

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 572 183**

51 Int. Cl.:

C07D 498/22 (2006.01)

C07D 498/18 (2006.01)

C07K 14/59 (2006.01)

C07K 14/655 (2006.01)

A61K 31/424 (2006.01)

A61P 35/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **06.09.2007 E 07803270 (3)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **09.03.2016 EP 2066679**

54 Título: **Conjugados de disorazoles y sus derivados con moléculas de unión celular, nuevos derivados de disorazol, procesos de preparación y usos de los mismos**

30 Prioridad:

06.09.2006 US 842357 P
07.09.2006 EP 06018750

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
30.05.2016

73 Titular/es:

ÆTERNA ZENTARIS GMBH (100.0%)
Weismüllerstrasse 50
60314 Frankfurt am Main, DE

72 Inventor/es:

GÜNTHER, ECKHARD;
SCHAEFER, OLAF;
TEIFEL, MICHAEL y
PAULINI, KLAUS

74 Agente/Representante:

VALLEJO LÓPEZ, Juan Pedro

ES 2 572 183 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

Conjugados de disorazoles y sus derivados con moléculas de unión celular, nuevos derivados de disorazol, procesos de preparación y usos de los mismos

5

Campo técnico

La invención se refiere a conjugados de disorazoles y sus derivados con moléculas de unión celular, tales como péptidos y proteínas, así como nuevos derivados de disorazol y procesos de preparación de los mismos. Estos compuestos se pueden usar como medicamentos, en particular para el tratamiento de diversos tumores.

10

Técnica anterior

En los próximos años, se espera un aumento increíble de enfermedades tumorales y casos de muerte relacionados con tumor en el mundo. En 2001, en todo el mundo aproximadamente 10 millones de personas padecían cáncer y más de 6 millones de personas murieron a causa de esta enfermedad. El desarrollo de tumores es una enfermedad fundamental de los organismos superiores en el reino vegetal, en el reino animal y en seres humanos. El modelo de carcinogénesis de múltiples etapas reconocido generalmente supone que como resultado de la acumulación de un número de mutaciones en una célula individual este se modifica de este modo en su comportamiento de proliferación y diferenciación que, por último, a través de etapas intermedias benignas, se alcanza un estado maligno con metástasis.

15

20

El término cáncer o tumor oculta un cuadro clínico con más de 200 diferentes enfermedades individuales. Las enfermedades tumorales pueden evolucionar de en una manera benigna o maligna. Los tumores más importantes son los de pulmón, la mama, el estómago, el cuello del útero, la próstata, cabeza y cuello, el intestino grueso y delgado, el hígado y el sistema sanguíneo. Hay grandes diferencias con respecto al curso, pronóstico y terapia conductuales. Más de un 90 % de los casos reconocidos se refieren a tumores sólidos, que en particular, en el estadio avanzado o en la metástasis se pueden tratar con dificultad o no se pueden tratar. Los tres pilares del control del cáncer siguen siendo la extirpación quirúrgica, radiación y quimioterapia. A pesar de los grandes avances, aún no ha sido posible desarrollar medicamentos que provoquen una prolongación notable del tiempo de supervivencia o incluso una curación completa de los tumores sólidos generalizados. Por lo tanto, es significativo inventar nuevos medicamentos para el control del cáncer.

25

30

Las sustancias naturales son una fuente importante de nuevas estructuras principales en investigación farmacéutica y en algunos casos son también directamente adecuadas para el desarrollo de un nuevo medicamento (Shu Y, J. Nat. Prod. 1998, 61: 1053-1071). Se sabe que muchas sustancias naturales poseen acción fuertemente citotóxica (Ram VJ *et al.*, Drug News Perspect 2001, 14 (8): 465-482).

35

Se sabe que las sustancias naturales del grupo que consiste en los disorazoles se aíslan de la bacteria de la cepa So ce12 de *Sorangium cellulosum* (Jansen R *et al.*, Liebigs Ann. Chem. 1994, (8): 759-773).

40

En total, 29 disorazoles se han aislado y caracterizado de forma fisicoquímica. Para el disorazol A1, se informó que posee una acción antiproliferativa en modelos celulares (Irschik H *et al.*, J. Antibiotics 1995, 48 (1): 31-35; Elnakady YA, Dissertation 2001, Technische Universität Carolo-Wilhelmina zu Braunschweig). Sin embargo, el uso para el tratamiento de enfermedades tumorales ni se describió ni se sugirió. No se ha realizado una investigación biológica de los otros disorazoles.

45

El documento WO 2004/024149 informa que en particular los disorazoles E1 y D1 poseen acción citotóxica en diversas líneas de células tumorales humanas. En concentraciones nano y picomolares, la división de las células, entre otras, de carcinoma de ovario, carcinoma de próstata, glioblastoma, carcinoma de pulmón y de cáncer de mama se inhibe. La acción de los disorazoles E1 y D1 en este caso es dependiente del ciclo celular. Incluso en concentraciones nanomolares, el ciclo celular se mantiene en la fase G2/M y las células cancerosas se ven forzadas a la apoptosis.

50

El documento WO 2004/024149 muestra adicionalmente que la acción antiproliferativa de los disorazoles se basa, entre otros, en una inhibición eficaz de la polimerización de tubulina. Además, el disorazol E1 es activo frente a líneas de células resistentes a paclitaxel y vindesina. Esto tiene importancia en particular, dado que el disorazol A1 no es adecuado para uso como un agente citostático (Hoeffle G, Annual Report 1999/2000 of the Gesellschaft für Biotechnologische Forschung (GBF), páginas 101/ 103).

55

60

Wipf y colaboradores examinaron la actividad celular del disorazol C y la relación entre estructura y actividad de ocho de sus análogos (Wipf *et al.*, Chem. Biol. Drug Des. 2006, 67 (1): 66-73).

Se han estudiado y descrito completamente algunas estrategias de síntesis total para la síntesis de los disorazoles A1 y C1 (Hillier MC *et al.*, J. Org. Chem. 2001, 66: 6037-6045; Hartung IV *et al.*, Organic Letters 2002, 4 (19): 3239-3242; Wipf P *et al.*, J. Am. Chem. Soc. 2004, 126 (47): 15346-15347).

65

El disorazol A1 también se ha caracterizado adicionalmente: se mostró que actúa como un agente antimetabólico en la polimerización de tubulina e induce apoptosis en células de mamífero (Elnakady YA *et al.*, *Biochem. Pharmacol.* 2004, 67 (5): 927-935). Además, se han generado y estudiado productos de metanólisis del disorazol A1 para actividad antiproliferativa potencial (Hearn BR *et al.*, *J. Nat. Prod.* 2006, 69 (1): 148-150).

5 Los siguientes documentos de la técnica anterior están dirigidos a la biosíntesis de disorazoles o compuestos relacionados: el documento WO 2004/053065 describe polinucleótidos que codifican la disorazol poliacético sintasa. Schupp y colaboradores caracterizaron un grupo de genes de *Sorangium cellulosum* para la biosíntesis del antibiótico macrólido Soraphen A (Schupp T *et al.*, *Journal of Bacteriology* 1995, 177: 3673-3679). También se
10 caracterizaron algunos genes biosintéticos para la biosíntesis de disorazol en Carvalho R *et al.*, (Carvalho R *et al.*, *Gene* 2005, 359: 91-98), Kopp y colaboradores (Kopp M *et al.*, *Chembiochem.* 2005, 6 (7): 1277-1286) y documento WO 2006/075013.

15 Sin embargo, ninguno de los documentos de la técnica anterior mencionados anteriormente desvelan ni sugieren conjugados de disorazoles.

El documento de patente US 6.214.969 describe análogos de hormona liberadora de hormona luteinizante (LHRH) con restos citotóxicos. Tales restos pueden ser cualquiera de D-/L-Mel (4-[bis(2-cloroetil)amino]-D/L-fenilalanina), ciclopropanoalcanoilo, aziridina-2-carbonilo, epoxialquilo, 1,4-naftoquinona-5-oxicarbonil-etilo, doxorubicinilo (Doxorrubicina, DOX), mitomicinilo (Mitomicina C), esperamicinilo o metotrexoilo.

20 Sin embargo, los disorazoles, que son inhibidores de la polimerización de tubulina e inducen la apoptosis, no se mencionan ni se hace evidente el uso de los mismos.

25 El documento de patente US 5.843.903 se refiere a análogos de antraciclina citotóxicos, en particular doxorubicina (DOX) o sus derivados modificados de daunomicina. Tales restos citotóxicos están conjugados con hormonas peptídicas, tales como LHRH, bombesina y somatostatina y sus análogos.

30 Schally y Nagy revisan nuevas modalidades terapéuticas para diversos cánceres que consisten en el uso de análogos de LHRH, bombesina y somatostatina citotóxicos dirigidos que contienen doxorubicina (DOX) o 2-pirrolino-DOX (Schally AV *et al.*, *Life Sciences* 2003, 72: 2305-2320; Nagy A *et al.*, *Current Pharmaceutical Design* 2005, 11: 1167-1180).

35 En las tres referencias mencionadas anteriormente, los disorazoles ni se desvelan ni se sugieren.

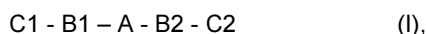
Otros documentos de la técnica anterior que se refieren a conjugados que contienen agente citotóxico comprenden conjugados de anticuerpo-agente citotóxico para uso en terapia para cáncer (Chen J *et al.*, *Expert Opin. Drug Deliv.* 2005, 2 (5): 873-890), conjugados de anticuerpo-fármaco para uso en oncología (Hamann PR, *Expert Opin. Drug Deliv.* 2005, 15 (9): 1087-1103), conjugados de fármaco anticáncer de múltiples clases para uso en dirección tumoral (Jaracz S *et al.*, *Bioorganic & Medicinal Chemistry* 2005, 13: 5043-5054), conjugados de agentes citotóxicos de alcaloide de la vinca-oligopéptido para el tratamiento de cáncer de próstata y/o hiperplasia de próstata benigna (documentos WO 97/12624, WO 98/10651 y WO 99/02175), conjugados de profármaco vinblastina-peptidilo para el tratamiento de cáncer de próstata (Brady SF *et al.*, *J. Med. Chem.* 2002, 45: 4706-4715), profármacos activados por enzimas y protones para terapias anticáncer selectivas (Tietze LF *et al.*, *Current Pharmaceutical Design* 2003, 9: 2155-2175) y profármacos de antraciclinas naturales para uso en terapia con profármaco enzimático dirigido por anticuerpo (Michel S *et al.*, *Studies in Natural Products Chemistry* 2000, 21: 157-180).

