



19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

11 Número de publicación: **2 357 644**

51 Int. Cl.:
C07K 7/64 (2006.01)
A61K 38/15 (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Número de solicitud europea: **03779140 .7**
96 Fecha de presentación : **20.10.2003**
97 Número de publicación de la solicitud: **1572726**
97 Fecha de publicación de la solicitud: **14.09.2005**

54 Título: **Compuesto 4-metilhexanoico kahalalido F.**

30 Prioridad: **18.10.2002 PCT/GB02/04735**
26.02.2003 GB 0304367
24.06.2003 GB 0314725

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:
28.04.2011

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:
28.04.2011

73 Titular/es: **Pharma Mar, S.A.U.**
Polígono Industrial La Mina
Avda. de Los Reyes, 1
28770 Colmenar Viejo, Madrid, ES

72 Inventor/es: **Faircloth, Glynn, Thomas;**
Elices, Mariano;
Sasak, Halina;
Avilés Marín, Pablo Manuel y
Cuevas Marchante, María del Carmen

74 Agente: **Arias Sanz, Juan**

ES 2 357 644 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

Compuesto 4-metilhexanoico kahalalido f.

CAMPO DE LA INVENCION

5 La presente invención se dirige a nuevos compuestos antitumorales kahalalidos, en particular a análogos de kahalalido F, donde se ha sustituido el ácido alifático 5-metilhexanoico por ácido 4-metilhexanoico, composiciones farmacéuticas que los contienen y su uso como agentes antitumorales, antiviricos y antifúngicos y en el tratamiento de psoriasis.

ANTECEDENTES DE LA INVENCION

10 Los compuesto kahalalidos son péptidos aislados de una especie marina herbívora hawaiana de molusco, *Elysia rufescens* y su dieta, el alga verde *Bryopsis* sp. Se describen los kahalalidos A-F en Hamman *et al.*, J. Am. Chem. Soc., 1993, 115, 5825-5826.

Se describen los kahalalidos A-G en Hamann, M. *et al.*, J. Org. Chem, 1996, 61, 6594-6600: "Kahalalides: bioactive peptides from a marine mollusk *Elysia rufescens* and its algal diet *Bryopsis* sp."

15 Se describen kahalalido H y J en Scheuer P.J. *et al.*, J. Nat. Prod. 1997, 60, 562-567: "Two acyclic kahalalides from the sacoglossan mollusk *Elysia rufescens*".

Se describe el kahalalido O en Scheuer P.J. *et al.*, J. Nat. Prod. 2000, 63(1) 152-4: "A new depsipeptide from the sacoglossan mollusk *Elysia ornata* and the green alga *Bryopsis* species".

Para kahalalido K, véase, Kan, Y. *et al.*, J. Nat. Prod. 1999 62(8) 1169-72: "Kahalalide K: A new cyclic depsipeptide from the hawaiian green alga *bryopsis* species".

20 Para artículos relacionados, véanse también Goetz *et al.*, Tetrahedron, 1999, 55; 7739-7746: "The absolute stereochemistry of Kahalalide F"; Albericio, F. *et al.* Tetrahedron Letters, 2000, 41, 9765-9769: "Kahalalide B. Synthesis of a natural cyclodepsipeptide"; Becerro *et al.* J. Chem. Ecol. 2001, 27(11), 2287-99: "Chemical defenses of the sarcoglossan mollusk *Elysia rufescens* and its host Alga *bryopsis* sp."

25 De los compuestos kahalalidos, kahalalido F es el más prometedor debido a su actividad antitumoral. Su estructura es compleja, comprende seis aminoácidos como una parte cíclica, y una cadena exocíclica de siete aminoácidos con un grupo terminal ácido graso. Su actividad contra cultivos de células in vitro de carcinoma humano de pulmón A-549 y carcinoma de colon humano HT-29 se describió en el documento EP 610 078. También se ha demostrado que el kahalalido F tiene propiedades antiviricas y antifúngicas.

30 Estudios preclínicos *in vivo* determinaron que la dosis máxima tolerada (DMT) de kahalalido F en ratones hembra después de una única inyección intravenosa rápida era 280 µg/kg. Mientras que dosis únicas justo por encima de la DMT intravenosa eran extremadamente tóxicas, con animales que mostraban signos de neurotoxicidad seguida por muerte, se pudieron administrar repetidamente 280 µg/kg de kahalalido F, según un programa de una vez al día cinco veces, sin evidencias aparentes de toxicidad aguda. Véase, Supko, F. *et al.*, Proceedings of the 1999 AACR NCI EORTC International Conference, resumen 315: "Preclinical pharmacology studies with the marine natural product Kahalalide F".

El documento WO 02 36145 describe composiciones farmacéuticas que contienen kahalalido F y nuevos usos de este compuesto en terapia contra el cáncer.

El documento WO 03 33012, del que reivindicamos prioridad, describe el uso clínico en oncología de los compuestos kahalalidos.

40 El documento GB 0304367, del también se reivindica prioridad, describe el uso de compuestos kahalalidos en el tratamiento de psoriasis y enfermedades relacionadas.

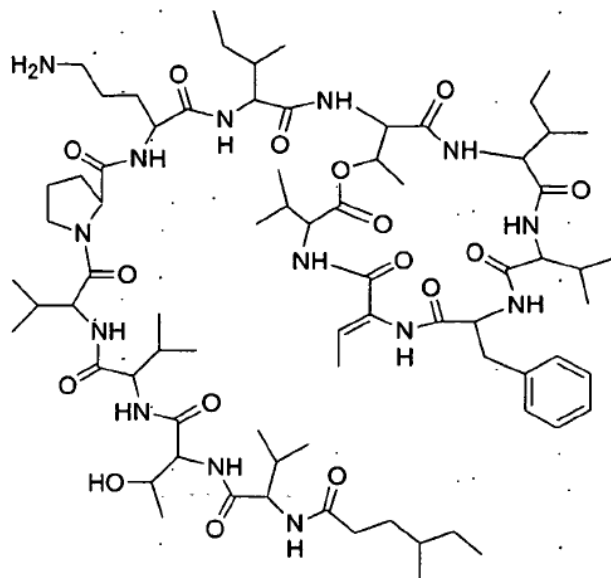
La síntesis y actividades citotóxicas de compuestos kahalalidos naturales y sintéticos se describen en el documento WO 01 58934, el documento WO 01 58934 describe la síntesis de kahalalido F y también de compuestos con una estructura similar en los que la cadena terminal de ácido graso se sustituye por otros ácidos grasos.

45 Existe aún una necesidad de proporcionar compuestos antitumorales adicionales, en particular compuestos kahalalidos adicionales con propiedades mejoradas.

COMPENDIO DE LA INVENCION

Se ha descubierto inesperadamente que uno de los compuestos análogos de kahalalido muestra actividad prometedora y eficacia antitumoral mejorada en modelos *in vivo*.

