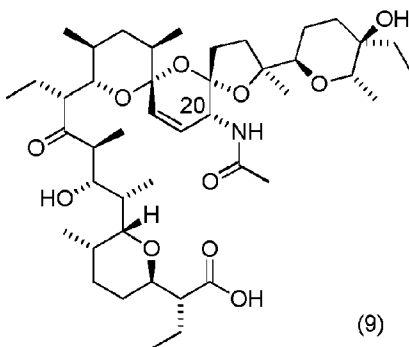
$$RI = \frac{Cl_{50}}{Cl_{50}} \text{ para la estirpe celular de cáncer sensible a fármacos LoVo}$$

La Tabla 3 muestra claramente que los compuestos según la invención tienen una actividad antineoplásica contra células cancerosas de diversos tejidos y órganos. Además, los derivados obtenidos tienen un efecto antiproliferativo que es varias veces más potente en comparación con el compuesto parental, por ejemplo, derivados con las fórmulas (10), (15), (17), o un efecto antiproliferativo que es incluso decenas de veces más potente, por ejemplo, compuestos con las fórmulas (21), (22), (25). Los resultados de pruebas de actividad llevadas a cabo en células de cáncer de colon humano sensibles a fármacos y resistentes a fármacos indican que los compuestos según la invención pueden vencer la resistencia al fármaco de las células cancerosas. Además, los compuestos según la invención se caracterizan por una excelente selectividad de acción, que demuestra su amplio potencial terapéutico. Un experto en la técnica sabrá cómo seleccionar un derivado particular para tratar el tipo de cáncer apropiado. Como un ejemplo, se debe indicar que, por ejemplo, el derivado con la fórmula (21) tiene un efecto preferido contra células de melanoma, mientras que el compuesto con la fórmula (25) tiene un efecto preferido contra células de leucemia bifenotípica.

Los compuestos según la invención y los métodos de preparación de los mismos se ilustran en los siguientes ejemplos. Dichos ejemplos, en vez de estar previstos para limitar el alcance de protección, solo presentan ejemplos representativos seleccionados de realizaciones de la invención. Estará dentro del conocimiento de un experto en la técnica seleccionar reactantes y ajustar las condiciones de reacción para obtener otros derivados dentro del alcance de protección como se define en las reivindicaciones de patente.

20 Ejemplo 1

Preparación de *N*-acetamida de C20-deshidroxi-C20-aminosalinomicina con la fórmula (9):



Se añadieron trietilamina (8 mg, 1,2 eq.) y cloruro de acetilo (7 mg, 1,2 eq.) a una disolución de 4-dimetilaminopiridina (10 mg, 1,2 eq.) en cloruro de metileno anhidro (7 ml) enfriado hasta una temperatura de 0 °C y esto se agitó durante 30 minutos a temperatura reducida (<5 °C). Entonces se añadió C20-aminosalinomicina (50 mg, 1,0 eq.), previamente disuelta en una cantidad mínima de cloruro de metileno anhidro a la mezcla de reacción y se agitó a temperatura reducida (<5 °C) durante otros 30 minutos. A continuación se dejó que esto se calentara hasta temperatura ambiente, y la mezcla continuó hasta que la reacción finalizó, que se monitorizó por cromatografía en capa fina CCF.

Una vez finalizó la reacción, la mezcla de reacción se lavó con una disolución acuosa de carbonato sódico (0,1 M). La fase orgánica se evaporó hasta que se secó a presión reducida y el residuo se purificó usando un cromatógrafo CombiFlash® con detector ELS, usando una columna rellena de sílice y una mezcla de disolventes de acetato de etilo:n-hexano con un gradiente creciente de concentración de acetato de etilo desde el 0 % hasta el 100 %. Las fracciones combinadas que contenían *N*-acetamida de C20-deshidroxi-C20-aminosalinomicina con la fórmula (9) se evaporaron hasta que se secaron a presión reducida, el residuo se disolvió en cloruro de metileno y entonces se extrajo con una disolución acuosa de ácido sulfúrico (VI) (pH = 1,0) y finalmente con agua. Las fases orgánicas combinadas se evaporaron otra vez hasta que se secaron a presión reducida, y luego se evaporaron repetidamente con *n*-pentano. Se obtuvo *N*-acetamida de C20-deshidroxi-C20-aminosalinomicina con la fórmula (9) como un sólido blanco amorfo con 72 % de rendimiento.

Rendimiento: 38 mg, 72 %. Aislada como un sólido blanco amorfo; pureza >95 % por RMN y una única mancha en CCF.

Rf: 0,54 en acetato de etilo 100 %. Manchas verdes en ácido fosfomolibdico (PMA).

RMN ¹³C (101 MHz, CDCl₃) δ 215,4, 177,7, 170,2, 129,3, 122,9, 105,4, 99,4, 88,4, 77,3, 77,2, 75,5, 74,9, 73,8, 71,7, 71,0, 68,4, 56,1, 49,7, 48,9, 48,6, 41,0, 38,5, 36,8, 36,3, 32,6, 30,5, 29,0, 28,0, 26,2, 26,0, 23,1, 22,6, 22,0, 20,0, 17,9, 16,4, 15,8, 14,7, 13,2, 12,9, 12,0, 11,2, 6,9, 6,3 ppm.

RMN ¹H (403 MHz, CDCl₃) δ ~13,00 (s, muy a., 1H), 6,93 (d. *J* = 8,0 Hz, 1H), 6,03 (dd. *J* = 10,7, 2,6 Hz, 1H), 5,78 (dd. *J* = 10,6, 2,0 Hz, 1H), 4,41 (dt. *J* = 8,0, 2,3 Hz, 1H), 4,08 (dd. *J* = 10,1, 1,4 Hz, 1H), 3,92 (dd. *J* = 10,8, 5,4 Hz, 1H), 3,84 (dd. *J* = 8,9, 5,3 Hz, 1H), 3,80 (d. *J* = 10,3 Hz, 1H), 3,75 (dd. *J* = 14,0, 7,0 Hz, 1H), 3,57 (dd. *J* = 9,9, 1,8 Hz, 1H), 2,83 (td. *J* = 10,8, 3,8 Hz, 1H), 2,67 (dq. *J* = 9,8, 7,1 Hz, 1H), 2,52 (dd. *J* = 11,1, 2,1 Hz, 1H), 2,10-

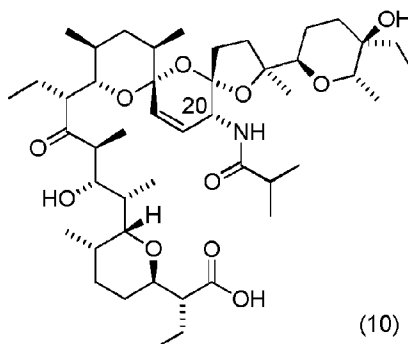
0,50 (m, 56H), 1,91 (s, $J = 7,4$ Hz, 3H) ppm.

ESI-EM (m/z): $[M+Na]^+$ calculado para $C_{44}H_{73}NNaO_{11}^+$ 814,5; hallado 814.

Ejemplo 2

5

Preparación de *N*-isobutiramida de C20-deshidroxi-C20-aminosalinomicina con la fórmula (10):



- 10 Se procede como en el Ejemplo 1, excepto que en lugar de cloruro de acetilo (1,2 eq), se añadió cloruro de isobutirilo (9 mg, 1,2 eq) a la mezcla de reacción. Se obtuvo *N*-isobutiramida de C20-deshidroxi-C20-aminosalinomicina con la fórmula (10) como un sólido blanco amorfo con 29 % de rendimiento.

15 Rendimiento: 16 mg, 29 %. Aislada como un sólido blanco amorfo; pureza >95 % por RMN y una única mancha en CCF.

Rf: 0,55 en acetato de etilo/n-hexano 50 %. Manchas verdes en ácido fosfomolibdico (PMA).

RMN ^{13}C (101 MHz, CD_2Cl_2) δ 215,8, 177,7, 177,4, 130,2, 123,3, 106,0, 100,0, 89,0, 77,8, 76,1, 75,2, 73,8, 72,1, 71,2, 69,0, 56,3, 49,9, 49,2, 48,8, 41,5, 39,0, 37,2, 36,6, 35,7, 33,2, 30,9, 30,9, 29,2, 28,5, 26,6, 26,1, 23,1, 22,5, 20,4, 20,0, 19,6, 18,0, 16,7, 15,9, 15,0, 13,4, 13,2, 12,1, 11,3, 7,1, 6,5 ppm.

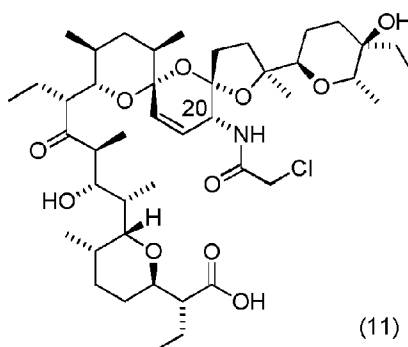
20 RMN 1H (403 MHz, CD_2Cl_2) δ -13,00 (s, muy a., 1H), 6,78 (d, $J = 7,9$ Hz, 1H), 6,07 (dd, $J = 10,7, 2,6$ Hz, 1H), 5,76 (dd, $J = 10,6, 2,1$ Hz, 1H), 4,39 (dt, $J = 7,9, 2,3$ Hz, 1H), 4,07 (dd, $J = 10,1, 1,4$ Hz, 1H), 3,95-3,81 (m, 3H), 3,76 (dd, $J = 13,9, 6,9$ Hz, 1H), 3,58 (dd, $J = 10,0, 2,0$ Hz, 1H), 2,89 (td, $J = 10,7, 4,0$ Hz, 1H), 2,73 (dq, $J = 10,0, 7,1$ Hz, 1H), 2,61 (dd, $J = 10,9, 1,9$ Hz, 1H), 2,30 (dt, $J = 13,6, 6,8$ Hz, 1H), 2,21-0,55 (m, 62H) ppm.

ESI-EM (m/z): $[M+Na]^+$ calculado para $C_{46}H_{77}NNaO_{11}^+$ 842,5; hallado 842.

25

Ejemplo 3

Preparación de *N*-cloroacetamida de C20-deshidroxi-C20-aminosalinomicina con la fórmula (11):



30

Se procede como en el Ejemplo 1, excepto que en lugar de cloruro de acetilo (1,2 eq), se añadió cloruro de cloroacetilo (9 mg, 1,2 eq) a la mezcla de reacción. Se obtuvo *N*-cloroacetamida de C20-deshidroxi-C20-aminosalinomicina con la fórmula (11) como un sólido blanco amorfo con 30 % de rendimiento.

35

Rendimiento: 17 mg, 30 %. Aislada como un sólido blanco amorfo; pureza >95 % por RMN y una única mancha en CCF.

Rf: 0,71 en acetato de etilo/n-hexano 50 %. Manchas verdes en ácido fosfomolibdico (PMA).

40 RMN ^{13}C (101 MHz, CD_2Cl_2) δ 215,6, 177,8, 167,0, 129,0, 124,6, 105,9, 99,9, 88,9, 77,7, 76,4, 75,1, 73,5, 72,2, 71,3, 69,0, 56,1, 49,71, 49,69, 48,8, 43,2, 41,2, 38,9, 37,3, 36,5, 33,1, 31,4, 30,9, 29,3, 28,6, 26,6, 25,4, 23,0, 22,2, 20,4, 17,9, 16,7, 15,8, 14,9, 13,3, 13,2, 12,1, 11,4, 7,2, 6,5 ppm.