50 De nuevo, en todas estas referencias mencionadas anteriormente, los disorazoles, sin embargo, que son inhibidores de la polimerización de tubulina e inducen la apoptosis, no se mencionan ni se sugiere el uso de los mismos.

Descripción de la invención

La presente invención tiene el objetivo de proporcionar conjugados de disorazoles y sus derivados con moléculas de unión celular. Otro objetivo de la invención subyacente es proporcionar nuevos derivados de disorazol. Un objetivo adicional de la presente invención es proporcionar procesos de preparación de los mismos. Además, otro objetivo de la invención subyacente es proporcionar conjugados de disorazoles y sus derivados con moléculas de unión celular y nuevos derivados de disorazol que se pueden usar como medicamentos, en particular para el tratamiento de diversos tumores.

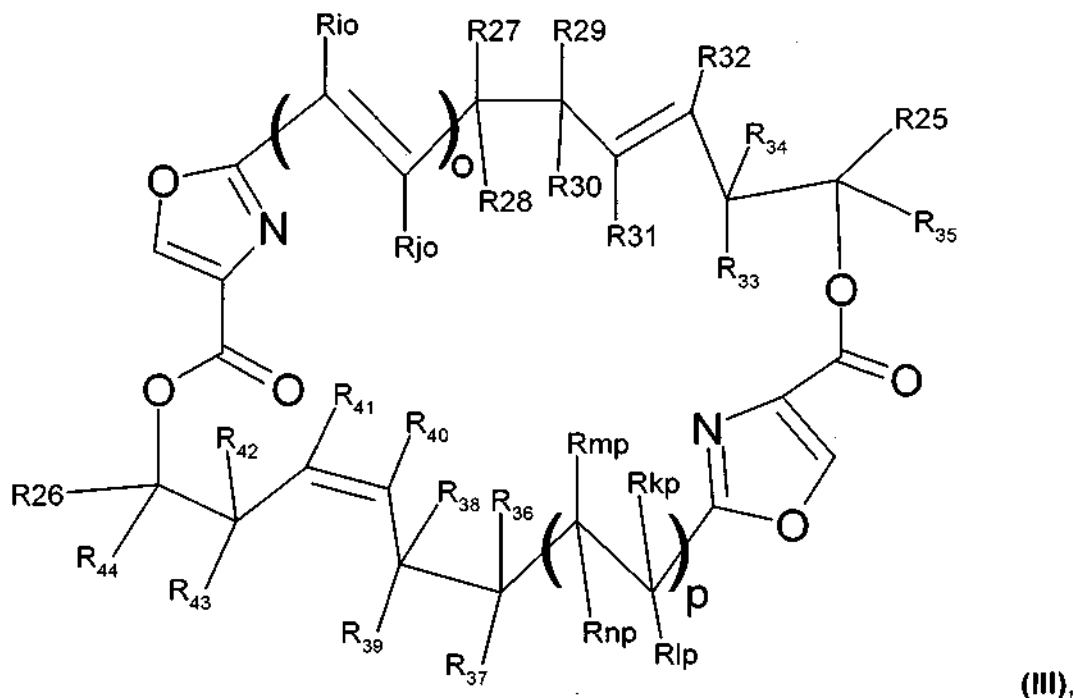
60 El objetivo de la invención se ha conseguido de forma sorprendente en un aspecto al proporcionar compuestos de acuerdo con la fórmula (I)



65 $\text{C1 - B1 - A} \quad (\text{IV}),$

en la que para (I) y (IV):

A es un resto de disorazol de acuerdo con la fórmula (III)



5

en la que:

10

R₁₀, R_{j0}, R_{k_p}, R_{m_p}, R₂₈, R₃₀, R₃₁, R₃₂, R₃₃, R₃₄, R₃₅, R₃₆, R₃₈, R₄₀, R₄₁, R₄₂, R₄₃, R₄₄ son hidrógeno;

15

R₂₇, R₂₉ en conjunto forman un doble enlace o un epóxido (oxirano);

20

R₂₅, R₂₆ se seleccionan independientemente entre sí entre el grupo que consiste en: "alquilo" que está opcionalmente sustituido en el grupo alquilo con 1, 2 o 3 sustituyentes seleccionados independientemente entre sí entre el grupo que consiste en "alquilo, cicloalquilo, cicloalquil-alquilo, arilo, heteroarilo, aril-alquilo, heteroaril-alquilo, heterociclilo, heterocicil-alquilo, alquilsulfonilo, arilsulfonilo, aril-alquilsulfonilo, -F, -Cl, -Br, -I, -N₃, -NO₂, =O, =S, =S(O)₂, hidroxilo, acetilo, carboxilo, carboxiléster, amida, carbonato, carbamato, restos de alfa-aminoácido, restos de beta-aminoácido, alcoxilo, amino, hidroxilamino, mono-alquilamino, di-alquilamino, hidrazinilo, ciano, alquil-ciano, sulfhidrilo, disulfidilalquilo y/o alquil-sulfidilo";

25

B₁ y/o B₂ se seleccionan independientemente entre sí entre el grupo que consiste en "conector de resto de ácido dicarbónico, succinilo, glutarilo";

30

C₁ y/o C₂ se seleccionan independientemente entre sí entre el grupo que consiste en "LHRH, [D-Lys⁶]-LHRH, somatostatina, análogos de somatostatina, albúmina de suero humano (HSA)";

o es 1 o 2;

35

p es 1 o 2.

Para evitar dudas, los compuestos de acuerdo con las fórmulas (I) y (III) mencionadas anteriormente pueden estar presentes en forma de todos los posibles isómeros con doble enlace, tales como isómeros E o Z "puros" o mezclas de estos isómeros con doble enlace.

40

Además, con respecto a la fórmula (III), p u o = 0 se refieren a que hay solamente 6 átomos de carbono entre el anillo de oxazol en el lado izquierdo y el grupo carboxi en el lado derecho. Con respecto a p u o = 1, 2, 3, esto se

refiere a que se incluyen 8, 10 o 12 átomos de carbono.

El término "conector" en el alcance de la presente invención pretende comprender cualquier conector, resto de unión, espaciador y otras moléculas/restos que son conocidos por el experto en la materia y que son adecuados para unir los restos A de los disorazoles a las moléculas C1 y/o C2 de unión celular.

Dentro del conocimiento de una persona experta está el uso de formas y/o radicales activados apropiados de moléculas conectoras preferentes mencionadas anteriormente para la generación de los conjugados finales.

Alguna bibliografía relevante de la técnica anterior con respecto a conectores adecuados comprende por ejemplo Michel S *et al.*, *Studies in Natural Products Chemistry* 2000, 21: 157-180; Tietze LF *et al.*, *Current Pharmaceutical Design* 2003, 9: 2155-2175; Brady SF *et al.*, *J. Med. Chem.* 2002, 45: 4706-4715; documento WO 99/02175; Jaracz S *et al.*, *Bioorganic & Medicinal Chemistry* 2005, 13: 5043-5054; Hamann PR, *Expert Opin. Drug Deliv.* 2005, 15 (9): 1087-1103; Chen J *et al.*, *Expert Opin. Drug Deliv.* 2005, 2 (5): 873-890; documento de patente US 5.843.903, documento de patente US 6.214.969.

Las moléculas C1 y/o C2 de unión celular y sus análogos se conocen bien la técnica anterior. Con la expresión de moléculas de unión celular se pretende que esté comprendido cualquier posible variante/miembro de la familia estructural y/o funcional.

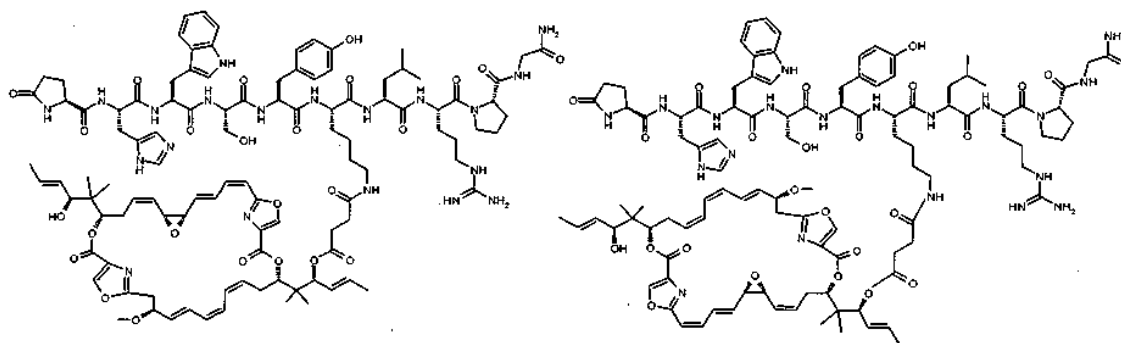
Con el término "análogo" haciendo referencia a molécula de unión celular, se pretende que cualquier análogo de molécula de unión celular relacionado estructural y/o funcionalmente, que es conocido por el experto en la materia a partir de la técnica anterior, esté dentro del alcance de la presente invención. Algunos ejemplos no limitantes son, por ejemplo, análogos de LHRH, tales como triptorelina, cetorelix y otros.

El término análogo haciendo referencia a molécula de unión celular también pretende comprender, si fuera aplicable, agonistas y antagonistas de la molécula de unión celular en cuestión, es decir, la expresión análogo de LHRH compendia agonistas de LHRH y antagonistas de LHRH en el alcance de la presente invención.

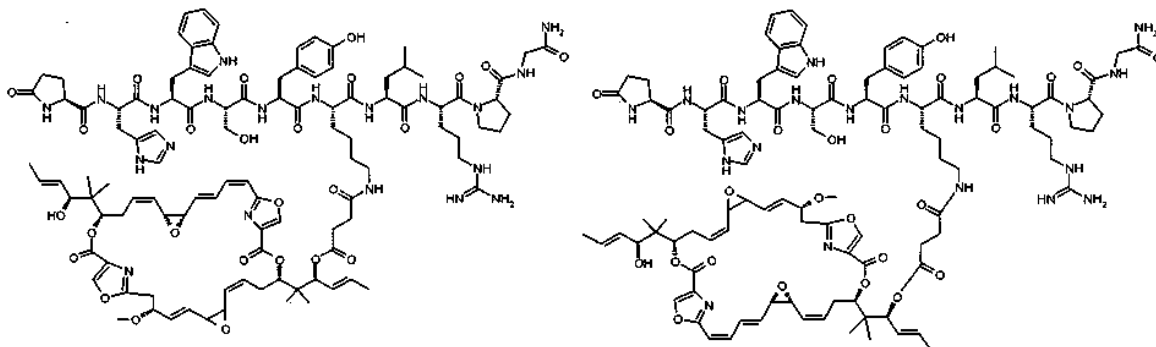
En otra realización preferente de la presente invención, se proporcionan compuestos de acuerdo con las fórmulas (I) y (III), en las que los conectores B1 y B2 son idénticos y las moléculas C1 y C2 de unión celular son idénticas.