50 La presente invención se dirige a un compuesto de fórmula 1:

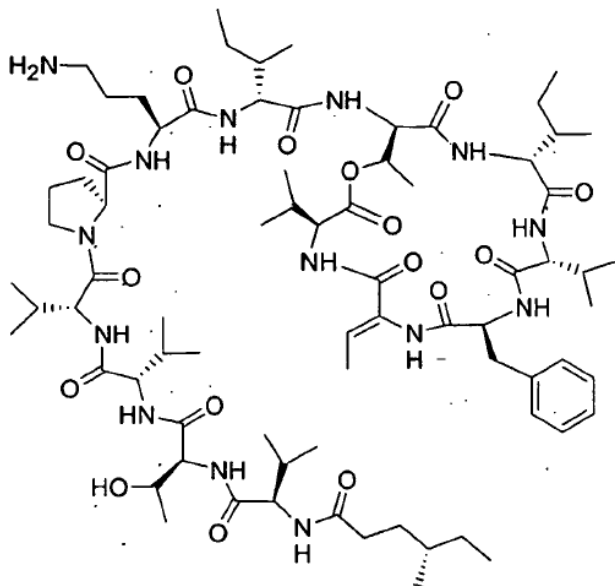


Fórmula 1

y a sales, profármacos, tautómeros y solvatos farmacéuticamente aceptables del mismo.

5 Este compuesto corresponde a kahalalido F con una cadena terminal de ácido graso 4-metilhexanoico y se denominará de aquí en adelante 4-metilhexanoico KF.

En una forma de realización preferida la invención se dirige al compuesto que contiene ácido (4S)-metilhexanoico, que tiene la fórmula 2:



Fórmula 2

10 y a sales, profármacos, tautómeros y solvatos farmacéuticamente aceptables del mismo. Este compuesto se denominará de aquí en adelante (4S)-metilhexanoico KF.

La presente invención también se dirige a una composición farmacéutica que comprende un compuesto como se ha definido previamente y un soporte, vehículo o diluyente farmacéuticamente aceptable.

15 La presente invención proporciona además un método de tratar cualquier mamífero, particularmente un ser humano, afectado por cáncer o psoriasis que comprende administrar al individuo afectado una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto como se ha definido anteriormente.

La presente invención se puede emplear en particular para el tratamiento de pacientes con cánceres resistentes que no responden de forma favorable a otros tratamientos. En particular, las composiciones de esta invención se pueden emplear después de haber probado otra quimioterapia y que no haya funcionado.

La presente invención se dirige en particular al tratamiento de pacientes afectados con cáncer de próstata, cáncer de mama, carcinoma hepatocelular, melanoma, cáncer colorrectal, cáncer de riñón, cáncer de ovario, cáncer de pulmón no microcítico (cáncer NSCL), cáncer epitelial, cáncer de páncreas y tumores que sobreexpresan el oncogén Her2/neu.

En otro aspecto la presente invención se dirige al uso de un compuesto como se ha definido anteriormente en la fabricación de un medicamento. En una forma de realización preferida el medicamento es para el tratamiento de cáncer, psoriasis, infección vírica o infección fúngica.

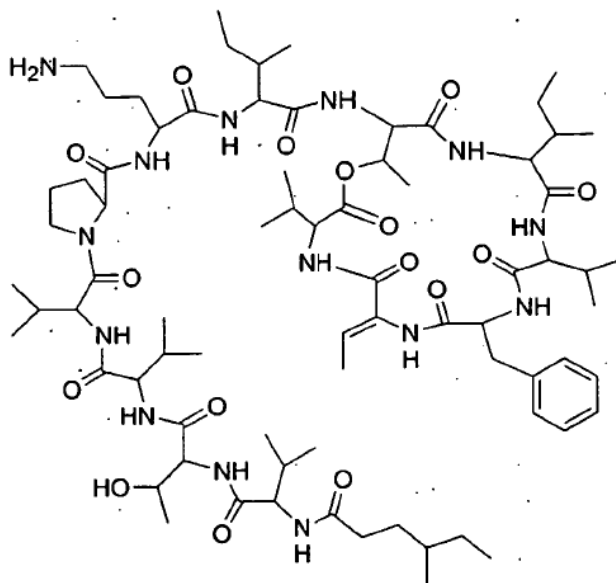
La invención proporciona además kits que comprenden envases separados que contienen una composición farmacéutica que comprende un compuesto como se ha definido anteriormente y un agente reconstituyente. También se proporcionan métodos de reconstitución.

La invención también se dirige a un proceso para la preparación de un compuesto como se ha definido anteriormente. Preferiblemente el proceso usa ácido 4-metilhexanoico como material de partida. En una forma de realización preferida el ácido 4-metilhexanoico es ácido (4S)-metilhexanoico. En una forma de realización más preferida el proceso es una síntesis en fase sólida.

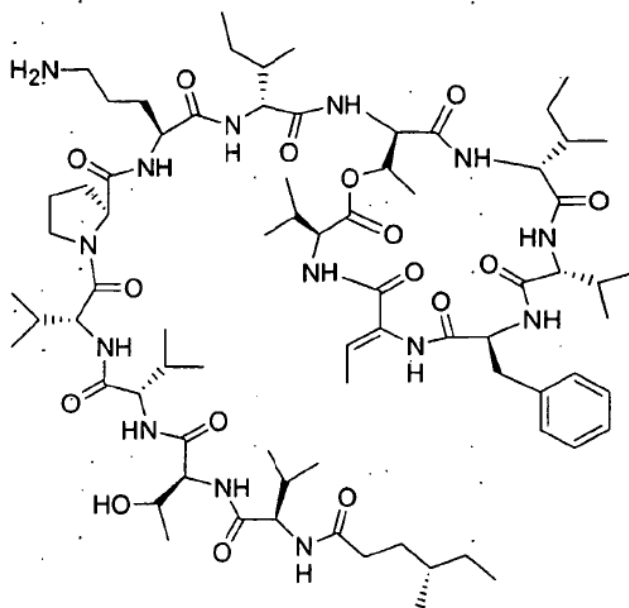
DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCÓN

Se han identificado análogos de kahalalido F que muestran mejora significativa en actividad con respecto a kahalalido F. Como se muestra en los ejemplos comparativos, el 4-metilhexanoico KF ha mostrado de forma inesperada eficacia significativa mejorada en modelos de cáncer *in vivo*. Esto es lo más sorprendente en vista de la pequeña diferencia estructural entre 4-metilhexanoico KF y 5-metilhexanoico KF.

El compuesto de la invención es kahalalido F con una cadena de ácido graso 4-metilhexanoico en lugar de 5-metilhexanoico, y tiene una estructura según la fórmula 1:



En particular se prefiere que el compuesto tenga una estereoquímica como se define por la fórmula 2:



No obstante los compuestos de la presente invención tienen centros asimétricos y por tanto existen en diferentes formas enantioméricas y diastereoméricas. Esta invención se refiere al uso de todos los isómeros ópticos y estereoisómeros de los compuestos de la presente invención, y mezclas de los mismos, y a todas las composiciones farmacéuticas y métodos de tratamiento que pueden emplearlos o contenerlos.