RMN 1H (403 MHz, CD_2Cl_2) δ -13,00 (s, muy a., 1H), 7,23 (d, $J = 8,5$ Hz, 1H), 6,14 (dd, $J = 10,6, 2,5$ Hz, 1H), 5,79 (dd, $J = 10,6, 2,4$ Hz, 1H), 4,50 (dt, $J = 8,6, 2,4$ Hz, 1H), 4,07 (dd, $J = 10,1, 1,3$ Hz, 1H), 4,00 (s, $J = 13,8$ Hz,

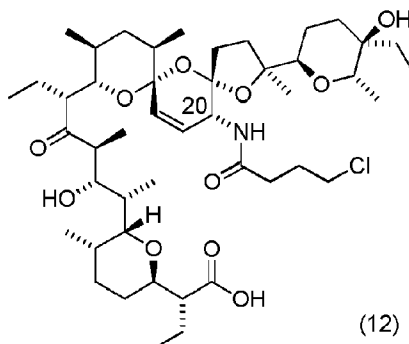
2H), 3,92 (dd, J = 10,8, 5,3 Hz, 1H), 3,79 (ddd, J = 14,0, 8,4, 3,0 Hz, 3H), 3,58 (dd, J = 9,9, 1,9 Hz, 1H), 2,89 (td, J = 10,7, 4,1 Hz, 1H), 2,73 (ddd, J = 14,3, 10,0, 7,1 Hz, 1H), 2,60 (dd, J = 10,8, 1,7 Hz, 1H), 2,19-0,55 (m, 56H) ppm.

ESI-EM (m/z): [M+Na]⁺ calculado para C₄₄H₇₂CINNaO₁₁⁺ 848,5; hallado 848.

5

Ejemplo 4

Preparación de *N*-4-clorobutiramida de C20-deshidroxi-C20-aminosalinomicina con la fórmula (12):



10

Se procede como en el Ejemplo 1, excepto que en lugar de cloruro de acetilo (1,2 eq), se añadió cloruro de 4-clorobutirilo (12 mg, 1,2 eq) a la mezcla de reacción. Se obtuvo *N*-4-clorobutiramida de C20-deshidroxi-C20-aminosalinomicina con la fórmula (12) como un sólido blanco amorfo con 29 % de rendimiento.

15

Rendimiento: 17 mg, 29 %. Aislada como un sólido blanco amorfo; pureza >95 % por RMN y una única mancha en CCF.

Rf: 0,59 en acetato de etilo/n-hexano 50 %. Manchas verdes en ácido fosfomolibdico (PMA).

20

RMN ¹³C (101 MHz, CD₂Cl₂) δ 215,3, 177,6, 172,3, 130,0, 123,8, 106,1, 99,9, 88,9, 77,7, 76,3, 75,1, 74,0, 72,1, 71,2, 69,0, 56,2, 49,7, 49,4, 48,6, 45,3, 41,3, 38,9, 37,4, 36,5, 33,6, 33,1, 31,1, 31,0, 29,4, 28,7, 28,5, 26,6, 25,9, 23,0, 22,4, 20,4, 17,9, 16,7, 15,9, 15,1, 13,34, 13,26, 12,2, 11,4, 7,2, 6,5 ppm.

25

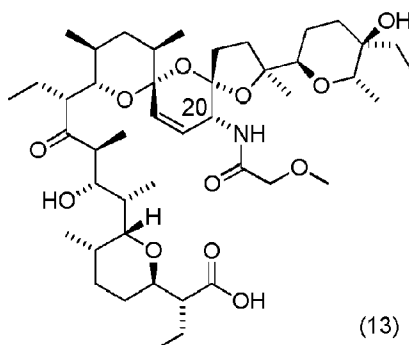
RMN ¹H (403 MHz, CD₂Cl₂) δ ~13,00 (s, muy a., 1H), 6,97 (d, J = 8,0 Hz, 1H), 6,09 (dd, J = 10,6, 2,5 Hz, 1H), 5,81 (dd, J = 10,7, 2,5 Hz, 1H), 4,43 (dt, J = 8,0, 2,4 Hz, 1H), 4,08 (dd, J = 10,0, 1,4 Hz, 1H), 3,93 (dd, J = 10,9, 5,5 Hz, 1H), 3,88-3,80 (m, 2H), 3,62-3,57 (m, 2H), 2,90 (td, J = 10,5, 4,1 Hz, 1H), 2,73 (ddd, J = 14,1, 9,9, 7,1 Hz, 1H), 2,59 (dd, J = 11,1, 2,0 Hz, 1H), 2,35 (tdd, J = 14,8, 13,0, 7,3 Hz, 2H), 2,19-0,53 (m, 60H) ppm.

25

ESI-EM (m/z): [M+Na]⁺ calculado para C₄₆H₇₆CINNaO₁₁⁺ 876,5; hallado 876.

Ejemplo 5

30 Preparación de *N*-metoxiacetamida de C20-deshidroxi-C20-aminosalinomicina con la fórmula (13):



35

Se procede como en el Ejemplo 1, excepto que en lugar de cloruro de acetilo (1,2 eq), se añadió cloruro de metoxiacetilo (9 mg, 1,2 eq) a la mezcla de reacción. Se obtuvo *N*-metoxiacetamida de C20-deshidroxi-C20-aminosalinomicina con la fórmula (13) como un sólido blanco amorfo con 44 % de rendimiento.

40

Rendimiento: 24 mg, 44 %. Aislada como un sólido blanco amorfo; pureza >95 % por RMN y una única mancha en CCF.

Rf: 0,63 en acetato de etilo 100 %. Manchas verdes en ácido fosfomolibdico (PMA).

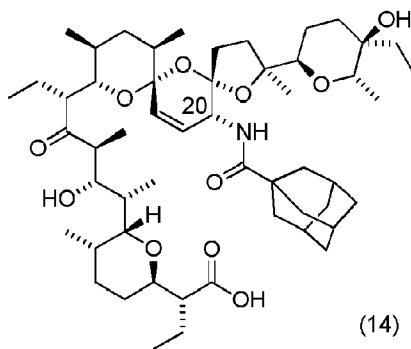
RMN ¹³C (101 MHz, CDCl₃) δ 215,5, 177,6, 169,8, 129,1, 123,2, 105,2, 99,5, 88,8, 77,2, 75,5, 74,8, 72,8, 72,3, 71,7, 71,0, 68,4, 58,9, 56,1, 49,8, 48,9, 48,2, 41,2, 38,7, 36,42, 36,38, 32,7, 30,6, 30,3, 29,2, 28,0, 26,2, 25,8, 22,7, 22,0, 19,9, 17,9, 16,5, 15,7, 14,3, 13,3, 12,9, 11,8, 11,0, 6,8, 6,4 ppm.

RMN ¹H (403 MHz, CDCl₃) δ -13,00 (s, muy a., 1H), 7,23 (d, J = 8,9 Hz, 1H), 6,14 (dd, J = 10,8, 2,9 Hz, 1H), 5,79 (dd, J = 10,7, 1,7 Hz, 1H), 4,62 (ddd, J = 8,9, 2,7, 1,9 Hz, 1H), 4,15 (dd, J = 10,1, 1,4 Hz, 1H), 4,02-3,94 (m, 2H), 3,93-3,78 (m, 4H), 3,63 (dd, J = 10,0, 1,9 Hz, 1H), 3,36 (s, J = 9,3 Hz, 3H), 2,89 (td, J = 10,9, 3,9 Hz, 1H), 2,74 (ddd, J = 14,2, 10,0, 7,0 Hz, 1H), 2,61 (dd, J = 10,9, 2,2 Hz, 1H), 2,22-0,60 (m, 56H) ppm.

ESI-EM (m/z): [M+Na]⁺ calculado para C₄₅H₇₅NNaO₁₂⁺ 844,5; hallado 844.

Ejemplo 6

Preparación de *N*-1-adamantocarboxamida de C20-deshidroxi-C20-aminosalinomicina con la fórmula (14):



Se procede como en el Ejemplo 1, excepto que en lugar de cloruro de acetilo (1,2 eq), se añadió cloruro de 1-adamantocarbonilo (17 mg, 1,2 eq) a la mezcla de reacción. Se obtuvo *N*-1-adamantocarboxamida de C20-deshidroxi-C20-aminosalinomicina con la fórmula (14) como un sólido blanco amorfo con 12 % de rendimiento.

Rendimiento: 7 mg, 12 %. Aislada como un sólido blanco amorfo; pureza >95 % por RMN y una única mancha en CCF.

Rf: 0,52 en acetato de etilo/*n*-hexano 33 %. Manchas verdes en ácido fosfomolibdico (PMA).

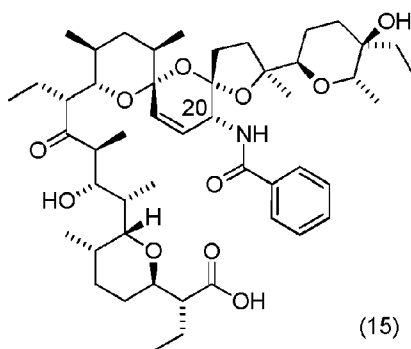
RMN ¹³C (101 MHz, CD₂Cl₂) δ 212,3, 179,2, 177,5, 132,7, 131,9, 109,2, 96,8, 86,0, 77,2, 74,9, 73,6, 72,5, 71,7, 71,0, 67,3, 53,4, 49,6, 49,2, 48,7, 40,9, 39,5, 39,19, 39,18, 36,7, 36,4, 35,6, 33,1, 32,6, 30,9, 30,1, 29,7, 28,5, 28,3, 26,4, 23,9, 23,5, 22,2, 20,2, 18,3, 17,8, 16,2, 14,6, 14,2, 13,3, 13,2, 12,2, 11,2, 7,3, 6,5 ppm.

RMN ¹H (403 MHz, CD₂Cl₂) δ -13,00 (s, muy a., 1H), 6,40 (d, J = 9,4 Hz, 1H), 5,86-5,71 (m, 2H), 4,75 (dt, J = 9,3, 1,5 Hz, 1H), 4,22 (dd, J = 9,8, 3,8 Hz, 1H), 3,92 (dd, J = 10,9, 4,8 Hz, 1H), 3,79 (q, J = 6,9 Hz, 1H), 3,64 (d, J = 10,4 Hz, 1H), 3,60 (dd, J = 10,0, 2,3 Hz, 1H), 3,48-3,40 (m, 1H), 2,93 (td, J = 11,1, 3,6 Hz, 1H), 2,85 (d, J = 5,0 Hz, 1H), 2,70-2,57 (m, 2H), 2,23 (ddd, J = 13,3, 8,5, 6,9 Hz, 1H), 2,14-0,54 (m, 69H) ppm.

ESI-EM (m/z): [M+Na]⁺ calculado para C₅₃H₈₅NNaO₁₁⁺ 934,6; hallado 934.

Ejemplo 7

Preparación de *N*-benzamida de C20-deshidroxi-C20-aminosalinomicina con la fórmula (15):



Se procede como en el Ejemplo 1, excepto que en lugar de cloruro de acetilo (1,2 eq), se añadió cloruro de benzoilo (12 mg, 1,2 eq) a la mezcla de reacción. Se obtuvo *N*-benzamida de C20-deshidroxi-C20-aminosalinomicina con la fórmula (15) como un sólido amarillo amorfo con 91 % de rendimiento.

Rendimiento: 52 mg, 91 %. Aislada como un sólido amarillo amorfo; pureza >95 % por RMN y una única mancha en CCF.