Además, en otra una realización preferente, el compuesto se selecciona entre el grupo que consiste en:

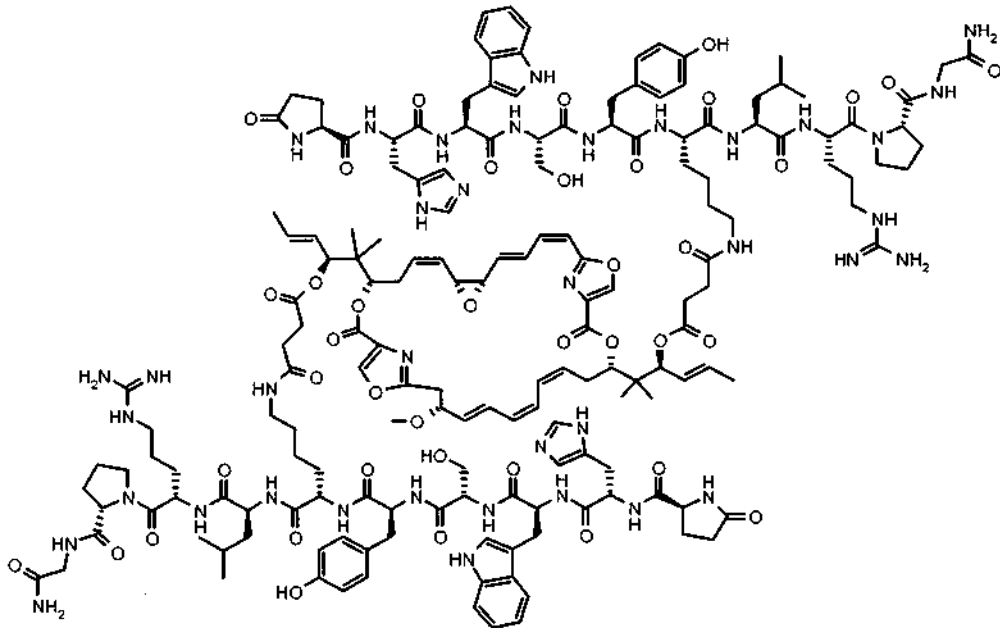
"disorazol A1 - succinil-[D-Lys⁶]LHRH" (compuestos 11 y 12 regioisoméricos):



disorazol E1 - succinil-[D-Lys⁶]LHRH" (compuestos 13 y 14 regioisoméricos):

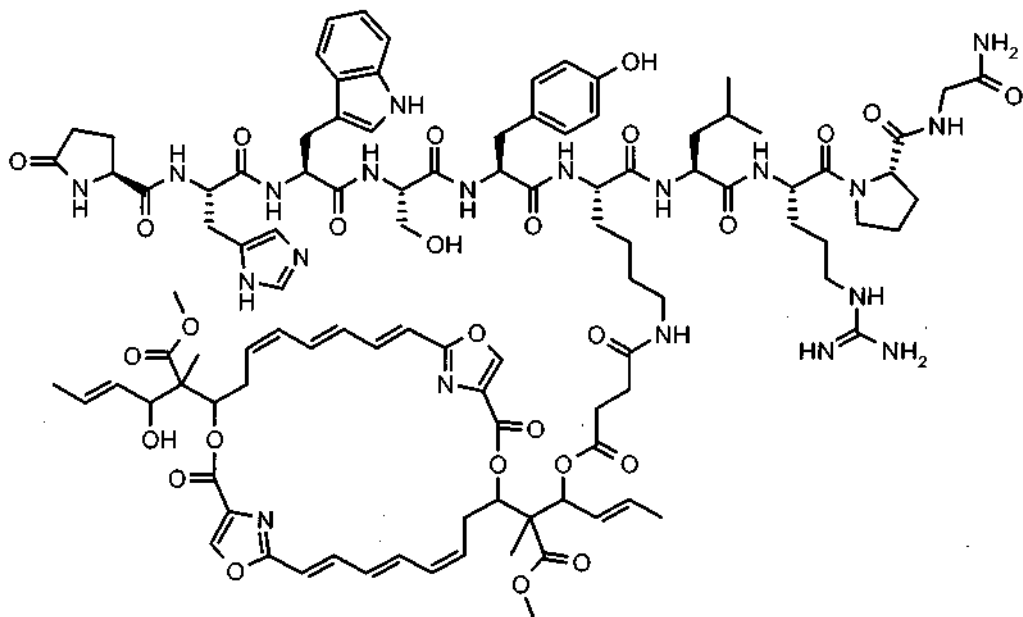


disorazol A1 - (succinil-[D-Lys⁶]LHRH)₂" (compuesto 15):



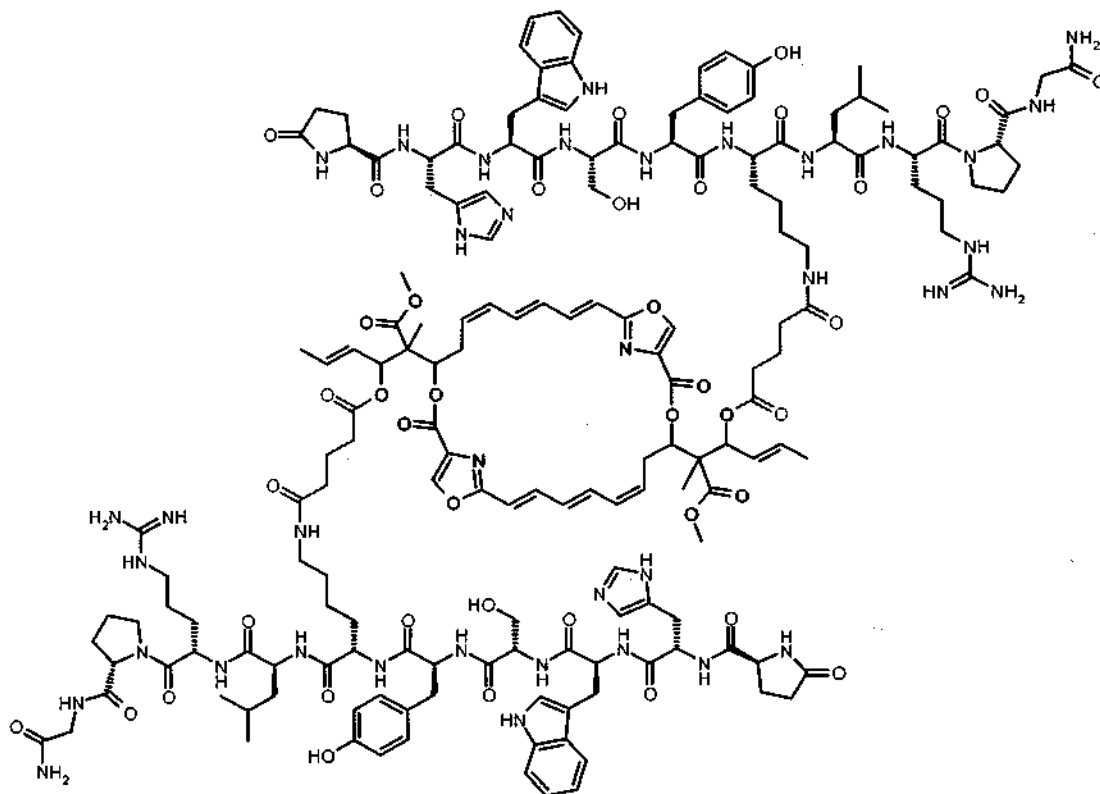
5

"disorazol Z - succinil-[D-Lys⁶]LHRH" (compuesto 16):

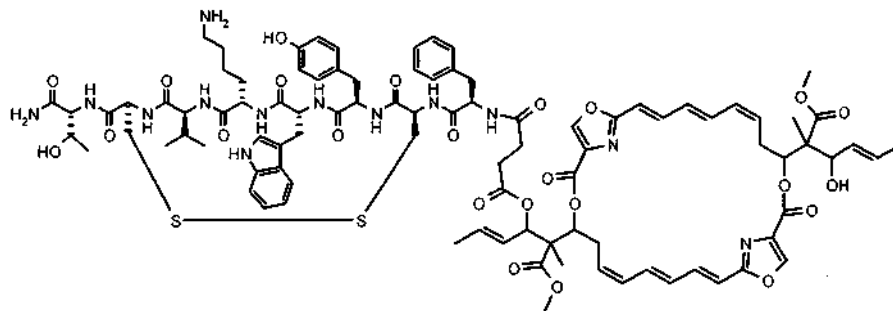


10

"disorazol Z - (glutaril-[D-Lys⁶]LHRH)₂" (compuesto 17):



5 "disorazol Z - succinil-somatostatina" (compuesto 18):



10 Todos los conjugados de disorazol ilustrados en el presente documento, de forma genérica [con las fórmulas (I), (III) o (VI) mencionadas anteriormente y radicales R diferentes] y de forma explícita, en lo sucesivo se denominan los compuestos de la (presente) invención.

Los términos indicados para explicación compuestos de la invención de los mencionados anteriormente siempre, a menos que se indique de otro modo en la descripción o en las reivindicaciones, tienen los siguientes significados:

15 El término "sustituido" se refiere a que el correspondiente radical grupo tiene uno o más sustituyentes. Cuando un radical tiene una pluralidad de sustituyentes, y se especifica una selección de diversos sustituyentes, los sustituyentes se seleccionan independientemente entre sí y no es necesario que sean idénticos. El término "sin sustituir" se refiere a que el correspondiente grupo no tiene sustituyente. La expresión "opcionalmente sustituido" se refiere a que el correspondiente grupo está sin sustituir o sustituido con uno o más sustituyentes. La expresión "sustituido con hasta 3 sustituyentes" se refiere a que el correspondiente radical grupo está sustituido con uno o con dos o tres sustituyentes.