Por conveniencia, los compuestos de esta invención se denominan, particularmente los compuestos 1 y 2, compuestos 4-metilhexil kahalalido F, o compuestos 4-mehexKF. Preferiblemente los compuestos 4-mehexKF de esta invención están en su mayor parte libres, sustancialmente libres o completamente libres de otros compuestos kahalalidos. Por ejemplo, el 4-mehexKF de esta invención está preferiblemente libre de kahalalido F que tiene una cadena lateral 5-metilhexilo. En particular, el 4-mehexKF de esta invención preferiblemente contiene como máximo el 25%, el 10%, el 5%, el 2%, el 1% o el 0,5%, o menos del 0,5% de cualquier otro kahalalido, en particular kahalalido F. En un aspecto relacionado, el 4-mehexKF de esta invención se proporciona en una forma sustancialmente pura. Tal compuesto 4-mehexKF libre en algún grado de otros kahalalidos es especialmente adecuado para composiciones farmacéuticas y métodos de tratamiento de esta invención.

La presente invención incluye los compuestos de la presente invención, y las sales farmacéuticamente aceptables de los mismos, en donde uno o más hidrógenos, carbonos u otros átomos se sustituyen por isótopos de los mismos. Tales compuestos pueden ser útiles como herramientas de investigación y diagnóstico en estudios farmacocinéticos de metabolismo y en ensayos de unión.

Como se usa aquí, los compuestos de esta invención, incluyendo los compuestos de fórmula 1 y 2, se definen para incluir derivados o profármacos farmacéuticamente aceptables de los mismos. Un "derivado o profármaco farmacéuticamente aceptable" significa cualquier sal, éster, sal de un éster u otro derivado farmacéuticamente aceptable de un compuesto de esta invención que, tras administración a un receptor, es capaz de proporcionar (directa o indirectamente) un compuesto de esta invención o un metabolito o residuo del mismo. Derivados y profármacos particularmente favorecidos son los que aumentan la biodisponibilidad de los compuestos de esta invención cuando tales compuestos se administran a un paciente (por ejemplo, dejando que un compuesto administrado por vía oral se absorba más fácilmente en la sangre), aumentan la distribución del compuesto parental a un compartimento biológico determinado, aumentan la solubilidad para permitir la administración por inyección, alteran el metabolismo o alteran la velocidad de excreción.

Las sales de los compuestos de la presente invención pueden comprender sales de adición ácida derivadas de un nitrógeno en el compuesto de fórmula 1 o 2. La actividad terapéutica reside en el grupo derivado del compuesto de la invención como se ha definido aquí y la identidad del otro componente es de menor importancia aunque para fines terapéuticos y profilácticos es, preferiblemente, farmacéuticamente aceptable para el paciente. Ejemplos de sales de adición ácida farmacéuticamente aceptables incluyen las derivadas de ácidos minerales, tales como ácidos clorhídrico, bromhídrico, fosfórico, metafosfórico, nítrico y sulfúrico, y ácidos orgánicos, tales como ácidos tartárico, acético, trifluoroacético, cítrico, málico, láctico, fumárico, benzoico, glicólico, glucónico, succínico y metanosulfónico y arilsulfónico, por ejemplo, p-toluenosulfónico. Una sal preferida es la sal trifluoroacética.

Los compuestos de la presente invención se pueden preparar según el proceso sintético descrito en el documento WO 01 58934, por ejemplo añadiendo el ácido (S) o (R) 4-metilhexanoico apropiado en lugar de 5-metilhexanoico en el ejemplo 3 del documento WO 01 58934. Por tanto, la invención también abarca un proceso

para preparar un compuesto según la fórmula 1 o 2. Preferiblemente el proceso usa ácido 4-metilhexanoico como material de partida. Lo más preferiblemente el material de partida es ácido (4S)-metilhexanoico. La síntesis es preferiblemente un proceso sintético en fase sólida. En los ejemplos se dan detalles adicionales sobre la síntesis.

5 El proceso de esta invención se puede llevar a cabo a partir de materiales de partida de una manera enantio-, estereocontrolada y rápida, aprovechando la metodología sintética de fase sólida, donde la molécula en construcción está unida a un soporte insoluble durante todas las operaciones de síntesis.

10 Las formulaciones farmacéuticas de los compuestos de la invención se pueden adaptar para la administración por cualquier vía apropiada, por ejemplo por la vía oral (incluyendo yugal o sublingual), rectal, nasal, tópica (incluyendo yugal, sublingual o transdérmica), vaginal o parenteral (incluyendo subcutánea, intramuscular, intravenosa o intradérmica). Tales formulaciones se pueden preparar por cualquier método conocido en la técnica de la farmacia, por ejemplo, asociando el principio activo con el/los soporte(s) o excipiente(s).

15 Preferiblemente las composiciones farmacéuticas de los compuestos de la invención incluyen líquidos (soluciones, suspensiones o emulsiones) con composición adecuada para la administración intravenosa, y pueden contener el compuesto puro o en combinación con cualquier soporte u otros compuestos farmacológicamente activos. Se pueden encontrar directrices adicionales respecto a las composiciones farmacéuticas en el documento WO 02 36145 que se incorpora aquí mediante referencia en su totalidad.

20 De esta manera, una combinación de un tensioactivo no iónico y un ácido orgánico es adecuada para su uso con un agente de carga para dar una forma liofilizada de un compuesto de la invención adecuada para reconstitución. La reconstitución se efectúa preferiblemente con una mezcla de solubilizador emulsionante, alcohol y agua.

La composición liofilizada preferiblemente comprende principalmente el agente de carga, tal como al menos el 90% o al menos el 95% de agente de carga. Ejemplos de agentes de carga se conocen bien e incluyen sacarosa y manitol. Se pueden emplear otros agentes de carga.

25 El tensioactivo no iónico en la composición liofilizada es preferiblemente un éster sorbitano, más preferiblemente un éster sorbitano de polioxietileno, tal como un alcanoato sorbitano de polioxietileno, en especial un monooleato sorbitano de polioxietileno, por ejemplo polisorbato 80. El tensioactivo no iónico típicamente comprende un pequeño % de la composición, tal como del 0 al 5% de la composición, por ejemplo del 2 al 3 o al 4% de la composición.

30 El ácido orgánico en la composición liofilizada típicamente es un ácido alifático, preferiblemente un ácido hidroxicarboxílico y más preferiblemente un ácido hidroxipolicarboxílico, particularmente ácido cítrico. El ácido orgánico típicamente comprende un pequeño % de la composición, tal como del 0 al 5% de la composición, por ejemplo del 2 al 3 o al 4% de la composición.

35 La cantidad del compuesto de la invención en la composición liofilizada típicamente es menos del 1%, o con frecuencia menos del 0,1%, de la mezcla. Una cantidad adecuada está en el intervalo de 50 a 200 µg, digamos alrededor de 100 µg, por 100 mg de composición.

40 El solubilizador emulsionante para el agente reconstituyente comprende de forma adecuada un éster de polietilenglicol, en particular un éster de un ácido graso, más preferiblemente un oleato de PEG tal como oleato de PEG-35. El solubilizador emulsionante es de forma adecuada del 0 al 10% del agente reconstituyente, típicamente alrededor del 3 al 7%, digamos alrededor del 5%. El alcohol normalmente es etanol, y es de forma adecuada del 0 al 10% del agente reconstituyente, típicamente alrededor del 3 al 7%, digamos alrededor del 5%. El resto del agente reconstituyente es agua, y da una solución reconstituida adecuada para inyección intravenosa.

La dilución adicional de la solución reconstituida con solución salina al 0,9% puede ser apropiada para la infusión del compuesto kahalalido. El equipo adecuado de infusión preferiblemente incluye un envase de vidrio, mejor que uno de polietileno. Los tubos son preferiblemente de silicona.