Rf: 0,68 en acetato de etilo/*n*-hexano 50 %. Manchas verdes en ácido fosfomolibdico (PMA), activa bajo UV.

RMN ¹³C (101 MHz, CD₂Cl₂) δ 215,7, 177,6, 168,6, 136,0, 131,5, 129,8, 128,7, 127,5, 123,4, 105,9, 99,9, 89,3, 76,9, 76,3, 75,0, 73,4, 72,3, 71,1, 69,2, 56,3, 49,72, 49,66, 48,9, 41,6, 39,0, 37,2, 36,5, 33,2, 30,9, 30,7, 29,5,

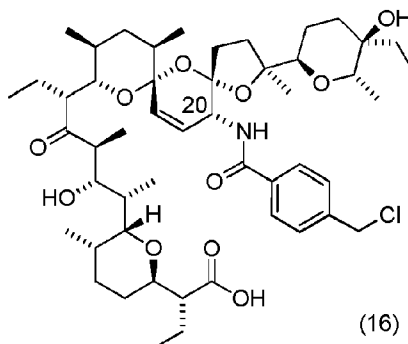
28,6, 26,7, 26,1, 23,1, 22,6, 20,5, 18,0, 16,6, 15,9, 14,8, 13,4, 13,3, 12,0, 11,4, 7,2, 6,5 ppm.

RMN ¹H (403 MHz, CD₂Cl₂) δ -13,00 (s, muy a., 1H), 7,75-7,67 (m, 2H), 7,50-7,44 (m, 1H), 7,43-7,36 (m, 2H), 7,19 (d, J = 8,4 Hz, 1H), 6,14 (dd, J = 10,7, 2,9 Hz, 1H), 5,88 (dd, J = 10,7, 1,8 Hz, 1H), 4,68 (ddd, J = 8,4, 2,7, 1,9 Hz, 1H), 4,10 (dd, J = 10,1, 1,4 Hz, 1H), 3,97-3,87 (m, 2H), 3,85-3,79 (m, 1H), 3,59 (dd, J = 10,0, 2,1 Hz, 1H), 3,28 (dd, J = 13,6, 6,7 Hz, 1H), 2,88 (td, J = 10,6, 4,0 Hz, 1H), 2,76 (dq, J = 10,0, 7,1 Hz, 1H), 2,62 (dd, J = 10,8, 2,0 Hz, 1H), 2,24-0,58 (m, 56H) ppm.

ESI-EM (m/z): [M+Na]⁺ calculado para C₄₉H₇₅NNaO₁₁⁺ 876,5; hallado 876.

Ejemplo 8

Preparación de *N*-(4-clorometil)benzamida de C20-deshidroxi-C20-aminosalinomicina con la fórmula (16):



Se procede como en el Ejemplo 1, excepto que en lugar de cloruro de acetilo (1,2 eq), se añadió cloruro de 4-(clorometil)benzoilo (16 mg, 1,2 eq) a la mezcla de reacción. Se obtuvo *N*-(4-clorometil)benzamida de C20-deshidroxi-C20-aminosalinomicina con la fórmula (16) como un sólido blanco amorfo con 28 % de rendimiento.

Rendimiento: 17 mg, 28 %. Aislada como un sólido blanco amorfo; pureza >95 % por RMN y una única mancha en CCF.

R_f: 0,49 en acetato de etilo/*n*-hexano 33 %. Manchas verdes en ácido fosfomolibdico (PMA), activa bajo UV.

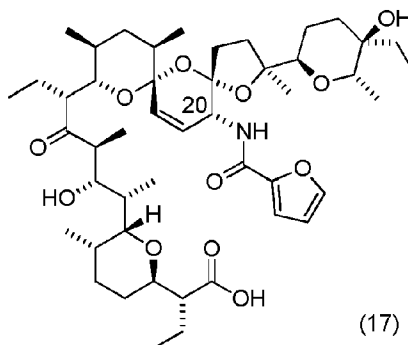
RMN ¹³C (101 MHz, CD₂Cl₂) δ 214,8, 177,3, 167,9, 141,0, 135,8, 129,6, 128,9, 128,0, 123,4, 105,9, 99,7, 89,2, 76,8, 74,7, 73,5, 72,4, 71,2, 69,3, 56,2, 49,6, 49,2, 48,5, 45,9, 41,5, 38,8, 37,2, 36,2, 33,0, 30,87, 30,85, 30,0, 29,4, 28,8, 26,6, 26,1, 22,9, 22,4, 20,7, 17,8, 16,7, 15,8, 14,8, 13,4, 13,3, 12,0, 11,7, 7,5, 6,6 ppm.

RMN ¹H (403 MHz, CD₂Cl₂) δ -13,00 (s, muy a., 1H), 7,77-7,70 (m, 2H), 7,46-7,40 (m, 2H), 7,20 (d, J = 8,4 Hz, 1H), 6,15 (dd, J = 10,7, 2,8 Hz, 1H), 5,88 (dd, J = 10,6, 1,8 Hz, 1H), 4,69 (ddd, J = 8,3, 2,5, 2,1 Hz, 1H), 4,60 (s, J = 9,2 Hz, 2H), 4,10 (dd, J = 10,0, 1,3 Hz, 1H), 3,94 (ddd, J = 10,9, 6,1, 1,7 Hz, 1H), 3,87 (d, J = 10,2 Hz, 1H), 3,77 (dd, J = 10,1, 3,1 Hz, 1H), 3,60 (dd, J = 9,9, 2,1 Hz, 1H), 3,38 (dd, J = 13,6, 6,8 Hz, 1H), 2,87 (td, J = 10,3, 4,2 Hz, 1H), 2,78 (ddd, J = 14,3, 9,8, 7,1 Hz, 1H), 2,62-2,56 (m, 1H), 2,24-0,54 (m, 56H) ppm.

ESI-EM (m/z): [M+Na]⁺ calculado para C₅₀H₇₆ClNNaO₁₁⁺ 924,5; hallado 924.

Ejemplo 9

Preparación de *N*-2-furamida de C20-deshidroxi-C20-aminosalinomicina con la fórmula (17):



Se procede como en el Ejemplo 1, excepto que en lugar de cloruro de acetilo (1,2 eq), se añadió cloruro de 2-furoilo (11 mg, 1,2 eq) a la mezcla de reacción. Se obtuvo *N*-2-furamida de C20-deshidroxi-C20-aminosalinomicina con la fórmula (17) como un sólido blanco amorfo con 53 % de rendimiento.

Rendimiento: 30 mg, 53 %. Aislada como un sólido blanco amorfo; pureza >95 % por RMN y una única mancha en CCF.

Rf 0,66 en acetato de etilo/*n*-hexano 50 %. Manchas verdes en ácido fosfomolibdico (PMA), activa bajo UV.

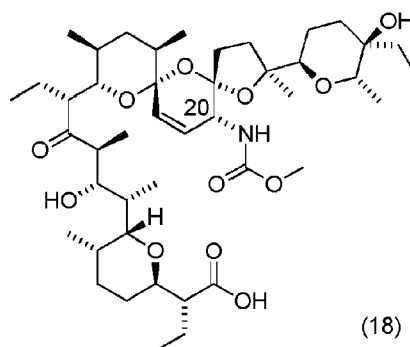
RMN ¹³C (101 MHz, CD₂Cl₂) δ 219,6, 184,7, 158,8, 147,6, 145,5, 128,6, 123,7, 114,8, 111,9, 107,0, 100,0, 89,3, 77,4, 77,0, 76,6, 73,7, 71,5, 70,5, 69,1, 56,7, 51,1, 49,6, 48,2, 41,2, 39,3, 37,5, 36,2, 33,0, 32,7, 32,5, 28,7, 28,4, 27,3, 26,4, 23,5, 20,6, 20,4, 18,0, 16,3, 15,8, 14,5, 13,5, 12,7, 12,6, 11,4, 7,2, 7,0 ppm.

RMN ¹H (403 MHz, CD₂Cl₂) δ ~13,00 (s, muy a., 1H), 7,52 (dd, J = 1,7, 0,8 Hz, 1H), 7,37 (d, J = 9,8 Hz, 1H), 7,27 (dd, J = 3,5, 0,8 Hz, 1H), 6,42 (dd, J = 3,5, 1,7 Hz, 1H), 6,18 (dd, J = 10,8, 3,1 Hz, 1H), 5,75 (dd, J = 10,8, 1,8 Hz, 1H), 4,95 (ddd, J = 9,8, 3,0, 1,8 Hz, 1H), 4,14 (q, J = 6,9 Hz, 1H), 4,08 (dd, J = 10,4, 1,5 Hz, 1H), 3,94 (dd, J = 10,8, 5,2 Hz, 1H), 3,71 (d, J = 10,1 Hz, 1H), 3,66 (dd, J = 10,3, 1,7 Hz, 1H), 3,44 (dd, J = 12,3, 2,6 Hz, 1H), 2,74 (dddd, J = 17,4, 13,6, 10,6, 4,4 Hz, 3H), 2,32-2,20 (m, 1H), 2,19-0,54 (m, 55H) ppm.

ESI-EM (m/z): [M+Na]⁺ calculado para C₄₇H₇₃NNaO₁₂⁺ 866,5; hallado 866.

Ejemplo 10

Preparación de N-metilcarbamato de C20-deshidroxi-C20-aminosalinomicina con la fórmula (18):



Se procede como en el Ejemplo 1, excepto que en lugar de cloruro de acetilo (1,2 eq), se añadió cloroformiato de metilo (8 mg, 1,2 eq) a la mezcla de reacción. Se obtuvo N-metilcarbamato de C20-deshidroxi-C20-aminosalinomicina con la fórmula (18) como un sólido blanco amorfo con 16 % de rendimiento.

Rendimiento: 9 mg, 16 %. Aislado como un sólido blanco amorfo; pureza >95 % por RMN y una única mancha en CCF.

Rf 0,35 en acetato de etilo/*n*-hexano 50 %. Manchas verdes en ácido fosfomolibdico (PMA).

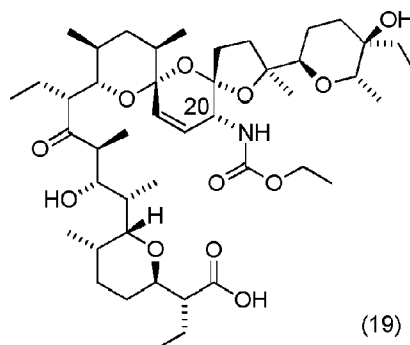
RMN ¹³C (101 MHz, CD₂Cl₂) δ 214,9, 177,2, 157,4, 130,1, 122,6, 105,8, 99,7, 89,6, 77,4, 76,4, 75,1, 74,4, 72,1, 71,2, 69,2, 56,5, 52,0, 50,7, 49,7, 48,4, 41,5, 38,9, 37,2, 36,5, 33,1, 31,0, 30,7, 29,4, 28,5, 26,7, 26,4, 23,1, 22,6, 20,3, 17,9, 16,8, 15,9, 14,4, 13,4, 13,3, 11,9, 11,3, 7,1, 6,5 ppm.

RMN ¹H (403 MHz, CD₂Cl₂) δ ~13,00 (s, muy a., 1H), 6,39 (d, J = 6,9 Hz, 1H), 6,04 (dd, J = 10,8, 2,7 Hz, 1H), 5,83 (dd, J = 10,7, 1,6 Hz, 1H), 4,12-4,04 (m, 2H), 3,99-3,85 (m, 3H), 3,81 (dd, J = 13,7, 6,8 Hz, 1H), 3,66-3,53 (m, 4H), 2,91 (td, J = 10,5, 4,2 Hz, 1H), 2,75 (ddd, J = 14,2, 9,9, 7,1 Hz, 1H), 2,58 (dd, J = 10,6, 1,4 Hz, 1H), 2,25-2,12 (m, 2H), 2,04-0,57 (m, 54H) ppm.