25 El término "alquilo" incluye, para los fines de la presente invención, hidrocarburos acíclicos saturados, parcialmente insaturados o insaturados que tienen C1-C12 átomos de carbono, que pueden ser de cadena lineal o ramificados y pueden contener uno o más dobles enlaces y/o uno o más triples enlaces. El término "alquilo" representa preferentemente cadenas de alquilo de 1 a 8, de forma particularmente preferente de 1 a 6, átomos de carbono.

Algunos ejemplos de radicales alquilo adecuados son metilo, etilo, n-propilo, isopropilo, n-butilo, isobutilo, sec-butilo, terc-butilo, n-pentilo, isopentilo, neo-pentilo, terc-pentilo, 2- o 3-metil-pentilo, n-hexilo, 2-hexilo, isohexilo, n-heptilo, n-octilo, n-nonilo, n-decilo, n-undecilo, n-dodecilo, n-tetradecilo, n-hexadecilo, n-octadecilo, n-icosanilo, n-docosanilo, etilenilo (vinilo), propenilo ($-\text{CH}_2\text{CH}=\text{CH}_2$; $-\text{CH}=\text{CH}-\text{CH}_3$, $-\text{C}(\text{=CH}_2)-\text{CH}_3$), butenilo, pentenilo, hexenilo, heptenilo, octenilo, octadienilo, octadecenilo, octadec-9-enilo, icosenilo, icos-11-enilo, (Z)-icos-11-enilo, docosenilo, docos-13-enilo, (Z)-docos-13-enilo, etinilo, propinilo ($-\text{CH}_2-\text{C}\equiv\text{CH}$, $-\text{C}\equiv\text{C}-\text{CH}_3$), butinilo, pentinilo, hexinilo, heptinilo y octinilo.

El término "cicloalquilo" representa un grupo/radical de hidrocarburo cíclico saturado, que contiene 1, 2 o 3 anillos, incluyendo alquilo monocíclico, alquilo bicíclico y alquilo tricíclico, y que contiene un total de 3 a 20 átomos de carbono que forman los anillos, preferentemente de 3 a 10, lo más preferentemente cicloalquilo (C_3-C_8). Algunos ejemplos de radicales cicloalquilo adecuados son ciclopropilo, ciclobutilo, ciclohexilo, cicloheptilo, ciclooctilo, ciclodecilo.

El término "cicloalquil-alquilo" se refiere a un radical en el que el grupo cicloalquilo está unido a través de un grupo alquilo, en el que los grupos alquilo y cicloalquilo tienen los significados definidos en el presente documento, preferentemente un radical cicloalquil (C_3-C_8)-alquilo (C_1-C_4). Algunos ejemplos del mismo son ciclopropilmetilo, ciclohexilmetilo.

El término "arilo" se refiere a sistemas de hidrocarburo aromático que tienen de 3 a 14, preferentemente de 5 a 14, átomos de carbono. El término "arilo" también incluye sistemas en los que el ciclo aromático es parte de un sistema aromático bi- o policíclico, tal como cuando el ciclo aromático está condensado con un grupo "arilo" como se define en el presente documento a través de cualquier miembro del anillo deseado y posible del radical arilo. Tales radicales "arilo" pueden estar unidos a través de cualquier miembro del anillo. Algunos ejemplos de "arilo" son, entre otros, fenilo, bifenilo, naftilo y antraceno.

El término "heteroarilo" se refiere a un radical aromático cíclico de 5, 6, 7 miembros que comprende al menos 1, cuando sea apropiado también 2, 3, 4 o 5 heteroátomos, preferentemente nitrógeno, oxígeno y/o azufre, en el que los heteroátomos son idénticos o diferentes. El número de átomos de nitrógeno es preferentemente 0, 1, 2 o 3, y el del los átomos de oxígeno y azufre es independientemente 0 o 1. El término "heteroarilo" también incluye sistemas en los que el ciclo aromático es parte de un sistema aromático bi- o policíclico, tal como cuando el ciclo aromático está condensado con un grupo "arilo" o "heteroarilo" como se define en el presente documento a través de cualquier miembro del anillo deseado y posible del radical heteroarilo. Tales radicales "heteroarilo" pueden estar unidos a través de cualquier miembro del anillo. Algunos ejemplos de "heteroarilo" incluyen pirrolilo, tienilo, furilo, imidazolilo, tiazolilo, isotiazolilo, oxazolilo, oxadiazolilo, isoxazolilo, pirazolilo, piridinilo, pirimidinilo, pirazinilo, indolilo, quinolinilo, isoquinolinilo, imidazolilo, triazolilo, tetrazolilo, piridazinilo, ftalazinilo, indazolilo, indolizínilo, quinoxalinilo, quinazolinilo, pteridinilo, carbazolilo, fenazinilo, fenoxazinilo, fenotiazinilo, acridinilo.

Los términos "aril-alquilo" y "heteroaril-alquilo" se refieren a radicales en los que el radical arilo o heteroarilo está unido a través de un grupo alquilo, en los que los grupos alquilo, arilo y heteroarilo tienen los significados definidos en el presente documento. Algunos grupos "aril-alquilo" precedentes son radicales fenil-alquilo (C_1-C_4), preferentemente radicales bencilo o feniletilo. Algunos "heteroaril-alquilo" grupos preferentes son radicales indolil-alquilo (C_1-C_4), preferentemente 1*H*-indol-3-il-metilo o 2-(1*H*-indol-3-il)-etilo.

El término "heterociclilo" se refiere a un sistema mono- o policíclico de 3 a 20, preferentemente de 5 o 6 a 14 átomos en el anillo que comprenden átomos de carbono y 1, 2, 3, 4 o 5 heteroátomos, en particular nitrógeno, oxígeno y/o azufre, que son idénticos o diferentes. El sistema cíclico puede estar saturado, mono- o poliinsaturados pero no puede ser aromático. En el caso de un sistema cíclico que consiste en al menos dos anillos, los anillos pueden estar fusionados o conectados de forma espiro o de otro modo. Tales radicales "heterociclilo" pueden estar unidos a través de cualquier miembro del anillo. El término "heterociclilo" también incluye sistemas en los que el heterociclo es parte de un bi- o policíclico saturado, o parcialmente insaturados, tal como cuando el heterociclo está condensado con un grupo "cicloalquilo" o "heterociclilo" como se define en el presente documento a través de cualquier miembro del anillo deseado y posible del radical heterociclilo. Algunos ejemplos de "heterociclilo" incluyen pirrolidinilo, tiapirrolidinilo, piperidinilo, piperazinilo, oxapiperazinilo, oxapiperidinilo, oxadiazolilo, tetrahidrofurilo, imidazolidinilo, tiazolidinilo, tetrahidropirranilo, morfolinilo, tetrahidrotiofenilo, dihidropirranilo.

El término "heterocicilalquilo" se refiere a radicales en los que el grupo heterociclilo está unido a través de un grupo alquilo, en el que los grupos alquilo y heterociclilo tienen los significados definidos en el presente documento. Los radicales heterocicilalquilo (C_1-C_4) son preferentes.

Los términos "alquilsulfonilo", "arilsulfonilo" y "aril-alquilsulfonilo" se refieren a radicales en los que el grupo alquilo, arilo o aril-alquilo está unido a través de un grupo $-\text{SO}_2-$, en los que los grupos alquilo, arilo y aril-alquilo tienen los significados definidos en el presente documento. Algunos ejemplos son metilsulfonilo y fenilsulfonilo.

El término "halógeno", "átomo de halógeno" o "sustituyente de halógeno" (Hal-) se refiere a uno, cuando sea apropiado, una pluralidad de átomos de flúor (F, fluoro), bromo (Br, bromo), cloro (Cl, cloro), o yodo (I, yodo). Las denominaciones "dihalógeno", "trihalógeno" y "perhalógeno" se refieren respectivamente a dos, tres, cuatro

sustituyentes, en los que cada sustituyente se puede seleccionar independientemente entre el grupo que consiste en flúor, cloro, bromo y yodo. "Halógeno" se refiere preferentemente a un átomo de flúor, cloro o bromo.

5 El término "carbonilo" se refiere a radicales en los que un grupo alquilo, cicloalquilo, cicloalquil-alquilo, arilo, heteroarilo, aril-alquilo, heteroaril-alquilo, heterociclilo y/o heterocicilil-alquilo está unido a través de un grupo -C(O)-, en el que los grupos alquilo, cicloalquilo, cicloalquil-alquilo, arilo, heteroarilo, aril-alquilo, heteroaril-alquilo, heterociclilo y/o heterocicilil-alquilo tienen los significados definidos en el presente documento. Algunos ejemplos son -C(O)-CH₃, -C(O)-CH₂CH₃, -C(O)-isopropilo y -C(O)-tBu (tBu = terc-Butilo).

10 El término "carboxilo" se refiere a radicales en los que un grupo alquilo, cicloalquilo, cicloalquil-alquilo, arilo, heteroarilo, aril-alquilo, heteroaril-alquilo, heterociclilo y/o heterocicilil-alquilo está unido a través de un grupo -C(O)O-, en el que los grupos alquilo, cicloalquilo, cicloalquil-alquilo, arilo, heteroarilo, aril-alquilo, heteroaril-alquilo, heterociclilo y/o heterocicilil-alquilo tienen los significados definidos en el presente documento. Algunos ejemplos son -C(O)O-CH₃ y -C(O)O-fenilo.

15 El término "carboxiléster" se refiere a radicales en los que un grupo alquilo, cicloalquilo, cicloalquil-alquilo, arilo, heteroarilo, aril-alquilo, heteroaril-alquilo, heterociclilo y/o heterocicilil-alquilo está unido a través de un grupo -OC(O)-, en el que los grupos alquilo, cicloalquilo, cicloalquil-alquilo, arilo, heteroarilo, aril-alquilo, heteroaril-alquilo, heterociclilo y/o heterocicilil-alquilo tienen los significados definidos en el presente documento. Algunos ejemplos son acetilo, -OC(O)-fenilo y similares.

20 El término "carbonato" se refiere a radicales en los que un grupo alquilo, cicloalquilo, cicloalquil-alquilo, arilo, heteroarilo, aril-alquilo, heteroaril-alquilo, heterociclilo y/o heterocicilil-alquilo está unido a través de un grupo -OC(O)O-, en el que los grupos alquilo, cicloalquilo, cicloalquil-alquilo, arilo, heteroarilo, aril-alquilo, heteroaril-alquilo, heterociclilo y/o heterocicilil-alquilo tienen los significados definidos en el presente documento. Algunos ejemplos son -OC(O)O-CH₃ y -OC(O)O-fenilo.