45 El agente reconstituyente preferido comprende del 2 al 7%, digamos alrededor del 5%, de solubilizador emulsionante; del 2 al 7%, digamos alrededor del 5%, de alcohol; y el resto agua.

La formulaciones se pueden presentar en envases unidos o multidosis, por ejemplo ampollas y viales sellados, y se pueden almacenar en una condición liofilizada que requiere solo la adición del soporte líquido estéril, por ejemplo agua para inyecciones, justo antes de usar.

50 De esta manera la invención proporciona además kits que comprenden envases separados que contienen la composición liofilizada y el agente reconstituyente. También se proporcionan métodos de reconstitución.

55 La administración de los compuestos o composiciones de la presente invención es mediante infusión intravenosa. Se pueden usar tiempos de infusión de hasta 72 horas, más preferiblemente de 1 a 24 horas, con alrededor de 1 o alrededor de 3 horas lo más preferido. Los tiempos cortos de infusión que permiten que el tratamiento se lleve a cabo sin pernoctar en el hospital son especialmente deseables. Sin embargo, la infusión puede ser alrededor de 24 horas o incluso más larga si se requiere.

La administración se realiza en ciclos, en el método de aplicación preferido, se da a los pacientes una infusión intravenosa de un compuesto de la invención la primera semana de cada ciclo, se deja que los pacientes se recuperen durante el resto del ciclo. La duración preferida de cada ciclo es de 1, 3 o 4 semanas; se pueden dar múltiples ciclos según sea necesario. En un protocolo de dosificación alternativo, el compuesto de la invención se administra durante digamos alrededor de 1 hora durante 5 días consecutivos cada tres semanas. Se pueden idear otros protocolos como variaciones.

Se realizan retrasos de dosis y/o reducciones de dosis y ajustes de programa según sea necesario dependiendo de la tolerancia del paciente individual de tratamientos, en particular se recomiendan reducciones de dosis para pacientes con niveles en suero mayores de lo normal de transaminasas hepáticas o fosfatasa alcalina.

En un aspecto, la presente invención proporciona un método para tratar un paciente humano afectado con cáncer, que comprende administrar a dicho paciente un compuesto de la invención a una dosis por debajo de 1200 mcg/m²/día, preferiblemente por debajo de 930 mcg/m²/día y más preferiblemente por debajo de 800 mcg/m²/día. De forma adecuada la dosis es al menos de 320 mcg/m²/día. Preferiblemente la dosis está en el intervalo de 400-900 mcg/m²/día, preferiblemente de 500-800 mcg/m²/día, más preferiblemente de 600-750 mcg/m²/día. En especial se prefieren dosis de alrededor de 650-700 mcg/m²/día.

En un aspecto adicional la invención proporciona un método para tratar un paciente humano afectado con cáncer, que comprende administrar a dicho paciente un compuesto de la invención a diario durante 5 días a una dosis por debajo de 930 mcg/m²/día, seguido por un periodo de descanso de 1 a 4 semanas en el que el compuesto kahalalido no se administra. La dosis es preferiblemente de 650-750 mcg/m²/día, más preferiblemente alrededor de 700 mcg/m²/día. El tiempo de infusión es preferiblemente entre 1 y 24 horas, más preferiblemente entre 1 y 3 horas. Especialmente preferido es un tiempo de infusión de alrededor de 1 hora o alrededor de 3 horas. El periodo de descanso es preferiblemente de 2-3 semanas, más preferiblemente alrededor de 2 semanas.

La presente invención también proporciona un método para tratar un paciente humano afectado con cáncer, que comprende administrar a dicho paciente un compuesto de la invención una vez a la semana a una dosis por debajo de 800 mcg/m²/día. La dosis es preferiblemente de 600-700 mcg/m²/día, más preferiblemente de 650 mcg/m²/día. El tiempo de infusión es preferiblemente entre 1 y 24 horas, más preferiblemente entre 1 y 3 horas. Especialmente preferido es un tiempo de infusión de alrededor de 1 hora.

Aunque anteriormente se dan directrices para las dosis, la dosificación correcta del compuesto variará según la formulación particular, el modo de aplicación y el sitio, huésped y tumor particulares a ser tratado. Se deben considerar otros factores como edad, peso corporal, sexo, dieta, tiempo de administración, velocidad de excreción, estado del huésped, combinaciones de fármacos, sensibilidades de reacción y gravedad de la enfermedad. La administración se puede llevar a cabo de forma continua o periódicamente con la dosis máxima tolerada.

La presente invención se dirige en particular al tratamiento de pacientes afectados con cáncer de próstata, cáncer de mama, carcinoma hepatocelular, melanoma, cáncer colorrectal, cáncer de riñón, cáncer de ovario, cáncer NSCL, cáncer epitelial, cáncer de páncreas y tumores que sobreexpresan el oncogén Her2/neu. Lo más preferiblemente se dirige al tratamiento de cáncer hepatocelular, melanoma, cáncer de mama y próstata.

La presente invención también se dirige a un método de tratar una enfermedad de la piel que implica la hiperproliferación de células de la dermis en un mamífero que comprende administrar al mamífero una cantidad eficaz, no tóxica, de un compuesto de la invención. La enfermedad de la piel es preferiblemente psoriasis. La presente invención se dirige preferiblemente al tratamiento de pacientes humanos afectados con psoriasis, en particular psoriasis grave.

Los compuestos y composiciones de esta invención se pueden usar con otros fármacos para proporcionar una terapia de combinación. Los otros fármacos pueden formar parte de la misma composición, o ser suministrados como una composición separada para administrar al mismo tiempo o a un tiempo diferente. La identidad del otro fármaco no está particularmente limitada, aunque se prevé la combinación con otros agentes quimioterapéuticos, hormonales o anticuerpos. Las cantidades del compuesto de la invención y del/de los otro(s) agente o agentes farmacéuticamente activo(s) y sus tiempos de administración relativos se seleccionarán para alcanzar el efecto terapéutico combinado deseado.

EJEMPLOS

Ejemplo 1: Preparación de (4S)-metilhexanoico KF

Los procedimientos generales y los pasos iniciales del proceso son como se describen en el documento WO 01 58934.

(4S)-MeHex-D-Val-Thr(tBu)-Val-D-Val-D-Pro-Orn(Boc)-D-*alo*-Ile-D-*alo*-Thr(Val-Al_oC)-D-*alo*-Ile-D-Val-O--TrtCl-resina:

Se eliminó el grupo Fmoc y se añadieron secuencialmente Fmoc-Val-OH (678 mg, 2 mmoles, 4 equiv), Fmoc-Thr(tBu)-OH (992 mg, 2,5 mmoles, 5 equiv), Fmoc-D-Val-OH (678 mg, 2 mmoles, 4 equiv) y (4S)-MeHex-OH (195 mg, 1,5 mmoles, 3 equiv) a la peptidil-resina anterior (ejemplo 3) usando DIPCDI (233 µL, para 1,5 mmoles y 3

equiv; 310 μ L, para 2 mmoles y 4 equiv; y 388 μ L, para 2,5 mmoles, 5 equiv) y HOBt (230 mg, para 1,5 mmoles y 3 equiv; 307 mg, para 2 mmoles y 4 equiv; y 395 mg, 2,5 mmoles 5 equiv) durante 90 minutos. En todos los casos, después de 90 minutos de acoplamiento, la prueba de ninhidrina fue negativa. La eliminación del grupo Fmoc y los lavados se llevaron a cabo como se describe en los procedimientos generales.