ESI-EM (m/z): [M+Na]⁺ calculado para C₄₄H₇₃NNaO₁₂⁺ 830,5; hallado 830.

Ejemplo 11

Preparación de N-etilcarbamato de C20-deshidroxi-C20-aminosalinomicina con la fórmula (19):



Se procede como en el Ejemplo 1, excepto que en lugar de cloruro de acetilo (1,2 eq), se añadió cloroformiato de etilo (9 mg, 1,2 eq) a la mezcla de reacción. Se obtuvo N-etilcarbamato de C20-deshidroxi-C20-aminosalinomicina con la fórmula (19) como un sólido blanco amorfo con 22 % de rendimiento.

Rendimiento: 12 mg, 22 %. Aislado como un sólido blanco amorfo; pureza >95 % por RMN y una única mancha en CCF.

Rf: 0,70 en acetato de etilo/*n*-hexano 50 %. Manchas verdes en ácido fosfomolibdico (PMA).

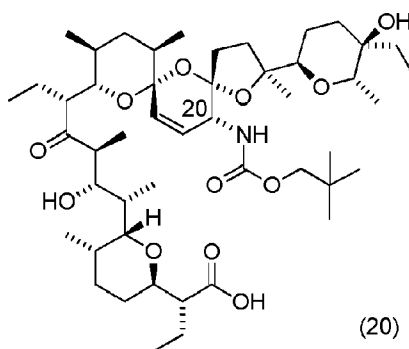
RMN ¹³C (101 MHz, CDCl₃) δ 215,3, 177,3, 156,7, 129,9, 122,0, 105,4, 99,4, 89,1, 77,2, 76,8, 75,7, 74,9, 73,8, 71,7, 71,0, 68,6, 60,5, 56,2, 50,4, 49,8, 48,5, 41,1, 38,6, 36,8, 36,3, 32,7, 30,6, 30,1, 29,3, 28,0, 26,3, 22,7, 22,3, 19,9, 17,9, 16,6, 15,7, 14,4, 14,1, 13,2, 12,9, 11,8, 11,0, 6,8, 6,3 ppm.

RMN ¹H (403 MHz, CDCl₃) δ -13,00 (s, muy a., 1H), 6,56 (d, J = 7,2 Hz, 1H), 6,06 (dd, J = 10,8, 2,7 Hz, 1H), 5,91 (dd, J = 10,7, 1,5 Hz, 1H), 4,18-4,09 (m, 2H), 4,05 (q, J = 7,1 Hz, 2H), 4,01-3,94 (m, 2H), 3,93-3,85 (m, 2H), 3,63 (dd, J = 9,9, 1,8 Hz, 1H), 2,90 (td, J = 10,9, 3,8 Hz, 1H), 2,75 (ddd, J = 14,2, 9,9, 7,0 Hz, 1H), 2,59 (dd, J = 10,8, 1,8 Hz, 1H), 2,27-2,12 (m, 2H), 2,10-0,50 (m, 57H) ppm.

ESI-EM (m/z): [M+Na]⁺ calculado para C₄₅H₇₅NNaO₁₂⁺ 844,5; hallado 844.

Ejemplo 12

- 15 Preparación de *N*-neopentilcarbamato de C20-deshidroxi-C20-aminosalinomicina con la fórmula (20):



- 20 Se procede como en el Ejemplo 1, excepto que en lugar de cloruro de acetilo (1,2 eq), cloroformiato de neopentilo (13 mg, 1,2 eq) se añadió a la mezcla de reacción. Se obtuvo *N*-neopentilcarbamato de C20-deshidroxi-C20-aminosalinomicina con la fórmula (20) como un sólido blanco amorfo con 24 % de rendimiento.

Rendimiento: 14 mg, 24 %. Aislada como un sólido blanco amorfo; pureza >95 % por RMN y una única mancha en CCF.

Rf: 0,69 en acetato de etilo/*n*-hexano 50 %. Manchas verdes en ácido fosfomolibdico (PMA).

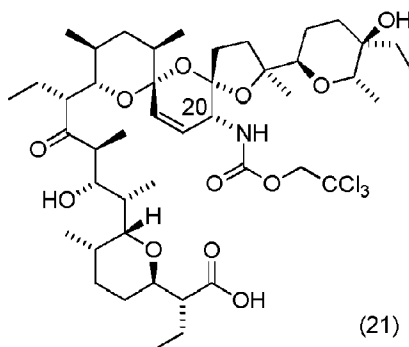
RMN ¹³C (101 MHz, CD₂Cl₂) δ 212,9, 177,8, 158,3, 134,1, 130,8, 109,3, 96,5, 86,7, 77,1, 75,0, 74,9, 74,2, 73,7, 71,8, 70,9, 67,3, 53,6, 51,3, 49,4, 49,0, 39,5, 36,74, 36,71, 36,3, 32,9, 31,6, 31,1, 30,7, 29,8, 28,3, 26,5, 26,4, 26,0, 23,3, 22,7, 20,2, 18,2, 17,2, 16,2, 14,8, 13,4, 13,2, 12,4, 11,1, 7,3, 6,5 ppm.

RMN ¹H (403 MHz, CD₂Cl₂) δ -13,00 (s, muy a., 1H), 6,90 (d, J = 7,9 Hz, 1H), 5,87 (dd, J = 9,7, 2,0 Hz, 1H), 5,74 (dd, J = 9,7, 2,9 Hz, 1H), 4,30 (ddd, J = 7,9, 2,7, 2,2 Hz, 1H), 4,18 (dd, J = 10,0, 3,5 Hz, 1H), 3,96-3,87 (m, 3H), 3,69 (d, J = 10,3 Hz, 1H), 3,61-3,51 (m, 3H), 2,93 (td, J = 10,9, 3,7 Hz, 1H), 2,86 (d, J = 4,8 Hz, 1H), 2,72-2,60 (m, 2H), 2,37 (s, 1H), 2,33-2,10 (m, 4H), 2,05-0,53 (m, 59H) ppm.

ESI-EM (m/z): [M+Na]⁺ calculado para C₄₈H₈₁NNaO₁₂⁺ 887,1; hallado 887.

35 Ejemplo 13

- Preparación de *N*-2,2,2-tricloroetilcarbamato de C20-deshidroxi-C20-aminosalinomicina con la fórmula (21):



- 40 Se procede como en el Ejemplo 1, excepto que en lugar de cloruro de acetilo (1,2 eq), se añadió cloroformiato de 2,2,2-tricloroetilo (18 mg, 1,2 eq) a la mezcla de reacción. Se obtuvo *N*-2,2,2-tricloroetilcarbamato de C20-deshidroxi-C20-aminosalinomicina con la fórmula (21) como un sólido blanco amorfo con 41 % de rendimiento.

Rendimiento: 32 mg, 41 %. Aislado como un sólido blanco amorfo; pureza >95 % por RMN y una única mancha en CCF.

Rf: 0,50 en acetato de etilo/n-hexano 33 %. Manchas verdes en ácido fosfomolibdico (PMA).

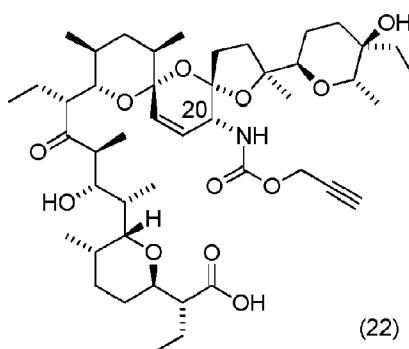
RMN ¹³C (101 MHz, CD₂Cl₂) δ 216,6, 178,0, 155,2, 129,6, 123,2, 105,5, 100,2, 89,8, 77,7, 76,2, 75,4, 75,1, 74,4, 72,2, 71,4, 69,1, 56,6, 51,8, 50,2, 49,2, 49,1, 41,7, 39,2, 37,4, 36,9, 33,3, 31,4, 30,4, 29,8, 28,5, 26,8, 26,6, 23,3, 22,9, 20,3, 18,2, 17,0, 16,0, 14,9, 13,5, 13,4, 12,4, 11,3, 7,1, 6,9 ppm.

RMN ¹H (403 MHz, CD₂Cl₂) δ -13,00 (s, muy a., 1H), 7,01 (d, J = 6,6 Hz, 1H), 6,09 (dd, J = 10,8, 2,7 Hz, 1H), 5,88 (dd, J = 10,7, 1,5 Hz, 1H), 4,70 (q, J = 12,1 Hz, 2H), 4,11 (ddd, J = 6,9, 2,6, 1,8 Hz, 1H), 4,07 (dd, J = 10,2, 0,9 Hz, 1H), 3,99 (dt, J = 8,7, 6,8 Hz, 3H), 3,94-3,86 (m, 3H), 3,57 (dd, J = 10,0, 2,0 Hz, 1H), 2,89 (td, J = 10,8, 4,1 Hz, 1H), 2,75 (dq, J = 9,7, 7,1 Hz, 1H), 2,63 (dd, J = 10,8, 2,0 Hz, 1H), 2,29-2,19 (m, 2H), 2,12-0,51 (m, 52H) ppm.

ESI-EM (m/z): [M+Na]⁺ calculado para C₄₅H₇₂Cl₃NNaO₁₂⁺ 948,4; hallado 948.

Ejemplo 14

Preparación de *N*-propargilcarbamato de C20-deshidroxi-C20-aminosalinomicina con la fórmula (22):



Se procede como en el Ejemplo 1, excepto que en lugar de cloruro de acetilo (1,2 eq), se añadió cloroforniato de propargilo (10 mg, 1,2 eq) a la mezcla de reacción. Se obtuvo *N*-propargilcarbamato de C20-deshidroxi-C20-aminosalinomicina con la fórmula (22) como un sólido blanco amorfo con 26 % de rendimiento.

Rendimiento: 14 mg, 26 %. Aislada como un sólido blanco amorfo; pureza >95 % por RMN y una única mancha en CCF.

Rf: 0,59 en acetato de etilo/n-hexano 50 %. Manchas verdes en ácido fosfomolibdico (PMA).

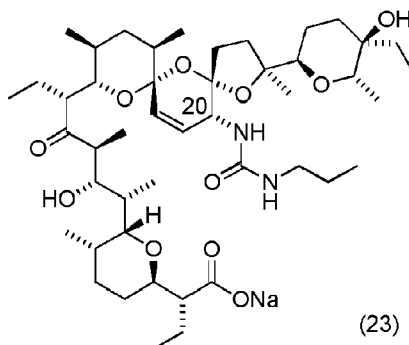
RMN ¹³C (101 MHz, CD₂Cl₂) δ 215,1, 177,3, 155,8, 129,7, 122,8, 105,7, 99,7, 89,7, 78,8, 77,3, 76,4, 75,1, 74,4, 74,3, 72,1, 71,3, 69,2, 56,5, 52,6, 50,9, 49,7, 48,5, 41,5, 38,9, 37,3, 36,5, 33,1, 31,1, 30,6, 29,5, 28,5, 26,7, 26,4, 23,1, 22,7, 20,3, 18,0, 16,8, 15,9, 14,6, 13,4, 13,3, 12,1, 11,3, 7,1, 6,5 ppm.