25 El término "carbamato" se refiere a radicales en los que un grupo alquilo, cicloalquilo, cicloalquil-alquilo, arilo, heteroarilo, aril-alquilo, heteroaril-alquilo, heterociclilo y/o heterocicilil-alquilo está unido a través de un grupo -OC(O)NH-, un grupo -NHC(O)O-, un grupo -OC(O)NR- o un grupo -NRC(O)O-, en los que R se selecciona independientemente entre el grupo que consiste en "alquilo, cicloalquilo, cicloalquil-alquilo, arilo, heteroarilo, aril-alquilo, heteroaril-alquilo, heterociclilo, heterocicilil-alquilo, halógeno, -F, -Cl, -Br, -I, -N₃, -NO₂, hidroxilo, alcoxilo, amino, imino, hidroxilamino, hidrazinilo, ciano, alquil-ciano, sulfhidrilo", en el que los grupos alquilo, cicloalquilo, cicloalquil-alquilo, arilo, heteroarilo, aril-alquilo, heteroaril-alquilo, heterociclilo, heterocicilil-alquilo, alcoxilo, hidrazinilo y/o alquil-ciano tienen los significados definidos en el presente documento.

30 La expresión "resto de alfa-aminoácido", para el fin de la presente invención, se refiere a los 20 alfa-aminoácidos proteinogénicos conocidos así como a alfa-aminoácidos de origen natural (es decir, en cualquier sistema biológico), tales como por ejemplo selenocisteína, pirrolisina, citrulina, ornitina, homocisteína, *N*-metilariginina, *N*-acetilisina, gamma-carboxiglutamato, 5-hidroxisina, 3-metilhistidina y/o *N,N,N*-trimetilisina. En este sentido, "resto" se refiere a todo el resto de aminoácido que incluye cadena lateral y estructura principal unida a átomo de carbono alfa. La expresión "resto de alfa-aminoácido", para el fin de la presente invención, también se refiere a todos los alfa-aminoácidos conocidos que no son proteinogénicos ni se sabe que tengan un origen natural (es decir, en cualquier sistema biológico). Algunos ejemplos son norleucina, ciclohexilglicina, 2-naftilalanina, alfa-aminoácidos sustituidos (por ejemplo, Tyr o Phe sustituidos por halógeno) así como cadenas laterales de alfa-aminoácido protegidas, en las que un grupo de protección tal como Fmoc, Boc, Cbz, Alloc, tritilo, acetilo y/o bencilo está unido/reacciona directamente con una funcionalización (por ejemplo, resto de amino, hidroxilo y/o carboxilo). En este sentido, "resto" se refiere a todo el resto de aminoácido que incluye la cadena lateral y la estructura principal unida a átomo de carbono alfa.

35 Por consiguiente, la expresión "resto de beta-aminoácido", para el fin de la presente invención, se refiere a todos los beta-aminoácidos conocidos que no son proteinogénicos ni se sabe que tengan origen natural (es decir, en cualquier sistema biológico). En este sentido, "resto" se refiere a todo el resto de aminoácido que incluye cadena lateral y estructura principal unida a átomo de carbono beta.

40 El término "alcoxilo" se refiere a radicales en los que un grupo "alquilo", "cicloalquilo", "cicloalquilalquilo", "arilo", "aril-alquilo", "heteroarilo", "heteroaril-alquilo", "heterociclilo" y/o "heterocicilil-alquilo" está unido a través de un átomo de oxígeno (grupo -O-), en el que "alquilo", "cicloalquilo", "cicloalquil-alquilo", "arilo", "aril-alquilo", "heteroarilo", "heteroaril-alquilo", "heterociclilo" y "heterocicilil-alquilo" tienen los significados definidos en el presente documento.

45 Los términos "mono-alquilamino" y "di-alquilamino" se refieren a radicales en los que uno o dos grupos alquilo, respectivamente, están unidos a través de un átomo de nitrógeno, en los que el grupo alquilo tiene el significado definido en el presente documento. Algunos ejemplos son etilamino, dimetilamino e isopropiletilamino.

50 El término "hidrazinilo" se refiere a un grupo C=N-NH-, NH-N=C-, C=N-NR- y/o NR-N=C-, en los que R se selecciona independientemente entre el grupo que consiste en "alquilo, cicloalquilo, cicloalquil-alquilo, arilo, heteroarilo, aril-

alquilo, heteroaril-alquilo, heterociclilo, heterociclil-alquilo, halógeno, -F, -Cl, -Br, -I, -N₃, -NO₂, hidroxilo, alcoxilo, amino, imino, hidroxilamino, hidrazinilo, ciano, alquil-ciano, sulfhidrilo", en el que los grupos alquilo, cicloalquilo, cicloalquil-alquilo, arilo, heteroarilo, aril-alquilo, heteroaril-alquilo, heterociclilo, heterociclilalquilo, alcoxilo, hidrazinilo y/o alquil-ciano tienen los significados definidos en el presente documento.

5 El término "ciano-alquilo" se refiere a radicales en los que un grupo ciano está unido a través de un grupo alquilo, en el que el grupo alquilo tiene el significado definido en el presente documento. Algunos ejemplos son cianometilo y ciano-n-propilo.

10 El término "disulfidalquilo" se refiere a radicales en los que un grupo alquilo está unido a través de un grupo -S-S-, en el que el grupo alquilo tiene el significado definido en el presente documento.

El término "alquil-sulfhidrilo" se refiere a radicales en los que un grupo alquilo está unido a través de un átomo de azufre, en el que el grupo alquilo tiene el significado definido en el presente documento.

15 Se contemplan todos los estereoisómeros de los compuestos de la invención, ya sea en una mezcla o en forma pura o básicamente pura. Los compuestos de la presente invención pueden tener centros asimétricos en cualquiera de los átomos de carbono incluyendo uno cualquiera de los radicales sustituyentes. En consecuencia, los compuestos de la invención pueden existir en forma de sus racematos, en forma de los enantiómeros y/o diastereómeros puros o
20 en forma de mezclas de estos enantiómeros y/o diastereómeros. Las mezclas pueden tener cualquier proporción de mezcla deseada de los estereoisómeros. Todas estas diferentes formas y mezclas estereoquímicas están dentro del alcance de la presente invención.

25 Por lo tanto, por ejemplo, los compuestos de la invención que tienen uno o más centros de quiralidad y que se producen como racematos o como mezclas de diastereómeros se pueden fraccionar con métodos conocidos *per se* en sus isómeros ópticamente puros, es decir, enantiómeros o diastereómeros. La separación de los compuestos de la invención se puede producir mediante separación en columna en fases quirales o no quirales o mediante
30 recristalización en un disolvente opcionalmente ópticamente activo o con el uso de un ácido o base ópticamente activos o mediante derivatización con un reactivo ópticamente activo tal como, por ejemplo, un alcohol ópticamente activo, y posterior eliminación del radical.

Para evitar dudas, los compuestos de la invención pueden estar presentes en forma de todos los posibles isómeros con doble enlace, tales como isómeros E o Z "puros" o mezclas de estos isómeros con doble enlace.

35 Cuando sea posible, los compuestos de la invención pueden estar en forma de los tautómeros.

Del mismo modo, para los compuestos de la invención es posible que estén en forma de cualquier profármaco deseado tal como, por ejemplo, ésteres, carbonatos, carbamatos, ureas, amidas o fosfatos, en cuyos casos, la forma biológicamente activa real se libera solamente a través del metabolismo. Cualquier compuesto o que se pueda
40 convertir *in vivo* para proporcionar el agente bioactivo (es decir, un compuesto de la invención) es un profármaco.

En la técnica se conocen bien diversas formas de profármacos y por ejemplo se describen en:

(i) The Practice of Medicinal Chemistry (Wermuth CG *et al.*, Capítulo 31, Academic Press 1996);

45 (ii) Design of Prodrugs (editor: Bundgaard H, Elsevier 1985); y

(iii) A Textbook of Drug Design and Development (Krogsgaard-Larson P y Bundgaard H, eds., Capítulo 5: 113 - 191, Harwood Academic Publishers 1991).

50 Dichas referencias se incorporan en el presente documento por referencia.

Además se sabe que algunas sustancias químicas se convierten en metabolitos en el organismo que, cuando sea apropiado, pueden provocar del mismo modo el efecto biológico deseado - en algunas circunstancias incluso de una
55 manera más pronunciada.

Cualquier compuesto biológicamente activo que se convirtió *in vivo* mediante el metabolismo de cualquier compuesto de la invención es un metabolitos dentro del alcance y el espíritu de la invención.

60 Los compuestos de la invención, si tienen un grupo lo suficientemente básico tal como, por ejemplo, una amina primaria, secundaria o terciaria, se pueden convertir en sales con ácidos inorgánicos y orgánicos. Las sales farmacéuticamente aceptables de los compuestos de la invención se forman preferentemente con ácido clorhídrico, ácido bromhídrico, ácido yodhídrico, ácido sulfúrico, ácido fosfórico, ácido metanosulfónico, ácido p-toluenosulfónico, ácido carbónico, ácido fórmico, ácido acético, ácido sulfoacético, ácido trifluoroacético, ácido oxálico, ácido
65 malónico, ácido maleico, ácido succínico, ácido tartárico, ácido racémico, ácido málico, ácido embónico, ácido mandélico, ácido fumárico, ácido láctico, ácido cítrico, ácido taurocólico, ácido glutárico, ácido esteárico, ácido

5 glutámico o ácido aspártico. Las sales que se forman son, entre otros, clorhidratos, cloruros, bromhidratos, bromuros, yoduros, sulfatos, fosfatos, metanosulfonatos, tosilatos, carbonatos, bicarbonatos, formiatos, acetatos, sulfoacetatos, triflato, oxalatos, malonatos, maleatos, succinatos, tartratos, malatos, embonatos, mandelatos, fumaratos, lactatos, citratos, glutarato, estearato, aspartatos y glutamatos. La estequiometría de las sales formadas a partir de los compuestos de la invención puede ser además un múltiplo integral o no integral de uno.