5 (4S)-MeHex-D-Val-Thr(*t*Bu)-Val-D-Val-D-Pro-Orn(Boc)-D-*alo*-Ile-D-*alo*-Thr(Val-Z-Dhb-Phe-Aloc)-D-*alo*-Ile-D-Val-O-TrtCl-resina:

10 Se eliminó el grupo Aloc con Pd(PPh₃)₄ (58 mg, 0,05 mmoles, 0,1 equiv) en presencia de PhSiH₃ (617 μ L, 5 mmoles, 10 equiv) en una atmósfera de Ar y se disolvieron Aloc-Phe-Z-Dhb-OH (666 mg, 2 mmoles, 4 equiv) y HOAt (273 mg, 2 mmoles, 4 equiv) en DMF (1,25 mL) y se añadieron a la peptidil-resina, después se añadió DIPCDI (310 μ L, 2 mmoles, 4 equiv) y la mezcla se agitó durante 5 horas, donde la prueba de ninhidrina fue negativa. Después de lavados con DMF y CH₂Cl₂, se trató una alícuota de la peptidil-resina con TFA-H₂O (1:99) durante 1 minuto y el producto se caracterizó mediante MALDI-TOF-MS, calculado para C₈₈H₁₄₆N₁₄O₂₁, 1.736,18. Determinado: *m/z* 1.758,67 [M+Na]⁺, 1.774,62 1.618,2 [M+K]⁺.

15 (4S)-MeHex-D-Val-Thr(*t*Bu)-Val-D-Val-D-Pro-Orn(Boc)-D-*alo*-Ile-D-*alo*-Thr(Val-Z-Dhb-Phe-H)-D-*alo*-Ile-D-Val-OH:

20 Después de los lavados con DMF y CH₂Cl₂, se eliminó el grupo Aloc con Pd(PPh₃)₄ (58 mg, 0,05 mmoles, 0,1 equiv) en presencia de PhSiH₃ (617 μ L, 5 mmoles, 10 equiv) en una atmósfera de Ar. El péptido protegido se cortó de la resina mediante TFA-CH₂Cl₂ (1:99) (5 x 30 segundos). El filtrado se recogió con H₂O (4 mL) y el H₂O se eliminó parcialmente en un rotavapor. Se añadió después ACN para disolver el sólido que apareció durante la eliminación del H₂O y la solución se liofilizó, para dar 639 mg (387 μ mol, rendimiento del 77%) del compuesto del título con una pureza de >95% como se comprobó por HPLC (condición A; *t_R* 10,5 minutos).

(4S)-MeHex-D-Val-Thr-Val-D-Val-D-Pro-Orn-D-*alo*-Ile-ciclo(D-*alo*-Thr-D-*alo*-Ile-D-Val-Phe-Z-Dhb-Val) = (4S)metilhexanoico KF

25 El péptido protegido (ejemplo 6) (639 mg, 387 μ moles) se disolvió en CH₂Cl₂ (390 mL, 1 mM) y se añadieron HOBt (237 mg, 1,55 mmoles) disuelto en el mínimo volumen de DMF para disolver HOBt, DIEA (203 μ L, 1,16 mmoles, 3 equiv) y DIPCDI (240 μ L, 1,55 mmoles, 4 equiv). La mezcla se dejó agitar durante 1 hora, después el curso del paso de ciclación se comprobó por HPLC. El solvente se eliminó mediante evaporación a presión reducida. El péptido cíclico protegido se disolvió en TFA-H₂O (19:1, 85 mL) y la mezcla se dejó agitar durante 1 hora. El solvente se eliminó mediante evaporación a presión reducida y se añade dioxano (30 mL) y el solvente se elimina mediante evaporación a presión reducida (el proceso se repitió tres veces), después se añadió H₂O (40 mL) y se liofilizó. El producto crudo se purificó por HPLC (Kromasil C₈ 5 μ m, 205 x 50 mm), acetonitrilo isocrático al 44% (+ TFA al 0,05%) en agua (+ TFA al 0,5%), 55 mL/h, detección a 220 nm, para dar el producto del título (192 mg, 0,13 mmoles, rendimiento del 26%, 92,3%). MALDI-TOF-MS, calculado para C₇₅H₁₂₄N₁₄O₁₆, 1.477,9. Determinado: *m/z* 1.500,12 [M+Na]⁺, 1.515,97 [M+K]⁺. El espectro de ¹H-RMN (2,5 mM; 500 MHz, H₂O-D₂O (9:1) del compuesto se indica en la tabla I).

Tabla I

RESIDUO	N-H	H α	H β	OTRO
(Z)-Dhb	9,59 (s)		6,63 (q, J=7,5 Hz)	1,19 (d, γ -CH ₃)
D- <i>alo</i> -Ile 1	8,82 (d, J=9,0 Hz)	4,42	1,87	1,25, 1,09, 0,82 (γ -CH ₂ , γ -CH ₃ , δ -CH ₃)
L-Phe	8,75 (d, J=5,5 Hz)	4,63	3,08 (m)	7,31 (2 H Ar, t) 7,25 (3H Ar, d)
D- <i>alo</i> -Thr	8,67 (d, J=9,0 Hz)	4,64	5,05 (m)	1,21 (γ -CH ₃)
D-Val 3	8,13 (d, J=7,5 Hz)	4,33	2,01	0,90 (2 γ -CH ₃)
L-Orn	8,29 (d, J=7,5 Hz)	4,31	1,66 (2H)	1,88 (γ -CH ₂), 2,96 (bs, δ -CH ₂), 7,56 (ϵ -NH ₃ ⁺)
D- <i>alo</i> -Ile 2	7,92 (d)	4,18	1,80	1,25, 1,09, 0,81 (γ -CH ₂ , γ -CH ₃ , δ -CH ₃)
D-Val 5	8,01 (d)	4,08	2,07	0,87 (2 γ -CH ₃)
L-Thr	8,19 (d, J=7,5 Hz)	4,29	4,14 (m)	1,13 (γ -CH ₃)

D-Val 2	7,89 (d, J=7,5 Hz)	4,32	2,11	0,78 (γ -CH ₃)
L-Val 4	8,04 (d)	4,10	2,07	0,90 (2 γ -CH ₃)
L-Val 1	7,19 (d, J=9 Hz)	4,02	1,52	0,75 (γ -CH ₃), 0,65 (d, γ -CH ₃)
D-Pro	-	4,36	2,23, 1,99 (m, β -CH ₂), 1,85 (m, γ -CH ₂), 3,83 (1H, m, δ -CH ₂), 3,64 (1H, m, δ -CH ₂)	
4(S)-MeHex	-	2,26 (2H)	1,57 (b-CH ₂), 1,26, 1,10, 1,33, 0,79 (d-CH ₂ , δ -CH ₃ , γ -CH, ϵ -CH ₃)	

La espectroscopia de ¹H-RMN [1H, NOESY, TOCSY a (278K)] se realizó en un Varian Unity Plus (500 MHz). Los desplazamientos químicos (d) se expresan en partes por millón a campo más bajo de TMS. Las constantes de acoplamiento se expresan en hercios.