RMN ¹H (403 MHz, CD₂Cl₂) δ -13,00 (s, muy a., 1H), 6,68 (d, J = 6,9 Hz, 1H), 6,05 (dd, J = 10,8, 2,7 Hz, 1H), 5,83 (dd, J = 10,7, 1,5 Hz, 1H), 4,64 (dd, J = 15,6, 2,5 Hz, 1H), 4,54 (dd, J = 15,6, 2,5 Hz, 1H), 4,08 (ddd, J = 6,5, 3,3, 1,7 Hz, 2H), 4,00-3,83 (m, 4H), 3,58 (dd, J = 10,0, 1,7 Hz, 1H), 2,91 (td, J = 10,5, 4,2 Hz, 1H), 2,75 (ddd, J = 14,1, 9,8, 7,1 Hz, 1H), 2,58 (dd, J = 10,8, 1,5 Hz, 1H), 2,44 (t, J = 2,4 Hz, 1H), 2,19 (tt, J = 20,6, 10,3 Hz, 2H), 2,03-0,55 (m, 54H) ppm.

ESI-EM (m/z): [M+Na]⁺ calculado para C₄₆H₇₃NNaO₁₂⁺ 854,5; hallado 854.

Ejemplo 15

Preparación de propilurea de C20-deshidroxi-C20-aminosalinomicina con la fórmula (23):



Se añadió isocianato de propilo (18 mg, 3,0 eq.) a una disolución de C20-aminosalinomicina (50 mg, 1,0 eq.) en

cloruro de metileno anhidro (7 ml) a temperatura ambiente. Esto se agitó a temperatura ambiente hasta que finalizó la reacción, que se monitorizó por cromatografía en capa fina CCF.

Una vez finalizó la reacción, la mezcla de reacción se lavó con una disolución acuosa de bicarbonato sódico (0,1 M). La fase orgánica se evaporó hasta que se secó a presión reducida y el residuo se purificó usando un cromatógrafo CombiFlash® con detector ELS, usando una columna rellena de sílice y una mezcla de disolventes de acetato de etilo:n-hexano con un gradiente creciente de concentración de acetato de etilo desde el 0 % hasta el 100 %. Las fracciones combinadas que contenían propilurea de C20-deshidroxi-C20-aminosalinomicina con la fórmula (23) se evaporaron hasta que se secaron a presión reducida, el residuo se disolvió en cloruro de metileno y entonces se extrajo con una disolución acuosa de carbonato sódico (0,1 M). Las fases orgánicas combinadas se evaporaron otra vez hasta que se secaron a presión reducida, y luego se evaporaron repetidamente con n-pentano. Se obtuvo propilurea de C20-deshidroxi-C20-aminosalinomicina con la fórmula (23) como un sólido blanco amorfo con 66 % de rendimiento.

Rendimiento: 38 mg, 66 %. Aislada como un sólido blanco amorfo; pureza >95 % por RMN y una única mancha en CCF.

Rf: 0,64 en acetato de etilo/n-hexano 50 %. Manchas verdes en ácido fosfomolibdico (PMA).

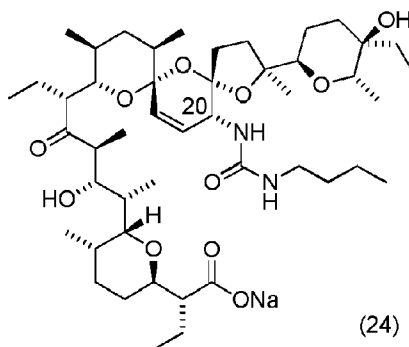
RMN ¹³C (101 MHz, CD₂Cl₂) δ 219,7, 185,0, 158,3, 130,3, 122,9, 107,2, 99,4, 88,9, 76,4, 76,3, 76,0, 74,4, 71,7, 71,4, 68,5, 56,7, 51,1, 50,3, 47,2, 42,5, 41,1, 39,2, 37,5, 36,4, 33,1, 33,0, 32,8, 30,3, 28,6, 28,3, 27,3, 24,13, 24,07, 20,5, 20,2, 17,8, 16,3, 16,1, 14,9, 13,4, 12,9, 12,5, 11,9, 11,1, 7,0, 6,8 ppm.

RMN ¹H (403 MHz, CD₂Cl₂) δ 6,06 (dd, J = 10,9, 3,0 Hz, 1H), 5,78 (t, J = 5,6 Hz, 1H), 5,68 (dd, J = 10,8, 1,9 Hz, 1H), 5,60 (d, J = 10,0 Hz, 1H), 5,55 (s, 1H), 4,88 (d, J = 4,8 Hz, 1H), 4,61 (ddd, J = 9,9, 2,9, 2,0 Hz, 1H), 4,31 (q, J = 6,9 Hz, 1H), 4,07 (ddd, J = 10,5, 4,7, 1,5 Hz, 1H), 3,81 (dd, J = 11,0, 4,7 Hz, 1H), 3,64 (dd, J = 10,1, 2,1 Hz, 1H), 3,60 (d, J = 10,2 Hz, 1H), 3,47 (dd, J = 12,4, 3,0 Hz, 1H), 3,05-2,97 (m, 2H), 2,82 (td, J = 11,1, 3,4 Hz, 1H), 2,76-2,66 (m, 2H), 2,25-0,50 (m, 59H) ppm.

ESI-EM (m/z): [M+H]⁺ calculado para C₄₆H₇₈N₂NaO₁₁⁺ 857,6; hallado 857.

Ejemplo 16

Preparación de butilurea de C20-deshidroxi-C20-aminosalinomicina con la fórmula (24):



Se procede como en el Ejemplo 15, excepto que en lugar de isocianato de propilo (3,0 eq), se añadió isocianato de butilo (21 mg, 3,0 eq) a la mezcla de reacción. Se obtuvo butilurea de C20-deshidroxi-C20-aminosalinomicina con la fórmula (24) como un sólido blanco amorfo con 91 % de rendimiento.

Rendimiento: 53 mg, 91 %. Aislada como un sólido blanco amorfo; pureza >95 % por RMN y una única mancha en CCF.

Rf: 0,70 en acetato de etilo/n-hexano 50 %. Manchas verdes en ácido fosfomolibdico (PMA).

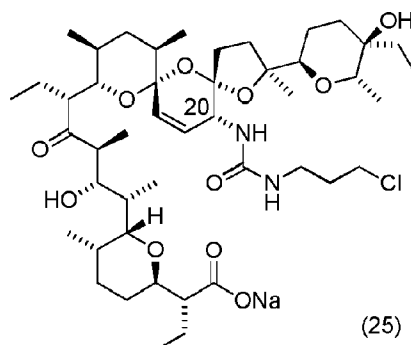
RMN ¹³C (101 MHz, CD₂Cl₂) δ 219,5, 184,9, 158,1, 129,9, 122,8, 106,9, 99,1, 88,7, 76,2, 75,8, 74,2, 71,5, 71,2, 68,2, 56,4, 50,8, 50,0, 47,0, 40,9, 40,4, 40,2, 38,9, 37,2, 36,2, 32,9, 32,8, 32,5, 28,3, 28,1, 28,0, 27,0, 23,9, 20,5, 20,4, 20,2, 20,0, 17,6, 16,1, 15,9, 14,7, 14,0, 13,2, 12,7, 12,3, 10,9, 6,8, 6,6 ppm.

RMN ¹H (403 MHz, CD₂Cl₂) δ 6,07 (dd, J = 10,9, 3,0 Hz, 1H), 5,79 (t, J = 5,5 Hz, 1H), 5,68 (dd, J = 10,8, 1,9 Hz, 1H), 5,62 (d, J = 10,0 Hz, 1H), 5,52 (s, J = 10,6 Hz, 1H), 4,85 (d, J = 4,7 Hz, 1H), 4,81-4,73 (m, 1H), 4,60 (ddd, J = 9,9, 2,9, 2,0 Hz, 1H), 4,30 (q, J = 6,8 Hz, 1H), 4,08 (ddd, J = 10,5, 4,7, 1,5 Hz, 1H), 3,82 (dd, J = 11,0, 4,7 Hz, 1H), 3,64 (dd, J = 10,2, 2,1 Hz, 1H), 3,60 (d, J = 10,1 Hz, 1H), 3,47 (dd, J = 12,4, 2,9 Hz, 1H), 3,14-3,01 (m, 4H), 2,83 (td, J = 11,1, 3,4 Hz, 1H), 2,71 (tt, J = 6,9, 5,5 Hz, 2H), 2,25-0,50 (m, 58H) ppm.

ESI-EM (m/z): [M+H]⁺ calculado para C₄₇H₈₀N₂NaO₁₁⁺ 872,1; hallado 872.

Ejemplo 17

Preparación de 3-cloropropilurea de C20-deshidroxi-C20-aminosalinomicina con la fórmula (25):



5

Se procede como en el Ejemplo 15, excepto que en lugar de isocianato de propilo (3,0 eq), se añadió isocianato de 3-cloropropilo (25 mg, 3,0 eq) a la mezcla de reacción. Se obtuvo 3-cloropropilurea de C20-deshidroxi-C20-aminosalinomicina con la fórmula (25) como un sólido blanco amorfo con 23 % de rendimiento.

10

Rendimiento: 14 mg, 23 %. Aislada como un sólido blanco amorfo; pureza >95 % por RMN y una única mancha en CCF.

Rf: 0,51 en acetato de etilo/*n*-hexano 50 %. Manchas verdes en ácido fosfomolibdico (PMA).

RMN ¹³C (101 MHz, CD₂Cl₂) δ 218,7, 184,2, 157,4, 129,0, 122,1, 106,2, 98,4, 88,0, 75,4, 75,3, 75,1, 73,5, 70,7, 70,6, 67,5, 55,7, 50,1, 49,2, 46,2, 42,5, 40,1, 38,2, 36,9, 36,6, 35,4, 33,2, 32,11, 32,07, 31,8, 27,6, 27,5, 27,3, 26,3, 23,1, 19,5, 19,3, 16,9, 15,4, 15,1, 13,9, 12,5, 12,0, 11,6, 10,2, 6,0, 5,9 ppm.

15

RMN ¹H (403 MHz, CD₂Cl₂) δ 6,06 (dd, J = 10,9, 3,0 Hz, 1H), 5,92 (t, J = 5,7 Hz, 1H), 5,72 (d, J = 9,9 Hz, 1H), 5,66 (dd, J = 10,8, 1,8 Hz, 1H), 5,58 (s, 1H), 4,79 (d, J = 4,6 Hz, 1H), 4,60 (ddd, J = 9,9, 2,8, 2,0 Hz, 1H), 4,30 (dd, J = 13,6, 6,8 Hz, 1H), 4,07 (ddd, J = 10,7, 4,5, 1,2 Hz, 1H), 3,81 (dd, J = 11,0, 4,7 Hz, 1H), 3,62 (dd, J = 10,2, 2,0 Hz, 1H), 3,60-3,49 (m, 2H), 3,46 (dd, J = 12,3, 2,9 Hz, 1H), 3,18 (dtdd, J = 20,0, 13,4, 6,5, 5,7 Hz, 2H), 2,82 (td, J = 11,1, 3,3 Hz, 1H), 2,76-2,64 (m, 2H), 2,25-0,50 (m, 57H) ppm.

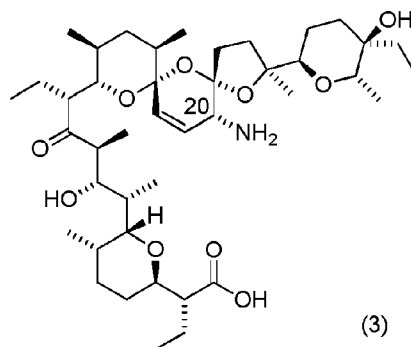
20

ESI-EM (m/z): [M+H]⁺ calculado para C₄₆H₇₇ClN₂NaO₁₁⁺ 891,5; hallado 891.