10 Los compuestos de la invención, si contienen un grupo lo suficientemente ácido tal como, por ejemplo, el grupo carboxi, ácido sulfónico, ácido fosfórico o un grupo fenólico, se pueden convertir con bases inorgánicas y orgánicas en su sales fisiológicamente toleradas. Algunos ejemplos de bases inorgánicas adecuadas son amonio, hidróxido sódico, hidróxido potásico, hidróxido de calcio, y de bases orgánicas son etanolamina, dietanolamina, trietanolamina, etilendiamina, t-butilamina, t-octilamina, deshidroabietilamina, ciclohexilamina, dibenciletileno-diamina y lisina. La estequiometría de las sales formadas a partir de los compuestos de la invención puede ser además un múltiplo integral o no integral de uno.

15 Del mismo modo, para los compuestos de la invención es posible que estén en forma de sus solvatos y, en particular, hidratos que se pueden obtener, por ejemplo, mediante cristalización en un disolvente o a partir de solución acuosa. Además es posible que una, dos, tres o cualquier número de moléculas de solvato o agua se combinen con los compuestos de la invención para dar solvatos e hidratos.

20 Se sabe que algunas sustancias químicas forman sólidos que existen en diferentes estados ordenados que se denominan formas o modificaciones polimórficas. Las diversas modificaciones de una sustancia polimórfica se pueden diferenciar en gran medida en sus propiedades físicas. Los compuestos de la invención pueden existir en diversas formas polimórficas, y además ciertas modificaciones pueden ser metaestables. Se debe contemplar que todas estas formas polimórficas de los compuestos de la invención pertenecen a la invención.

25 Los compuestos de la invención se caracterizan de forma ventajosa por una acción biológica fuerte. Con respecto a los conjugados de disorazol de la presente invención, son superiores a los conjugados de la técnica anterior debido a un aumento de la potencia inherente. Además, en particular los conjugados de C1-B1-A-B2-C2 bis-sustituídos presentan de forma sorprendente una especificidad más elevada y una reducción de la toxicidad antes de liberar el resto de disorazol citotóxico.

30 Con los conjugados de la presente invención, es posible una dirección específica de los tejidos (tumor) de interés, por ejemplo mediante el uso de un receptor-ligando deseado como molécula de unión celular que dirige el conjugado a tales tejidos que expresan receptor (tumor). Además, la dirección específica de forma ventajosa da como resultado concentraciones locales del conjugado elevadas *in situ* (en el sitio del tumor) conduciendo a un aumento significativo de la eficacia. Estas ventajas se pueden traducir en reducciones de las dosis de un fármaco potencial administrado en la clínica así como menos o ningún efecto medicinal adverso.

40 En otro aspecto, el objetivo de la presente invención se ha conseguido de forma sorprendente al proporcionar un proceso para preparar los compuestos de la invención.

En una realización preferente, se proporciona un proceso para preparar los compuestos de la invención que comprende las etapas:

45 a) hacer reaccionar un compuesto de disorazol con un conector, preferentemente un conector anhídrido, para producir un resto de disorazol-conector mono- y/o bifuncionalizado,

50 b) opcionalmente, separar (purificar) el resto de disorazol-conector mono- y/o bifuncionalizado a partir de eductos de reacción y productos secundarios,

c) acoplar el resto del disorazol-conector mono- y/o bifuncionalizado opcionalmente separado (purificado) con moléculas de unión celular para producir un conjugado de disorazol de fórmula (I) C1 - B1 - A - B2 - C2 y/o fórmula (IV) C1 - B1 - A,

55 d) opcionalmente, separar (purificar) el conjugado de disorazol de fórmula (I) C1 - B1 - A - B2 - C2 y/o fórmula (IV) C1 - B1 - A a partir de eductos de reacción y productos secundarios.

60 Los compuestos de la invención se pueden administrar a diversas especies de mamíferos, incluyendo ser humano, para el tratamiento o profilaxis de afecciones fisiológicas y/o patofisiológicas.

65 Para el fin de la presente invención, se contempla que están incluidas todas las especies de mamífero. Preferentemente, tales mamíferos se seleccionan entre el grupo que consiste en "ser humano, animales domésticos, ganado, animales de granja, mascotas, vacas, ovejas, cerdos, cabras, caballos, pony, burros, burdégano, mula, liebre, conejo, gato, perro, cobaya, hámster, rata, ratón". Más preferentemente, tales mamíferos son seres humanos.

En otro aspecto, el objetivo de la presente invención se ha conseguido de forma sorprendente al proporcionar los compuestos de la invención para la preparación de un medicamento.

5 En otro aspecto, el objetivo de la presente invención se ha conseguido de forma sorprendente al proporcionar los compuestos de la invención para la preparación de un medicamento para el tratamiento y/o profilaxis de "leucemia aguda, adenocarcinoma, basalioma, tumores benignos, cáncer de vejiga, cáncer intestinal, tumores cerebrales, cáncer de mama, carcinoma bronquial, carcinoides, carcinomas, cáncer de cuello uterino, carcinoma de cuello uterino, leucemia crónica, cáncer de colon, carcinoma de colon, cáncer colorrectal, cáncer de tejido conectivo, carcinoma de cuerpo uterino, cáncer de endometrio, cáncer de esófago, Sarcoma de Ewing, gastrinoma, glioblastoma, glioma, tumores ginecológicos, cáncer de cabeza y/o cuello, hepatoblastoma, hepatoma, hiperplasia, enfermedades hiperproliferativas, melanoma intraocular, Sarcoma de Kaposi, carcinoma de laringe, cáncer de laringe, leiomioma, leucemia, tumor de hígado, cáncer de pulmón, cáncer de pulmón no microcítico, linfoma, tumores malignos, carcinoma de mama, meduloblastoma, melanoma, mieloma múltiple, nefroblastoma, neuroblastoma, tumores neuroendocrinos, osteosarcoma, cáncer de ovario, tumor de páncreas, cáncer de próstata, carcinoma de próstata, carcinoma rectal, carcinoma renal, carcinoma de células renales, retinoblastoma, tumor rhabdoide, sarcomas, cáncer de piel, sarcoma de parte blanda, tumores sólidos, espolioma, cáncer de estómago, cáncer de testículo, timoma, cáncer de glándula tiroidea, tumores que comienzan en el cerebro y/o sistema nervioso y/o meninges (documento WO 99/01764), cáncer urinario y/o cáncer de útero".

20 En un aspecto adicional, el objetivo de la presente invención se ha conseguido de forma sorprendente al proporcionar los compuestos de la invención para la preparación de un medicamento, en los que el medicamento comprende adicionalmente al menos una sustancia farmacéuticamente activa adicional.

25 En un aspecto adicional, el objetivo de la presente invención se ha conseguido de forma sorprendente al proporcionar los compuestos de la invención para la preparación de un medicamento, en los que el medicamento se aplica antes y/o durante y/o después del tratamiento con al menos una sustancia farmacológicamente activa adicional.

30 En un aspecto adicional, el objetivo de la presente invención se ha conseguido de forma sorprendente al proporcionar los compuestos de la invención para la preparación de un medicamento, en los que el medicamento se administra antes y/o durante y/o después de tratamiento con terapia de radiación y/o cirugía.

35 En el transcurso de la presente invención, los compuestos de la invención se pueden administrar de este modo como se ilustra como sustancias individuales o en combinación con todas las sustancias farmacológicamente activas conocidas en el transcurso de una terapia de combinación.

40 En una realización preferente, los compuestos de la invención se proporcionan para usos ilustrados anteriormente, en los que la sustancia farmacológicamente activa adicional se selecciona entre el grupo que consiste en: "inhibidores de la ADN topoisomerasa I y/o II, agentes de intercalado de ADN, agentes de alquilación, desestabilizadores de microtúbulos, agonistas y/o antagonistas de receptor hormonal y/o factor de crecimiento, inhibidores de transducción de señales, anticuerpos frente a factores de crecimiento y sus receptores, inhibidores de quinasa, antimetabolitos".

45 En una realización preferente, los compuestos de la invención se proporcionan para usos ilustrados anteriormente, en los que la sustancia farmacológicamente activa adicional se selecciona entre el grupo que consiste en: "actinomicina D, aminoglutetimida, asparaginasa, avastina, azatioprina, BCNU (carmustina), bleomicina, busulfán, carboplatino, CCNU (lomustina), clorambucilo, cisplatino, colaspasa, ciclofosfamida, citarabina, dactinomicina, daunorrubicina, dietilestilbestrol, docetaxel, doxorubicina (adriamicina), DTIC (dacarbacina), epirubicina, epotilona, erbitux, eritrohidroxinoniladenina, etinilestradiol, etopósido, fosfato de fludarabina, fluoximasterona, flutamida, gemcitabina, gleevec/glivec, herceptin, hexametilmelamina, hidroxurea, caproato de hidroxiprogesterona, idarrubicina, ifosfamida, interferón, iressa, irinotecán, L-asparaginasa, leucovorina, mecloretamina, acetato de medroxiprogesterona, acetato de megestrol, melfalán, mesna, metotrexato, mitomicina C, mitotano, mitoxantrona, N-fosfonoacetil-L-aspartato (PALA), oxaliplatino, paclitaxel, pentostatina, plicamicina, prednisolona, prednisona, procarbazona, raloxifeno, rapamicina, semustina, sorafenib, estreptozocina, tamoxifeno, tarceva, taxotere, tenipósido, propionato de testosterona, tioguanina, tiotepa, topotecán, trimetilemelamina, uridina, vinblastina, vincristina, vindesina, vinorelbina, 2',2'-difluorodesoxicitidina, monofosfato de 5-fluorodesoxiuridina, 5-azacitidina cladribina, 5-fluorodesoxiuridina, 5-fluorouracilo (5-FU), 6-mercaptapurina".

60 Los compuestos de la presente invención se pueden administrar de una manera conocida. Por lo tanto, la vía de administración puede ser cualquier vía que transporte el compuesto activo de forma eficaz al sitio de acción apropiado o deseado, por ejemplo por vía no oral o por vía oral, en particular por vía intravenosa, por vía tópica, por vía transdérmica, por vía pulmonar, por vía rectal, por vía intravaginal, por vía nasal o parenteral o mediante implante. La administración intravenosa es preferente.

65 Los compuestos de la invención se convierten en una forma que se puede administrar y se mezclan cuando sea apropiado con vehículos o diluyentes farmacéuticamente aceptables. Algunos excipientes y vehículos adecuados se

describen por ejemplo en la Encyclopedia of Technical Chemistry de Ullman, Vol. 4, (1953), 1-39; Journal of Pharmaceutical Sciences, Vol. 52 (1963), 918 y siguientes; H. v. Czetsch-Lindenwald, "Hilfsstoffe für Pharmazie und angrenzende Gebiete"; Pharm. Ind. 2, 1961, 72 y siguientes; Dr. H.P. Fiedler, "Lexikon der Hilfsstoffe für Pharmazie, Kosmetik und angrenzende Gebiete", Cantor KG, Aulendorf in Württemberg, 1971.