5 Ejemplo 2: preparación de (4R)-metilhexanoico KF

Se llevaron a cabo procedimientos experimentales como se describen en el ejemplo 1, empezando con 1 g de resina, con la sola excepción que, en el paso apropiado, (4S)-MexHex se sustituyó por (4R)-MexHex. El producto (220 mg, 0,15 mmoles, 30%, pureza del 92,3%) se caracterizó por ES-MS, C₇₅H₁₂₄N₁₄O₁₆, 1.477,9. Determinado: m/z 1.499,07 [M+Na]⁺, 1.514,94 [M+K]⁺.

10 Ejemplo 3: Actividad citotóxica in vitro

La finalidad de estos ensayos es interrumpir el crecimiento de un cultivos de células tumorales "in vitro" por medio de una exhibición continua de las células a la muestra a ser probada.

LÍNEAS CELULARES

Nombre	ATCC N°	Especie	Tejido	Características
P-338	CCL-46	ratón	líquido ascítico	neoplasia linfoide
K-562	CCL-243	humana	leucemia	eritroleucemia (efusión pleural)
A-549	CCL-185	humana	pulmón	carcinoma de pulmón "NSCL"
SK-MEL-28	HTB-72	humana	melanoma	melanoma maligno
HT-29	HTB-38	humana	colon	adenocarcinoma de colon
LoVo	CCL-229	humano	colon	adenocarcinoma de colon
LoVo-Dox		humana	colon	adenocarcinoma de colon (MDR)
SW620	CCL-228	humana	colon	adenocarcinoma de colon (metástasis a ganglios linfáticos)
DU-145	HTB-81	humana	próstata	carcinoma de próstata, sin receptores de andrógenos
LNCaP	CRL-1740	humana	próstata	adenocarcinoma de próstata, con receptores de andrógenos
SK-BR-3	HTB-30	humana	mama	adenocarcinoma de mama, Her2/neu+ (efusión pleural)
MCF-7	HTB-22	humana	mama	adenocarcinoma de mama, (efusión pleural)
MDA-MB-231	HTB-26	humana	mama	adenocarcinoma de mama, Her2/neu+ (efusión pleural)
IGROV-1		humana	ovario	adenocarcinoma de ovario
IGROV-ET		humana	ovario	adenocarcinoma de ovario, caracterizado

SK-OV-3	HTB-77	humana	ovario	como células resistentes a ET-743 adenocarcinoma de ovario (ascitis maligna)
OVCAR-3	HTB-161	humana	ovario	adenocarcinoma de ovario
HeLa	CCL-2	humana	cuello uterino	carcinoma epiteliode de cuello uterino
HeLa-APL	CCL-3	humana	cuello uterino	carcinoma epiteliode de cuello uterino, caracterizado como células resistentes a apilidina
A-498	HTB-44	humana	riñón	carcinoma de riñón
PANC-1	CCL-1469	humana	páncreas	carcinoma epiteliode del páncreas
HMEC-1		humana	endotelio	

Se ha adaptado un ensayo de tipo colorimétrico, que usa reacción de sulforrodamina B (SRB) para una medida cuantitativa del crecimiento y viabilidad celulares [según la técnica descrita por Philip Skehan, et al. (1990), New colorimetric cytotoxicity assay for anticancer drug screening, J. Natl. Cancer Inst., 82: 1107-1112].

Esta forma del ensayo utiliza microplacas de cultivo celular de 96 pocillos de 9 mm de diámetro (Faircloth, 1988; Mosmann, 1983). La mayoría de las líneas celulares se obtienen de la Colección Americana de Cultivos Tipo (ATCC) derivadas de diferentes tipos de cánceres humanos.

Las células se mantienen en RPMI 1640 con SBF al 10%, suplementado con penicilina 0,1 g/l y sulfato de estreptomicina 0,1 g/l y después se incuban a 37°C, CO₂ al 5% y humedad del 98%. Para los experimentos, las células se recogieron de cultivos subconfluentes usando tripsina y se resuspendieron en medio reciente antes de sembrar.

Las células se siembran en placas de microtitulación de 96 pocillos, a 5 x 10³ células por pocillo en alícuotas de 195 µl de medio, y se deja que se adhieran a la superficie de la placa haciéndolas crecer en medio sin fármaco durante 18 horas. Después, se añaden muestras en alícuotas de 5 µl que varían de 10 a 10⁻⁸ µg/ml, disueltas en DMSO/EtOH/PBS (0,5:0,5:99). Tras 48 horas de exposición, se mide el efecto antitumoral mediante la metodología SRB: las células se fijan añadiendo 50 µl de ácido tricloroacético (TCA) frío al 50% (peso/volumen) y se incuban durante 60 minutos a 4°C. Las placas se lavan con agua desionizada y se secan. Se añaden cien µl de solución de SRB (al 0,4% peso/volumen en ácido acético al 1%) a cada pocillo de microtitulación y se incuban durante 10 minutos a temperatura ambiente. Se elimina la SRB no unida lavando con ácido acético al 1%. Las placas se secan al aire y el colorante unido se solubiliza con tampón Tris. Se leen las densidades ópticas en un lector de placas espectrofotométrico automatizado a una única longitud de onda de 490 nm.

Se calculan los valores para la media +/- DE de datos a partir de pocillos por triplicado. Se pueden calcular algunos parámetros para respuesta celular: GI = inhibición de crecimiento, TGI = inhibición total de crecimiento (efecto citostático) y LC = muerte celular (efecto citotóxico).

Los resultados se dan en la tabla II, no hay diferencia significativa entre compuestos:

Tabla II. Datos de actividad (molar)

LÍNEA CELULAR		5-methex.KF	(4S)-methex KF	(4R)-methex KF
DU-145	GI50	7,51E-07	2,37E-07	1,20E-06
	TGI	1,64E-06	6,97E-07	2,14E-06
	LC50	3,60E-06	2,49E-06	3,82E-06
LN-ccP	GI50	9,61E-07	1,12E-06	1,50E-06
	TGI	2,31E-06	2,58E-06	2,46E-06
	LC50	5,57E-06	5,93E-06	4,04E-06
SKOV-3	GI50	-	-	-
	TGI	-	-	-
	LC50	-	-	-