Ejemplo 18

25

Preparación de C20-aminosalinomicina con la fórmula (3):



30 Se añadió exceso de óxido de manganeso (IV) activado (231 mg, 20,0 eq.) en porciones a una disolución de salinomicina (100 mg, 1,0 eq.) con la fórmula (1) en cloruro de metileno (15 ml) a temperatura ambiente. Esto se agitó a temperatura ambiente hasta que finalizó la reacción, que se monitorizó por cromatografía en capa fina CCF.

35 Una vez finalizó la reacción, la mezcla de reacción se filtró a través de Celite. El filtrado se evaporó a continuación hasta que se secó a presión reducida y el residuo se purificó usando un cromatógrafo CombiFlash® con detector ELS, usando una columna rellena de sílice y una mezcla de disolventes de acetato de etilo:*n*-hexano con un gradiente creciente de concentración de acetato de etilo desde el 0 % hasta el 50 %. Las fases orgánicas combinadas que comprendían C20-oxosalinomicina con la fórmula (8) se evaporaron otra vez hasta que se secaron a presión reducida, y luego se evaporaron repetidamente con *n*-pentano. Se obtuvo C20-oxosalinomicina con la fórmula (8) como un sólido blanco amorfo (96 mg, 96 % de rendimiento).

40

En la siguiente etapa, se añadió una disolución de amoniaco (7,0 N en metanol, 0,7 ml) a la disolución de C20-oxosalinomicina (90 mg, 1,0 eq.) con la fórmula (8) en metanol (7 ml) a temperatura ambiente. Esto se mezcló a

temperatura ambiente durante 5 horas, seguido por la adición de $\text{CeCl}_3 \times 7\text{H}_2\text{O}$ (49 mg, 1,0 eq.), seguido por, después de 30 minutos, la adición lenta (durante la noche) de una disolución de cianoborohidruro de sodio - NaBH_3CN (17 mg, 2,0 eq.) en metanol (5 ml). El progreso de la reacción se monitorizó usando cromatografía en capa fina CCF.

5 Una vez finalizó la reacción, la mezcla de reacción se evaporó hasta que se secó a presión reducida y el residuo se purificó usando un cromatógrafo CombiFlash® con detector ELS, usando una columna rellena de sílice y una mezcla de disolventes de acetona:cloroformo con un gradiente creciente de concentración de acetona desde el 0 % hasta el 60 %. Las fases orgánicas combinadas que comprendían C20-aminosalinomicina con la fórmula (3) se evaporaron
10 otra vez hasta que se secaron a presión reducida, y luego se evaporaron repetidamente con *n*-pentano. Se obtuvo C20-aminosalinomicina con la fórmula (3) como un sólido blanco amorfo con 42 % de rendimiento.

Rendimiento: 38 mg, 42 %. Aislada como un sólido blanco amorfo; pureza >95 % por RMN y una única mancha en CCF.

15 Rf: 0,48 en acetona/cloruro de metileno 50 %. Manchas verdes en ácido fosfomolibdico (PMA).
RMN ^{13}C (101 MHz, CDCl_3) δ 216,0, 182,4, 132,3, 128,7, 107,0, 99,7, 86,9, 77,5, 76,3, 75,8, 72,6, 71,8, 71,2, 67,9, 55,3, 51,5, 50,7, 48,2, 38,7, 37,5, 37,4, 36,5, 32,4, 31,3, 30,3, 29,5, 28,2, 26,9, 25,0, 24,1, 22,2, 20,6, 17,5, 16,5, 15,7, 15,1, 13,13, 13,09, 12,6, 11,2, 7,2, 6,6 ppm.

20 RMN ^1H (403 MHz, CDCl_3) δ 6,61-6,49 (m, 1H), 6,43 (d, J = 9,3 Hz, 1H), 5,98 (d, J = 46,8 Hz, 2H), 4,47 (d, J = 9,0 Hz, 1H), 4,29 (d, J = 62,7 Hz, 1H), 4,10 (d, J = 6,0 Hz, 1H), 3,90 (dd, J = 10,2, 3,1 Hz, 1H), 3,75 (d, J = 9,5 Hz, 1H), 3,68-3,54 (m, 2H), 3,39 (d, J = 28,4 Hz, 1H), 2,85-2,74 (m, 1H), 2,68-2,52 (m, 2H), 2,47-2,10 (m, 2H), 2,10-0,50 (m, 54H) ppm.

ESI-EM (m/z): $[\text{M}+\text{H}]^+$ calculado para $\text{C}_{42}\text{H}_{72}\text{NO}_{10}^+$ 750,5; hallado 750.

25 Ejemplo 19

La Tabla 4 a continuación resume los resultados de prueba para los derivados de C20-epi-salinomicina frente a derivados correspondientes según la invención. Los resultados presentados muestran claramente que en ningún caso los derivados *epi* muestran mayor actividad que los derivados correspondientes según la invención. Para
30 algunas estirpes celulares probadas, derivados de salinomicina con el sustituyente en la posición C-20 situado en la posición *epi* muestran una ausencia completa de actividad, por lo que presentan una diferencia de órdenes de magnitud en comparación con los derivados según la invención.

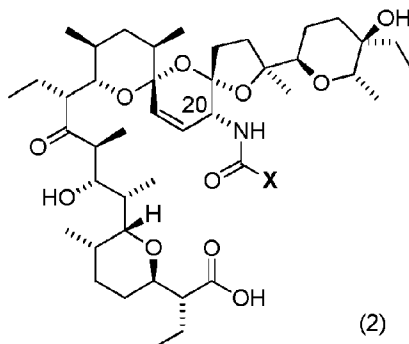
Tabla 4

Compuento de prueba	Células cancerosas												Células normales					
	B16-F0			Hs294T			LoVo			LoVo/DX			MCF-7			MV-4-11		BALB/3T3
	C ₅₀ (µM)	SI	C ₅₀ (µM)	C ₅₀ (µM)	SI	C ₅₀ (µM)	C ₅₀ (µM)	SI	C ₅₀ (µM)	RI	C ₅₀ (µM)	SI	C ₅₀ (µM)	SI	C ₅₀ (µM)	SI	C ₅₀ (µM)	
(10)	0,07	50,3	0,02	176,0	5,3	0,19	18,5	0,3	0,70	5,0	0,07	50,3	0,4	9,5	2,9	7,3	3,52	
(12)	0,56	30,5	0,07	243,9	27,1	1,55	11,0	2,5	0,90	19,0	0,20	85,4	0,20	85,4	2,5	17,07	3,8	
(12 epi)			NA															
(15)	0,02	81,5	0,02	81,5	5,1	0,05	32,6	0,2	0,28	5,8	0,06	27,2	0,28	5,8	27,2	1,63	1,63	
(15 epi)	0,4	2,5	0,08	12,5	5	0,63	1,6	3	1,1	0,9	0,033	30	1,1	0,9	30	1,0	1,0	
(19)	0,03	32,3	0,01	97,0	6,1	43,11	0,02	269,4	0,54	1,8	0,04	24,3	0,54	1,8	24,3	0,97	0,97	
(19 epi)	0,33	3	0,06	16	4,1	0,7	1,4	3	1,0	1	0,046	22	1,0	1	22	1	1	
(23)	0,07	22,0	0,01	154,0	25,7	0,15	10,3	2,5	0,37	4,2	0,0011	1400,0	0,37	4,2	1400,0	1,54	1,54	
(23 epi)			3,8	1,5														
(25)	0,01	135,0	0,0056	241,1	67,5	0,22	6,1	11,0	0,18	7,5	0,0003	4500,0	0,18	7,5	4500,0	1,35	1,35	
(25 epi)			4,9	1,1														
NA – no activo																		

REIVINDICACIONES

1. Un compuesto que constituye derivado de C20-N-acilo de salinomicina, teniendo el compuesto la fórmula general (2):

5



en donde:

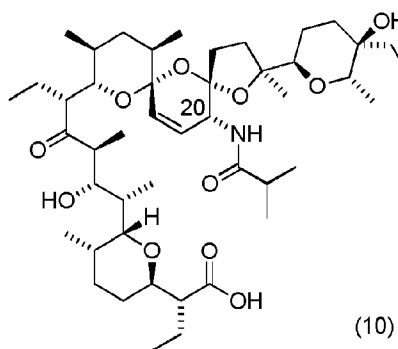
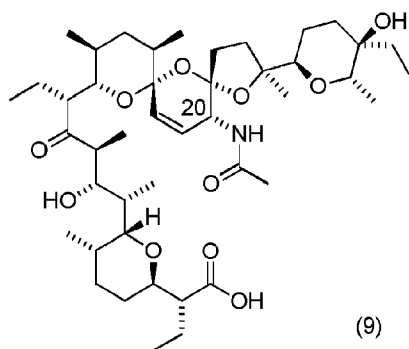
10 - X indica R, O-R o NH-R;

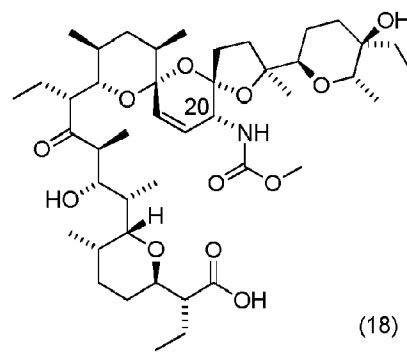
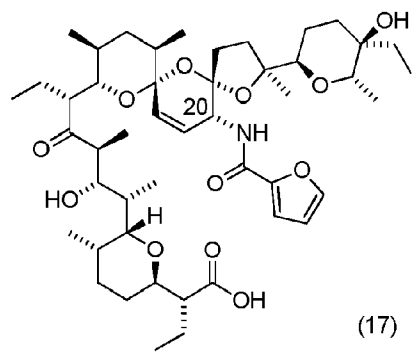
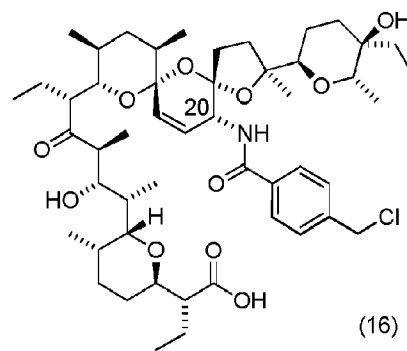
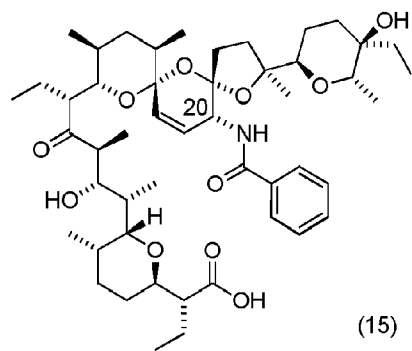
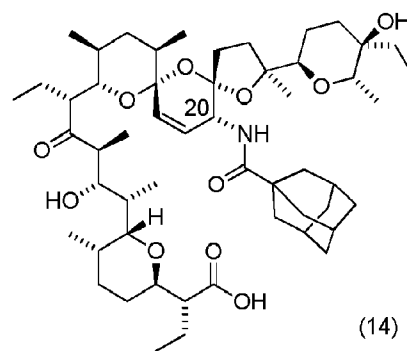
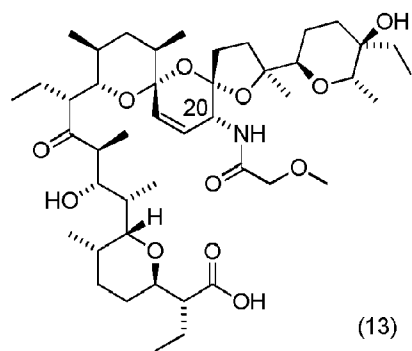
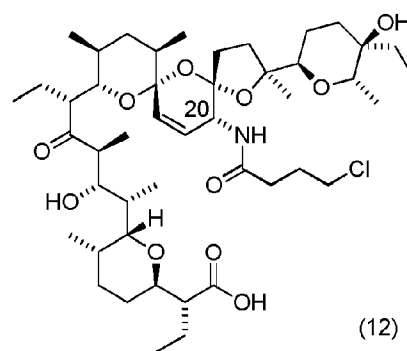
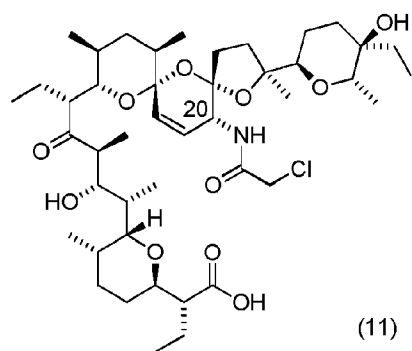
- R indica:

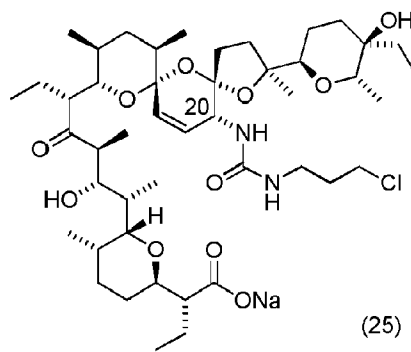
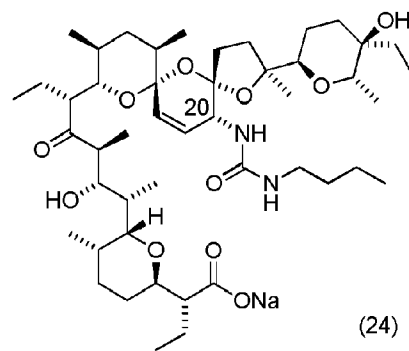
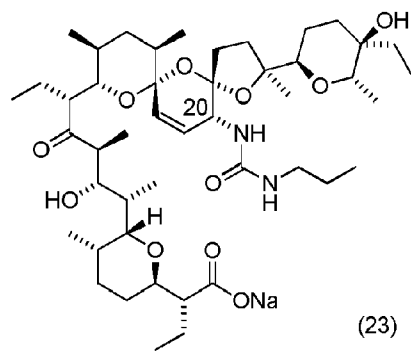
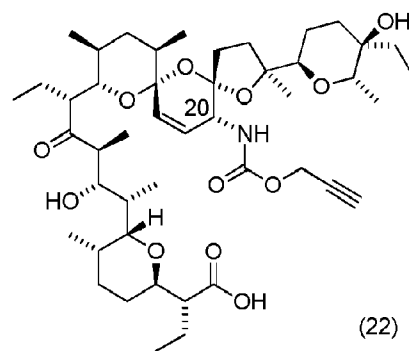
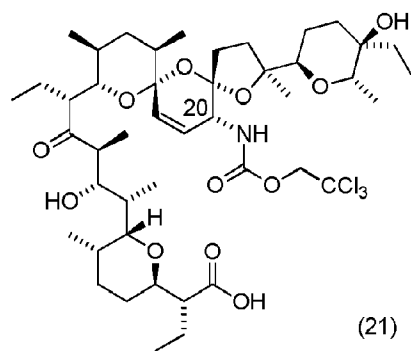
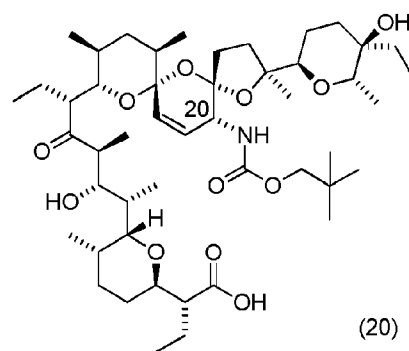
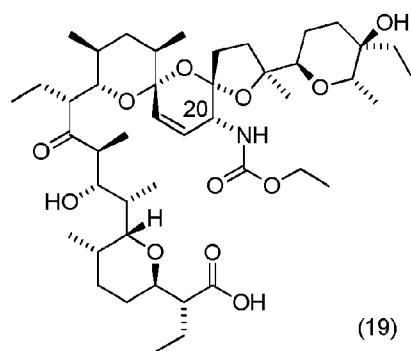
- 15 - un grupo alquilo de cadena lineal o cadena ramificada que comprende 1 a 10 carbonos,
- un grupo alquilo de cadena lineal o cadena ramificada que comprende 1 a 10 carbonos que está sustituido en cualquier posición de la cadena de carbonos con 1 a 5 halógenos, que pueden estar presentes en el mismo carbono o en carbonos diferentes,
- un grupo alquilo de cadena lineal que comprende 2 a 10 carbonos que comprende un resto éter en cualquier posición de la cadena de carbonos,
- 20 - un grupo alquilo de cadena lineal que comprende 3 a 10 carbonos que comprende múltiples enlaces, ya sea enlaces dobles o triples, en cualquier posición de la cadena de carbonos,
- un grupo alquilo monocíclico, dicíclico o tricíclico que comprende 5 a 10 carbonos,
- un grupo arilo aromático, en donde se prefieren aquellos que comprenden un anillo aromático de seis miembros,
- 25 - un grupo arilo aromático sustituido con 1 a 3 sustituyentes independientemente seleccionados de grupos alquilo, alcoxi, hidroxilo, nitro y nitrilo, o halógenos,
- un grupo heteroarilo aromático, en donde 1 o más carbonos están sustituidos con 1 o más heteroátomos de un grupo que comprende átomos de oxígeno, nitrógeno o azufre, o
- 30 - un grupo alquil-arilo, en donde el grupo arilo aromático como se ha definido anteriormente está unido a una molécula de salinomicina por una cadena de carbonos que comprende 1 a 5 carbonos (alquilo que comprende 1-5 carbonos);

o una sal del mismo.

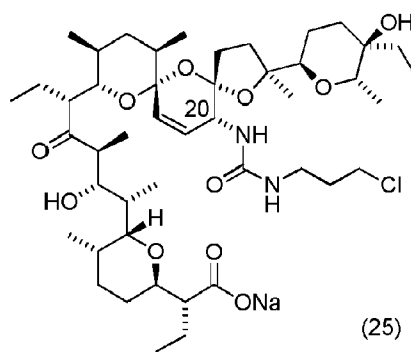
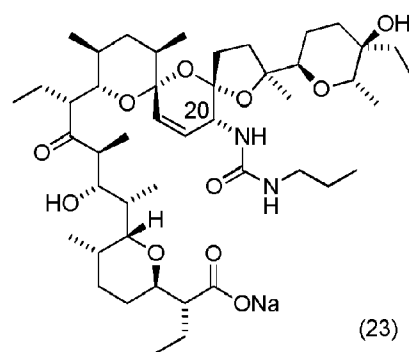
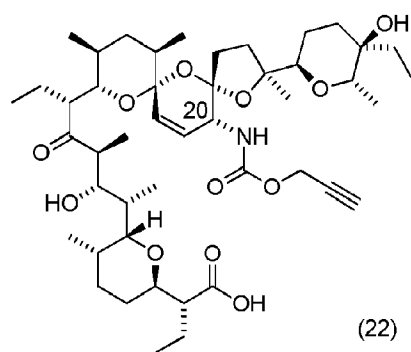
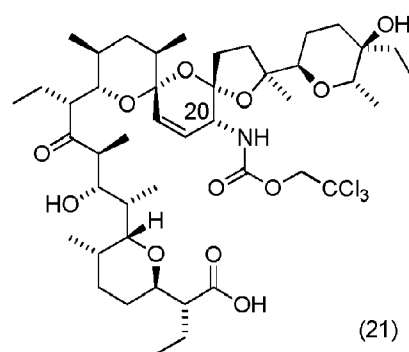
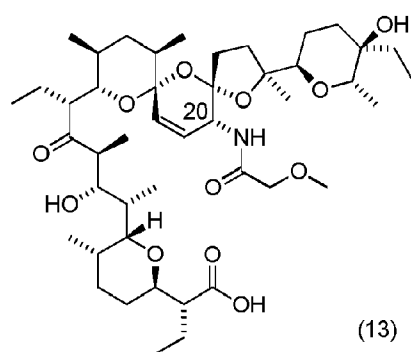
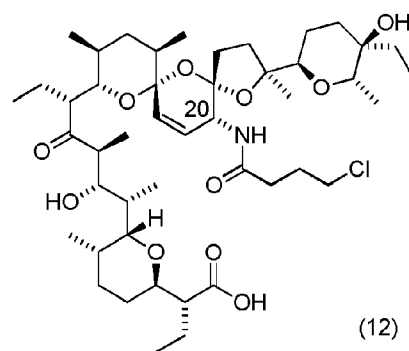
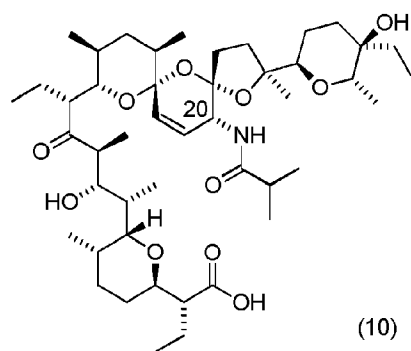
35 2. El compuesto según la reivindicación 1, que tiene la siguiente fórmula:



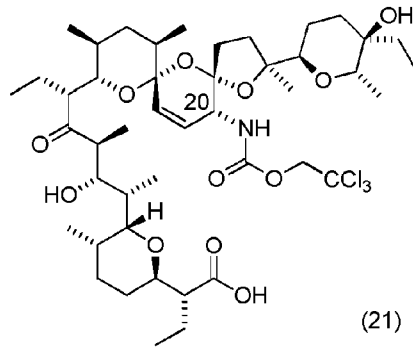




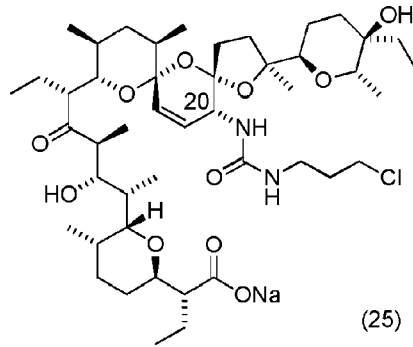
3. El compuesto según la reivindicación 1 o 2, que tiene la siguiente fórmula:



4. El compuesto según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, que tiene la siguiente fórmula:



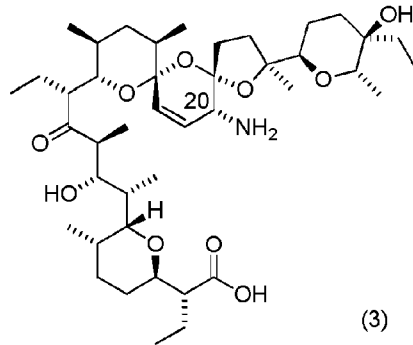
5. El compuesto según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, que tiene la siguiente fórmula:



5

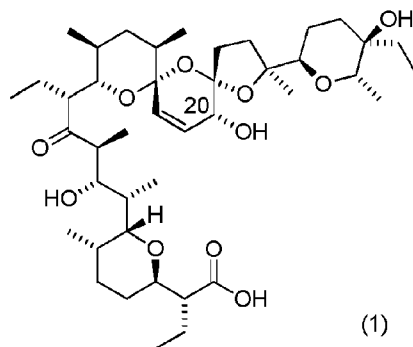
6. Una composición farmacéutica que comprende el compuesto de cualquiera de las reivindicaciones 1-5 y al menos un excipiente farmacéuticamente aceptable.