5 La administración no oral se puede producir por ejemplo mediante inyección intravenosa, subcutánea, intramuscular de soluciones, suspensiones o emulsiones acuosas u oleosas estériles, por medio de implantes o mediante pomadas, cremoso supositorios. La administración como forma de liberación sostenida también es posible cuando sea apropiado. Los implantes pueden comprender materiales inertes, por ejemplo polímeros o siliconas sintéticas
10 biodegradables tales como, por ejemplo, goma de silicona. La administración intravaginal es posible por ejemplo por medio de anillos vaginal. La administración intrauterina es posible por ejemplo por medio de diafragmas u otros dispositivos intrauterinos adecuados. La administración transdérmica se proporciona adicionalmente, en particular por medio de una formulación adecuada y/o medio adecuado para este fin tal como, por ejemplo, parches.

15 La administración oral se puede producir por ejemplo en forma sólida como comprimido, cápsula, cápsula de gel, comprimido revestido, granulación o polvo, y además en forma de una solución que se puede beber. Para administración oral, los compuestos de la invención se pueden combinar con excipientes y vehículos fisiológicamente tolerados conocidos y usados normalmente, tales como, por ejemplo, goma arábiga, talco, almidón, azúcares tales como, por ejemplo, manitol, metilcelulosa, lactosa, gelatina, agentes de superficie activa, estearato de
20 magnesio, ciclodextrinas, vehículos, diluyentes, dispersantes, emulgentes, lubricantes, conservantes y saborizantes (por ejemplo, aceites esenciales) acuosos o no acuosos. Los compuestos de la invención también se pueden dispersar en una composición de micropartículas, por ejemplo nanopartículas.

Como ya se ha explicado anteriormente, los compuestos de la invención también se pueden combinar con otros
25 principios activos farmacéuticos. Para los fines de la terapia de combinación es posible administrar los principios activos individuales de forma simultánea o por separada, en particular ya sea por la misma ruta (por ejemplo, por vía intravenosa) o mediante rutas separadas (por ejemplo, por vía intravenosa y como aplicación oral). Pueden estar presentes y se pueden administrar en cantidades idénticas o diferentes en una dosis unitaria. También es posible usar un régimen de dosificación en particular cuando esto parezca apropiado. También es posible de este modo
30 combinar una pluralidad de los nuevos compuestos de la invención de las fórmulas generales entre sí.

La dosificación puede variar dentro de un amplio intervalo dependiendo del tipo y/o gravedad de la afección fisiológica y/o patofisiológica, el modo de administración, la edad, género, peso corporal y sensibilidad del sujeto a
35 tratar. Dentro de la capacidad de una persona experta está determinar una "cantidad farmacológicamente eficaz" de un compuesto de la invención y/o sustancia farmacológicamente activa adicional. La administración se puede producir en una sola dosis o una pluralidad de dosificaciones separadas.

Una dosis unitaria adecuada es, por ejemplo, de 0,0001 mg a 100 mg del principio activo, es decir, al menos un
40 compuesto de la invención y, cuando sea apropiado, al menos una sustancia farmacológicamente activa adicional, por kg de peso corporal de un paciente.

En otro aspecto, la presente invención se refiere a una composición farmacéutica que comprende una cantidad farmacológicamente activa de al menos un compuesto de la invención, en particular "disorazol A1 - succinil-[D-Lys⁶]LHRH" (compuestos 11 y 12 regioisoméricos), disorazol E1-succinil-[D-Lys⁶]LHRH" (compuestos 13 y 14 regioisoméricos), disorazol A1 - (succinil-[D-Lys⁶]LHRH)₂" (compuesto 15), disorazol Z - succinil-[D-Lys⁶]LHRH" (compuesto 16), disorazol Z - (glutaril-[D-Lys⁶]LHRH)₂" (compuesto 17), disorazol Z - succinil-somatostatina" (compuesto 18).

En un aspecto adicional, tal composición farmacéutica puede comprender adicionalmente al menos un vehículo y/o
50 excipiente farmacéuticamente aceptables y/o puede comprender al menos una sustancia farmacológicamente activa adicional.

En una realización preferente, tal sustancia farmacológicamente activa adicional se selecciona entre el grupo que consiste en: "inhibidores de la ADN topoisomerasa I y/o II, agentes de intercalado de ADN, agentes de alquilación, desestabilizadores de microtúbulos, agonistas y/o antagonistas de receptor hormonal y/o factor de crecimiento, inhibidores de transducción de señales, anticuerpos frente a factores de crecimiento y sus receptores, inhibidores de
55 quinasa, antimetabolitos".

En una realización preferente adicional, tal sustancia farmacológicamente activa adicional se selecciona entre el
60 grupo que consiste en: "actinomicina D, aminoglucetimidina, asparaginasa, avastina, azatioprina, BCNU (carmustina), bleomicina, busulfán, carboplatino, CCNU (lomustina), clorambucilo, cisplatino, colaspasa, ciclofosfamida, citarabina, dactinomicina, daunorrubicina, dietilestilbestrol, docetaxel, doxorubicina (adriamicina), DTIC (dacarbacina), epirubicina, epotilona, erbitux, eritrohidroxinoniladenina, etinilestradiol, etopósido, fosfato de fludarabina, flouximasterona, flutamida, gemcitabina, gleevec/glivec, herceptin, hexametilmelamina, hidroxurea, caproato de hidroxiprogesterona, idarrubicina, ifosfamida, interferón, iressa, irinotecán, L-asparaginasa, leucovorina,
65 mecloretamina, acetato de medroxiprogesterona, acetato de megestrol, melfalán, mesna, metotrexato, mitomicina C,

mitotano, mitoxantrona, N-fosfonoacetil-L-aspartato (PALA), oxaliplatino, paclitaxel, pentostatina, plicamicina, prednisolona, prednisona, procarbazona, raloxifeno, rapamicina, semustina, sorafenib, estreptozocina, tamoxifeno, tarceva, taxotere, tenipósido, propionato de testosterona, tioguanina, tiotepa, topotecán, trimetilemelamina, uridina, vinblastina, vincristina, vindesina, vinorelbina, 2',2'-difluorodesoxicitidina, monofosfato de 5-fluorodesoxiuridina, 5-azacitidina cladribina, 5-fluorodesoxiuridina, 5-fluorouracilo (5-FU), 6-mercaptopurina".

Con respecto a las composiciones farmacéuticas de la invención, al menos un compuesto de la invención está presente en una cantidad farmacológicamente eficaz, preferentemente en una dosis unitaria, por ejemplo la dosis unitaria mencionada anteriormente, de forma específica y preferentemente en una forma de administración que hace posible la administración intravenosa. Además, se puede hacer referencia a lo que ya se ha dicho en conexión con los posibles usos y administraciones de los compuestos de la invención.

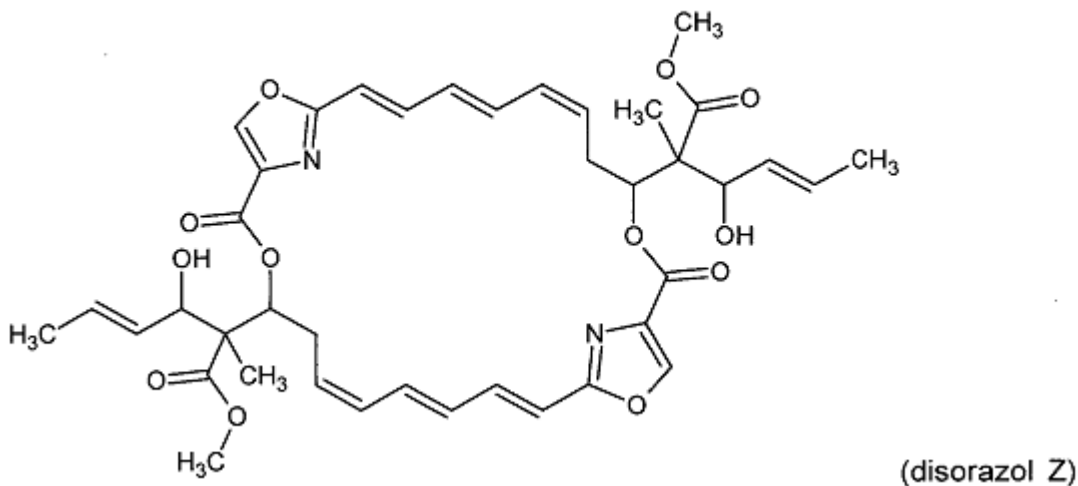
En un aspecto adicional, el objetivo de la presente invención se ha conseguido de forma sorprendente al proporcionar un kit que comprende una cantidad farmacológicamente activa de al menos un compuesto de la invención y una cantidad farmacológicamente activa de al menos una sustancia farmacéuticamente activa adicional como se ha definido anteriormente.

Síntesis química

En esta sección se proporcionan métodos de síntesis general para la generación de conjugados de disorazol de las fórmulas generales (I) C1 - B1 -A- B2 - C2 y (IV) C1 - B1 -A.

En la técnica anterior se conocen estrategias de síntesis y/o aislamiento total para obtener disorazoles y se describen, por ejemplo, en los siguientes documentos de la técnica anterior: Jansen R *et al.*, Liebigs Ann. Chem. 1994, (8): 759-773; documento WO 2004/024149; Wipf *et al.*, Chem. Biol. Drug Des. 2006, 67 (1): 66-73; Hillier MC *et al.*, J. Org. Chem. 2001, 66: 6037-6045; Hartung IV *et al.*, Organic Letters 2002, 4 (19): 3239-3242; Wipf P *et al.*, J. Am. Chem. Soc. 2004, 126 (47): 15346-15347; Carvalho R *et al.*, Gene 2005, 359: 91-98; Kopp M *et al.*, Chembiochem. 2005, 6 (7): 1277-1286; documento WO 2006/075013.

Disorazol Z



se puede sintetizar totalmente de forma química de acuerdo con las descripciones de la técnica anterior enumeradas anteriormente o se puede producir mediante fermentación como se ilustra en II) en la sección de ejemplos.

La síntesis de conjugados de acuerdo con la invención se realizó a través de química orgánica habitual basada en solución.