ES 2 357 644 T3

IGROV	GI50	4,20E-07	2,92E-07	9,41E-07
	TGI	1,40E-06	7,51E-07	1,81E-06
	LC50	3,80E-06	2,62E-06	3,50E-06
IGROV-ET	GI50	4,47E-07	2,25E-07	8,05E-07
	TGI	9,54E-07	4,79E-07	1,62E-06
	LC50	3,09E-06	2,82E-06	3,26E-06
SK-BR-3	GI50	3,98E-07	1,81E-07	1,25E-06
	TGI	4,48E-06	3,32E-07	2,20E-06
	LC50	6,77E-06	6,06E-07	3,86E-06
MEL-28	GI50	6,90E-07	1,43E-06	1,14E-06
	TGI	1,56E-06	2,60E-06	2,09E-06
	LC50	3,55E-06	4,72E-06	3,80E-06
H-MEC-1	GI50	-	-	-
	TGI	-	-	-
	LC50	-	-	-
A-549	GI50	8,66E-07	2,67E-07	1,20E-06
	TGI	1,81E-06	7,17E-07	2,26E-06
	LC50	3,78E-06	3,09E-06	4,24E-06
K-562	GI50	1,54E-06	2,52E-06	3,73E-06
	TGI	2,95E-06	6,77E-06	6,77E-06
	LC50	5,66E-06	6,77E-06	6,77E-06
PANC-1	GI50	1,38E-06	6,77E-06	4,70E-06
	TGI	2,89E-06	6,77E-06	4,24E-06
	LC50	6,07E-06	6,77E-06	4,24E-06
HT-29	GI50	1,41E-07	3,01E-07	7,38E-07
	TGI	2,81E-07	7,51E-07	1,54E-06
	LC50	5,62E-07	2,71E-06	3,22E-06
LOVO	GI50	1,20E-07	1,63E-07	2,48E-07
	TGI	2,26E-07	3,08E-07	7,78E-07
	LC50	4,28E-07	5,80E-07	2,28E-06
LOVO-DOX	GI50	1,62E-07	1,57E-07	2,88E-07
	TGI	3,17E-07	3,25E-07	7,71E-07
	LC50	6,20E-07	6,77E-07	2,19E-06
HELA	GI50	8,39E-07	1,18E-06	1,05E-06
	TGI	1,89E-06	2,42E-06	1,93E-06
	LC50	4,26E-06	4,97E-06	3,55E-06
HELA-APL	GI50	1,06E-06	1,04E-06	1,56E-06
	TGI	2,17E-06	2,13E-06	3,47E-06

	LC50	4,43E-06	4,39E-06	6,77E-06
--	------	----------	----------	----------

Ejemplo 4: toxicidad *in vitro*

5 Para evaluar la citotoxicidad de los fármacos hacia células normales, se usaron placas de 96 pocillos sembradas a una densidad de 5000 células por pocillo con líneas de células normales mantenidas según las direcciones de la ATCC: AML-12, células normales de hígado de ratón y NRK-52E, células normales de riñón de rata. Se dejaron asentar las células en cada placa durante la noche antes de añadir el fármaco de prueba. A cada pocillo (100 µl de medio) se añadieron 10 µl de fármaco en medio a concentraciones variables (concentración final 1×10^{-10} -0,01 mg/ml) y se incubaron adicionalmente durante la noche a 37°C con CO₂ al 5%. Todos los experimentos se repitieron al menos 3 veces y se evaluaron en duplicado. Después de 24 horas se realizó el ensayo MTS (CellTiter 96 acuoso) según las direcciones del fabricante (Promega) (para todos los tipos celulares). Se determinó la viabilidad celular (actividad mitocondrial) a través de la conversión enzimática del sustrato formazano.

10 Como se puede ver a partir de los resultados en la tabla III, no hay diferencia significativa entre los compuestos 5-metilhexanoico KF y (4S)-metilhexanoico KF.

Tabla III

	Hígado ALM IC ₅₀ (µM)	Riñón NRK IC ₅₀ (µM)
5-metilhexanoico KF	3,4	2,7
(4S)-metilhexanoico KF	5,4	2,7

Ejemplo 5: DMT *in vivo* en ratones CD-1 y en animales atímicos

20 Se determina la dosis máxima tolerada en ratones CD-1 y atímicos (ambos géneros) para cada fármaco después de una administración de una única inyección intravenosa y después de 5 dosis diarias. Los resultados se dan en la tabla IV, no hay diferencia significativa entre los compuestos 5-metilhexanoico KF y (4S)-metilhexanoico KF.

Tabla IV

	5-metilhexanoico KF	(4S)-metilhexanoico KF
Ratón CD-1 macho DMT bolo	300	300
Ratón CD-1 hembra DMT bolo	200	200
Ratón CD-1 macho DMT 5DD	175-350	175-350
Ratón CD-1 hembra DMT 5DD	175-350	175-350
Ratón atímico macho DMT bolo	350	350
Ratón atímico hembra DMT bolo	325	325
Ratón atímico macho DMT 5DD	350	350
Ratón atímico hembra DMT 5DD	325	325

Ejemplo 6: Eficacia *in vivo* en xenoinjertos de mama (5DD)

25 Se analizó la eficacia de 5-metilhexanoico KF y (4S)-metilhexanoico KF cada uno a nivel de tres cuartos de la dosis máxima tolerada (DMT) en xenoinjertos de mama según una pauta de administración de cinco inyecciones rápidas diarias consecutivas (es decir, QDx5) intravenosas (*iv*) (días 0-4) en ratones atímicos hembra. Los compuestos se suministraron como soluciones en viales recién preparadas en vehículo [Cremophor-EL/etanol/agua (5:5:90)]. Cada dosis diaria (del programa QDx5) se administró por vía *iv* en un volumen de inyección de 0,2 ml por animal de 20 gramos.

La evaluación del crecimiento tumoral neto del correspondiente grupo tratado respecto al grupo control de vehículo (es decir, % de $\Delta T/\Delta C$) indicó que el valor mínimo (óptimo) se produjo el día 3 después del inicio del tratamiento con fármaco para todos los grupos. Además, análisis estadísticos por pares (usando el método de Mann-Whitney no paramétrico) revelaron que, de forma inesperada en vista de su estructura muy similar y en vista de los ejemplos previos, había una diferencia significativa en eficacia entre los dos compuestos.

Basado en los estudios de eficacia descritos aquí y los experimentos de toxicidad realizados anteriormente (ejemplo 4) se puede asignar un índice terapéutico de al menos 1,33 (1 x DMT/0,75 x DMT, dosis a la que el fármaco es tóxico/dosis a la que el fármaco es eficaz) a (4S)-metilhexanoico KF. Además, una observación biológicamente relevante fue que el efecto antitumoral de (4S)-metilhexanoico KF en mama duraba más que en xenoinjertos de próstata (ejemplo 7) a la misma dosis DMT relativa. En resumen, (4S)-metilhexanoico KF claramente parece ser el isómero más potente en xenoinjertos de mama y la duración de su acción biológica sugiere que tiene un impacto de larga duración en este tipo de tumor.

Tabla V

	Dosis $\mu\text{g}/\text{kg}$	Crecimiento tumoral neto mm^3 , n=9	% de $\Delta T/\Delta C$
Control	-	167	100
5-metilhexanoico KF	245	108	65
(4S)-metilhexanoico KF	245	74	44

Ejemplo 7: Eficacia *in vivo* en xenoinjertos de próstata (5DD)

Se analizó la eficacia de 5-metilhexanoico KF y (4S)-metilhexanoico KF cada uno a una dosis en xenoinjertos de próstata según una pauta de administración de cinco inyecciones rápidas diarias consecutivas (es decir, QDx5) intravenosas (*iv*) (días 0-4) en ratones atímicos macho. Los compuestos se suministraron como soluciones en viales recién preparadas en vehículo [Cremophor-EL/etanol/agua (5:5:90)]. Cada dosis diaria (del programa QDx5) se administró por vía *iv* en un volumen de inyección de 0,2 ml por animal de 20 gramos.