10 7. Un método de obtención de un producto intermedio para obtener el compuesto según cualquiera de las reivindicaciones 1-5, que constituye una C20-aminosalinomicina con la fórmula (3):

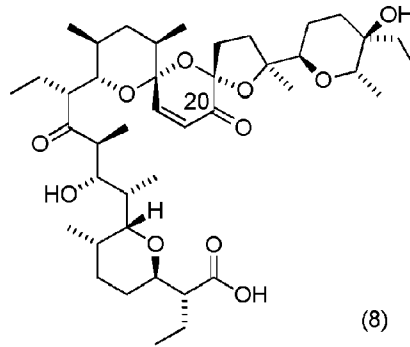


15 o una sal de la misma,
que comprende las etapas de:

c) oxidación quimioselectiva del grupo C20-hidroxi de salinomicina con la fórmula (1):

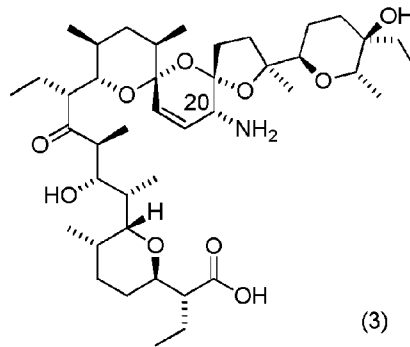


d) seguido por aminación reductora estereoselectiva de la C20-oxosalinomicina resultante con la fórmula (8):



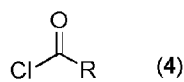
5 en donde una disolución alcohólica de amoniaco se usa como agente de aminación, dando como resultado la formación *in situ* de un derivado de imina que entonces se reduce con borohidruro de sodio o un derivado de borohidruro de sodio, en particular cianoborohidruro de sodio, en presencia de una sal de cerio.

10 8. Un método de obtención del compuesto según cualquiera de las reivindicaciones 1-5, que comprende hacer reaccionar C20-aminosalinomicina con la fórmula (3):

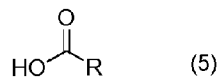


y:

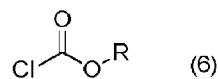
15 cloruro de ácido con la fórmula general (4):



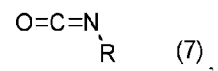
20 o ácido carboxílico con la fórmula general (5):



25 o cloroformiato con la fórmula general (6):



30 o isocianato con la fórmula general (7):



en donde R indica:

- 35
- un grupo alquilo de cadena lineal o cadena ramificada que comprende 1 a 10 carbonos,
 - un grupo alquilo de cadena lineal o cadena ramificada que comprende 1 a 10 carbonos que está sustituido

en cualquier posición de la cadena de carbonos con 1 a 5 halógenos, que pueden estar presentes en el mismo carbono o en carbonos diferentes,

- un grupo alquilo de cadena lineal que comprende 2 a 10 carbonos que comprende un resto éter en cualquier posición de la cadena de carbonos,

5 - un grupo alquilo de cadena lineal que comprende 3 a 10 carbonos que comprende múltiples enlaces, ya sea enlaces dobles o triples, en cualquier posición de la cadena de carbonos,

- un grupo alquilo monocíclico, dicíclico o tricíclico que comprende 5 a 10 carbonos,

- un grupo arilo aromático, en donde se prefieren aquellos que comprenden un anillo aromático de seis miembros,

10 - un grupo arilo aromático sustituido con 1 a 3 sustituyentes independientemente seleccionados de grupos alquilo, alcoxi, hidroxilo, nitro y nitrilo, o halógenos,

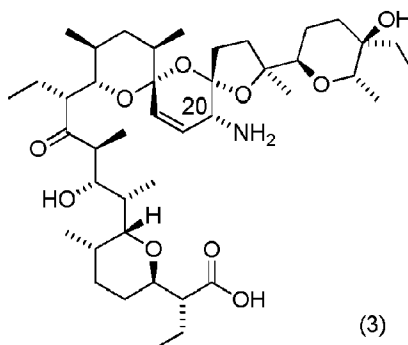
- un grupo heteroarilo aromático, en donde 1 o más carbonos están sustituidos con 1 o más heteroátomos de un grupo que comprende átomos de oxígeno, nitrógeno o azufre, o

15 - un grupo alquil-arilo, en donde el grupo arilo aromático como se ha definido anteriormente está unido a una molécula de salinomicina por una cadena de carbonos que comprende 1 a 5 carbonos (alquilo que comprende 1-5 carbonos);

opcionalmente, que comprende una etapa de transformar el compuesto resultante en forma ácida en una sal del mismo.

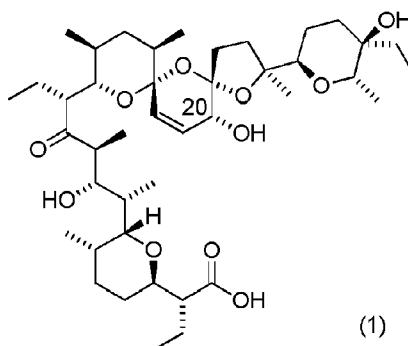
20 9. El método según la reivindicación 8, en donde:

a) en la primera etapa, se obtiene un producto intermedio con la fórmula (3):



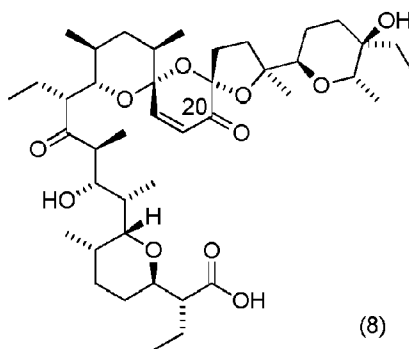
25

por la reacción de oxidación quimioselectiva del grupo C20-hidroxi de salinomicina con la fórmula (1):

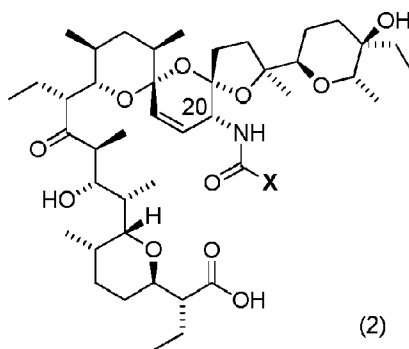


30

seguido por aminación reductora estereoselectiva de la C20-oxosalinomicina resultante con la fórmula (8):



b) en la segunda etapa, se obtiene un compuesto con la fórmula general (2):



5

en donde:

10

- X indica R, O-R o NH-R;
- R indica:

15

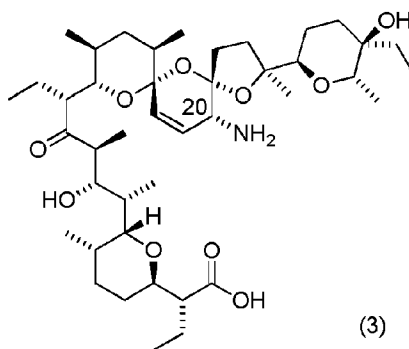
20

25

30

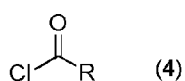
- un grupo alquilo de cadena lineal o cadena ramificada que comprende 1 a 10 carbonos,
- un grupo alquilo de cadena lineal o cadena ramificada que comprende 1 a 10 carbonos que está sustituido en cualquier posición de la cadena de carbonos con 1 a 5 halógenos, que pueden estar presentes en el mismo carbono o en carbonos diferentes,
- un grupo alquilo de cadena lineal que comprende 2 a 10 carbonos que comprende un resto éter en cualquier posición de la cadena de carbonos,
- un grupo alquilo de cadena lineal que comprende 3 a 10 carbonos que comprende múltiples enlaces, ya sea enlaces dobles o triples, en cualquier posición de la cadena de carbonos,
- un grupo alquilo monocíclico, dicíclico o tricíclico que comprende 5 a 10 carbonos,
- un grupo arilo aromático, en donde se prefieren aquellos que comprenden un anillo aromático de seis miembros,
- un grupo arilo aromático sustituido con 1 a 3 sustituyentes independientemente seleccionados de grupos alquilo, alcoxi, hidroxilo, nitro y nitrilo, o halógenos,
- un grupo heteroarilo aromático, en donde 1 o más carbonos están sustituidos con 1 o más heteroátomos de un grupo que comprende átomos de oxígeno, nitrógeno o azufre, o
- un grupo alquil-arilo, en donde el grupo arilo aromático como se ha definido anteriormente está unido a una molécula de salinomina por una cadena de carbonos que comprende 1 a 5 carbonos (alquilo que comprende 1-5 carbonos),

haciendo reaccionar C20-aminosalinomina con la fórmula (3):

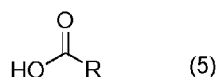


y:

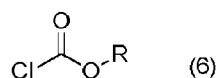
5 cloruro de ácido con la fórmula general (4):



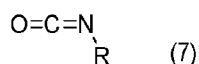
10 ácido carboxílico con la fórmula general (5):



15 cloroformiato con la fórmula general (6):



20 isocianato con la fórmula general (7):



25 en donde R es como se indica anteriormente;
opcionalmente, que comprende una etapa de transformar el compuesto resultante en forma ácida en una sal del mismo.

10. El compuesto según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5 para su uso como un medicamento.

30 11. El compuesto según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5 para su uso según la reivindicación 10 como un agente antineoplásico.

35 12. El compuesto según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5 para su uso según la reivindicación 10 u 11, en donde es para su uso en el tratamiento de afecciones seleccionadas del grupo que comprende leucemia, que incluye sin limitación leucemia mieloide aguda, leucemia mieloide crónica, leucemia linfoblástica aguda, mieloma múltiple; cáncer de pulmón de células no pequeñas, que incluye sin limitación carcinoma de pulmón de células epiteliales, adenocarcinoma de pulmón, cáncer de pulmón de células escamosas humanas; cáncer de intestino grueso (colon), que incluye sin limitación adenocarcinoma de intestino grueso, cáncer de colon de células epiteliales; tumor del sistema nervioso central, que incluye sin limitación tumores cerebrales, tales como glioma; melanoma, que incluye sin limitación melanoma maligno, melanoma epitelial, melanoma no epitelial; cáncer de ovario, que incluye sin limitación cáncer de ovario epitelial, cistadenocarcinoma de ovario; cáncer de riñón, que incluye sin limitación carcinoma de células renales; cáncer de próstata, que incluye sin limitación adenocarcinoma de próstata; cáncer de mama, que incluye sin limitación adenocarcinoma de mama, cáncer de mama inflamatorio, adenocarcinoma metastásico; cáncer de estómago; cáncer pancreático; sarcoma y cáncer del cuerpo del útero, así como su variante
45 resistente a fármacos; cáncer de cuello uterino; cáncer de vejiga.

13. El compuesto según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5 para su uso según una cualquiera de las reivindicaciones 10 a 12, en donde es para su uso en tratamiento de afecciones seleccionadas del grupo que

comprende melanoma, cáncer de colon, cáncer de mama y leucemia bifenotípica.