La evaluación del crecimiento tumoral neto del correspondiente grupo tratado respecto al grupo control de vehículo (es decir, % de $\Delta T/\Delta C$) indicó que el valor mínimo (óptimo) se produjo el día 3 después del inicio del tratamiento con fármaco para todos los grupos. Además, análisis estadísticos por pares (usando el método de Mann-Whitney no paramétrico) revelaron que se alcanzó significativamente más eficacia con (4S)-metilhexanoico KF a una dosis de 262 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{día}$. Basado en los estudios de eficacia descritos aquí y los experimentos de toxicidad realizados anteriormente (ejemplo 4) se puede asignar un índice terapéutico de al menos 1,33 (1 x DMT/0,75 x DMT, dosis a la que el fármaco es tóxico/dosis a la que el fármaco es eficaz) a (4S)-metilhexanoico KF. Los resultados se enumeran en la tabla VI a continuación.

Tabla VI

	Dosis $\mu\text{g}/\text{kg}$	Crecimiento tumoral neto mm^3 , n=10	% de $\Delta T/\Delta C$
Control	-	236	100
5-metilhexanoico KF	262	126	53
(4S)-metilhexanoico KF	262	62	26

Ejemplo 8: actividad antitumoral de análogos de kahalalido F en fibra hueca usando un panel de líneas de células tumorales humanas

Se ha probado la actividad antitumoral de los análogos de kahalalido F discutidos anteriormente en el sistema de fibra hueca (FH) usando un panel de líneas de células tumorales humanas, es decir, SK-Hep-1 (hepatoma), HepG2 (carcinoma hepatocelular), Panc-1 (páncreas) y Mel-28 (melanoma). Las células tumorales humanas se encapsulan en FH *in vitro* y posteriormente se implantan en ratones atímicos hembra *in vivo*.

Se seleccionaron dosis de 5-metilhexanoico KF y (4S)-metilhexanoico KF en base a experimentos de DMT anteriores llevados a cabo en ratones atímicos que produjeron una dosis de 325 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{día}$ (véase el ejemplo 5). Se administraron cinco dosis diarias consecutivas por vía intraperitoneal (*ip*) en un volumen de inyección de 0,2 ml por animal de 20 gramos.

5 En conjunto, KF-4(S)-Met demuestra actividad antitumoral estadísticamente significativa contra hepatoma (sc), carcinoma hepatocelular (tanto *ip* como *sc*), páncreas (*ip*) y muestra una tendencia hacia significancia (es decir, $P = 0,059$) en el compartimento *sc* en páncreas y melanoma. Por el contrario, KF-5-Met es activo en menos tipos tumorales, es decir, solo páncreas (tanto *ip* como *sc*) y melanoma (*sc*), pero ninguno de los tipos de cánceres hepáticos probados. Se enumera un resumen de los resultados en la tabla siguiente, que muestra claramente las diferencias entre los compuestos.

FÁRMACO	TIPO DE TUMOR/LOCALIZACIÓN FH (número arbitrario de células/FH)							
	SK-Hep-1		HepG2		Panc-1		Mel-28	
	<i>ip</i>	<i>sc</i>	<i>ip</i>	<i>sc</i>	<i>ip</i>	<i>sc</i>	<i>ip</i>	<i>sc</i>
Vehículo	0,575	0,872	0,576	0,509	0,200	0,392	2,078	1,77
KF-4(S)-Met	0,485	0,525*	0,335*	0,319*	0,129*	0,237§	1,906	1,51
KF-5-Met	0,693	0,686	0,475	0,361	0,149*	0,192*	1,771	1,56

* Estadísticamente significativo, $P < 0,05$. § Tendencia hacia significancia, es decir, $P = 0,059$.

REIVINDICACIONES

1. Un compuesto que tiene la fórmula (4S)-MeHex-D-Val-L-Thr-L-Val-D-Val-D-Pro-L-Orn-D-*alo-Ile-ciclo*(D-*alo*-Thr-D-*alo*-Ile-D-Val-L-Phe-Z-Dhb-L-Val) o una sal o solvato farmacéuticamente aceptable del mismo.
2. Un compuesto según la reivindicación 1 que tiene la fórmula (4S)-MeHex-D-Val-L-Thr-L-Val-D-Val-D-Pro-L-Orn-D-*alo-Ile-ciclo*(D-*alo*-Thr-D-*alo*-Ile-D-Val-L-Phe-Z-Dhb-L-Val) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.
3. Un compuesto según la reivindicación 1 o la reivindicación 2, en donde el compuesto contiene como máximo el 25% de cualquier otro kahalalido.
4. Un compuesto según cualquier reivindicación precedente, en donde el compuesto contiene como máximo el 10% de cualquier otro kahalalido.
5. Un compuesto según cualquier reivindicación precedente, en donde el compuesto contiene como máximo el 5% de cualquier otro kahalalido.
6. Un compuesto según cualquier reivindicación precedente, en donde el compuesto contiene como máximo el 2% de cualquier otro kahalalido.
7. Un compuesto según cualquier reivindicación precedente, en donde el compuesto contiene como máximo el 1% de cualquier otro kahalalido.
8. Un compuesto según cualquier reivindicación precedente, en donde el compuesto contiene como máximo el 0,5% de cualquier otro kahalalido.
9. Un compuesto según cualquier reivindicación precedente, en donde el compuesto contiene menos del 0,5% de cualquier otro kahalalido.
10. Un compuesto según cualquier reivindicación precedente, en donde el otro kahalalido es kahalalido F que tiene una cadena lateral 5-metilhexilo.
11. Un compuesto según cualquier reivindicación precedente, en donde el compuesto está sustancialmente puro.
12. Una composición farmacéutica que comprende un compuesto como se define en cualquiera de las reivindicaciones 1 a 11, junto con un soporte, vehículo o diluyente farmacéuticamente aceptable.
13. Un compuesto como se define en cualquiera de las reivindicaciones 1 a 11 para su uso como un medicamento.
14. Un compuesto como se define en cualquiera de las reivindicaciones 1 a 11 para su uso en el tratamiento de un mamífero afectado por cáncer.
15. El uso de un compuesto como se define en cualquiera de las reivindicaciones 1 a 11 en la fabricación de un medicamento para el tratamiento de un mamífero afectado por cáncer.
16. El uso según la reivindicación 14 o la reivindicación 15, en donde el mamífero afectado por cáncer es un ser humano.
17. El uso según las reivindicaciones 14 a 16, en donde el cáncer es un cáncer refractario que no responde favorablemente a otros tratamientos.
18. El uso según cualquiera de las reivindicaciones 14 a 17, en donde el cáncer se selecciona de cáncer de próstata, cáncer de mama, carcinoma hepatocelular, melanoma, cáncer colorrectal, cáncer de riñón, cáncer de ovario, cáncer NSCL, cáncer epitelial, cáncer de páncreas y un tumor que sobreexpresa el oncogén Her2/neu.
19. Un kit que comprende envases separados que contienen una composición farmacéutica que comprende un compuesto como se define en cualquiera de las reivindicaciones 1 a 11 y un agente reconstituyente.
20. Un proceso para la preparación de un compuesto como se define en cualquiera de las reivindicaciones 1 a 11, **caracterizado en que** usa ácido (4S)-metilhexanoico como material de partida.