A. Derivatización de grupos hidroxilo secundario de disorazol a través de esterificación con anhídridos orgánicos

En una reacción habitual, el disorazol sólido se disolvió en piridina sin agua, secada previamente sobre tamiz molecular (40 nm). En atmósfera de nitrógeno, se añadieron 1-2,5 equivalentes molares de DMAP y 1,5-10 equivalentes molares del anhídrido orgánico (anhídrido glutárico, anhídrido succínico) como se calcula para cualquiera de mono o bis-esterificación de los dos grupos OH secundarios dentro de las moléculas de disorazol diferentes. Opcionalmente, se añadió tamiz molecular a la reacción con el fin de garantizar las condiciones sin agua en cualquier momento. La mezcla se agitó durante 6 h - 5 d, opcionalmente a temperatura ambiente o temperatura

del baño a 60 °C, con respecto a los respectivos derivados deseados. La esterificación se controló por HPLC-UV analítica.

Condiciones habituales de HPLC analítica:

Eluyente A	: NH ₄ OAc 20 mM, AcN al 5 % (v/v), HOAc al 0,2 % (v/v)
Eluyente B	: AcN al 95 % (v/v), H ₂ O al 5 % (v/v)
Columna	: Merck LiChrosphere 100 C ₁₈ , 5 µm, 250 x 4 mm
Flujo	: 1 ml/min
Detección	: UV-DAD, 220-380 nm
Gradiente	: B al 40 % - 100 % en 18 min, B al 100 % durante 5 min, B al 100 % - 40 % en 2 min

- 5 La purificación del disorazol mono o bis-esterificado se realizó ya sea mediante cromatografía líquida ultrarrápida automatizada usando el sistema Isco Companion o mediante HPLC preparativa. Por lo tanto, el exceso de piridina de la mezcla de reacción se retiró a presión reducida y el residuo oleoso se acidificó con ácido acético al 10 % a pH 4-6. Para purificación de Companion, la fase acuosa acidificada se extrajo varias veces con acetato de etilo, los extractos orgánicos se combinaron, se secaron sobre sulfato sódico y se adsorbieron material vehículo de RP a presión reducida. La cromatografía ultrarrápida se usó para purificación de los disorazoles bis-esterificados y se realizó en condiciones de fase inversa con AcN al 5 % (v/v), HOAc al 0,1 % como eluyente A y AcN al 95 % como eluyente B.

- 15 Para HPLC preparativa, la mezcla acuosa acidificada se diluyó con eluyente de partida (B al 50 %), se filtró a través de una membrana de filtro de jeringa y se inyectó en el sistema de HPLC preparativa.

Condiciones habituales de HPLC preparativa:

Eluyente A	: NH ₄ Oac 20 mM, AcN al 5 % (v/v), HOAc al 0,2 % (v/v)
Eluyente B	: AcN al 95 % (v/v), H ₂ O al 5 % (v/v)
Columna	: Macherey y Nagel VarioPrep Nucleodur 100 C ₁₈ , 7 µm, 250 x 21 mm
Flujo	: 20 ml/min
Detección	: UV
Gradiente	: B al 50 % durante 5 min, al B 50 % - 100 % en 25 min, B al 100 % durante 10 min

- 20 Las fracciones de LC que contenían los productos deseados se analizaron mediante HPLC analítica, sin AcN ni HOAc a presión reducida y el concentrado acuoso liofilizado para dar los respectivos ésteres en forma de compuestos sólidos.

B. Acoplamiento de amida de ésteres mono y bis hemi-carboxílicos de disorazol con péptidos

- 25 Los derivados carboxílicos de disorazol mono y bis funcionalizados se acoplaron a péptidos mediante una estrategia clásica de acoplamiento de amida. En resumen, el compuesto carboxílico de disorazol se disolvió en DMF seca con 3-6 mol equivalentes de DIPEA y se activó mediante la adición de 1,1-1,5 equivalentes molares de HATU por resto de carboxilo libre y posterior agitación durante 15 minutos a temperatura ambiente. El compuesto peptídico portador de un grupo amino libres y añadió a continuación con un ligero exceso molar (1,1-1,3 equiv.) y la mezcla de reacción se agitó durante 0,5-12 h a temperatura ambiente. La eficacia del acoplamiento se controló mediante HPLC analítica (método descrito anteriormente).

- 35 Para la purificación con HPLC preparativa, la solución de DMF se acidificó a pH 5-6 con HOAc al 10 % y se diluyó con 4-6 volúmenes de eluyente de partida (B al 40-50 %). El mismo método de HPLC preparativa habitual se usó como se ha descrito anteriormente. Se obtuvieron conjugados puros después de la evaluación de HPLC analítica de la fracción respectiva, retirando AcN y HOAc a presión reducida y posterior liofilización del concentrado acuoso.

C. Acoplamiento de amida de ésteres bis hemi-carboxílicos de disorazol con albúmina de suero

- 40 El acoplamiento de derivados de disorazol funcionalizados a proteínas más grandes tales como albúmina de suero se realizó usando el método de NHS/DCC. Se usaron diferentes proporciones molares de proteína y compuesto de disorazol para conseguir diversas tasas de carga de disorazol y la proteína vehículo. En una reacción habitual, la albúmina de suero se disolvió en PBS 10 mM a pH 7,4 a una concentración inicial de 20 mg/ml. La dilución posterior a 1:1 (v/v) con DMF proporcionó una solución transparente de albúmina de suero con una concentración final de 10 mg/ml. Los ésteres bis o mono hemi carboxílicos de disorazol se disolvieron en DMF, se añadieron 1,2-5

equivalentes de DCC y 2-10 equivalentes de NHS y se agitó durante 20 min para permitir la formación del éster de NHS activado. La eficacia de la activación se calculó mediante HPLC analítica (para el método habitual mencionado anteriormente). Se añadieron distintas alícuotas de esta solución gota a gota y con agitación vigorosa a la solución de tampón de albúmina de suero/DMF. Las proporciones de disorazol-éster de NHS y albúmina de suero se eligieron con respecto a diferentes tasas de carga basándose en datos empíricos. El acoplamiento de amida acuosa se realizó de 20 minutos a temperatura ambiente. La mezcla de reacción ligeramente turbia a continuación se filtró al vacío a través de un Filtro SteriCup (Milipore) y el filtro se elaboró con agua desionizada. A continuación, el filtrado se diluyó con agua desionizada y los compuestos de bajo peso molecular se separaron mediante ultrafiltración. Por lo tanto, el filtrado de SteriCup diluido se puso en una unidad de filtración AmiconUltra (Milipore) con un tamaño de exclusión de 30.000 Da y se centrifugó a 4.000 x g durante 15 min. La solución de proteína retenida, concentrada se lavó 3 veces con agua desionizada y se centrifugó para retirar todos los excesos de sales, DMF y disorazol sin unir y DCC/NHS. La solución de conjugado de albúmina de suero y disorazol se liofiliza posteriormente para dar cristales de color amarillo pálido. El ultrafiltrado se analizó para disorazol sin unir mediante HPLC analítica usando el método habitual descrito anteriormente para calcular las tasas de carga media de disorazol por molécula de albúmina de suero.

D. Oxidación de disorazoles con el reactivo peryodinano de Dess-Martin

Los disorazoles (A1, E1 o Z por ejemplo) se disolvieron en diclorometano. Se añadieron 12 equivalentes molares de piridina y la mezcla se enfrió a menos de 5 °C en un baño de hielo. Se añadieron 3 equivalentes molares de reactivo peryodinano de Dess-Martin (triacetoxiperyodinano) en varias porciones y la reacción se dejó en agitación en el baño de hielo durante 15 minutos. La mezcla se calentó a temperatura ambiente y la agitación continuó durante 30 minutos (control de TLC con diclorometano/metanol a 95:5). La mezcla de reacción se diluyó con acetato de etilo y se vertió en ácido clorhídrico 0,5 N. La fase orgánica se lavó con salmuera hasta que era casi neutra (pH 6), se secó sobre sulfato sódico y se redujo al vacío. La cromatografía ultrarrápida posterior con diclorometano/metanol proporcionó los derivados de disorazol-cetona.

E. Abreviaturas

30	5-FU	5-fluorouracilo
	AcN	acetonitrilo
	Ala	alanina(ilo)
	Aloc	aliloxicarbonilo
	Arg	arginina(ilo)
35	Asn	asparagina(ilo)
	BCNU	carmustina
	Boc	terc-Butiloxicarbonilo
	Cbz	carbобенzoxicarbonilo
	CCNU	lomustina
40	Cit	citulina
	DCC	N, N'-diciclohexilcarbodiimida
	DCM	diclorometano
	DIPEA	diisopropiletil amina
	DMAP	N,N'-4-dimetilamino piridina
45	DMEM	Medio de Eagle Modificado con Dulbecco
	DMF	N,N'-Dimetilformamida
	DMSO	dimetilsulfóxido
	Dox	doxorubicina
	DTIC	dacarbacina
50	por ejemplo	ejemplo dado
	EDTA	ácido etilendiamin-tetraacético
	ELISA	Ensayo de Inmunoabsorción Ligado a Enzimas
	Fmoc	9-fluorenilmetoxicarbonilo
	Gln	glutamina(ilo)
55	Glp	piroglutamato(ilo)
	h	hora
	HATU	hexafluorofosfato de N,N,N',N'-tetrametil-O-(7-azabenzotriazol-1-il)uronio
	HEPES	ácido N-(2-hidroxi-etil)piperazin-N'-2-etanosulfónico,
	HOAc	ácido acético
60	HOBt	1-hidroxibenzotriazol
	HSA	albúmina de suero humano
	hTyr	homo-tirosina(ilo)
	Hyp	Hidroxiprolina
	Ile	isoleucina(ilo)
65	IPA	alcohol isopropílico
	Leu	leucina(ilo)

	LH	hormona luteinizante
	LHRH (GnRH)	hormona liberadora de hormona luteinizante
	LHRH-R	receptor de hormona liberadora de hormona luteinizante
	Lys	lisina(ilo)
5	MDS	metildisulfanilo
	Me	metilo
	D-/L-Mel	(4-[bis(2-cloroetil)amino]-D/L-fenilalanina)
	MeOH	metanol
	min	minuto
10	ml	mililitro
	NHS	N-hidroxisuccinimida
	Nle	norleucina
	PALA	N-fosfonoacetil-L-aspartato
	PEG2	polietilenglicol que consiste en 2 restos de etilenglicol
15	PEG3	polietilenglicol que consiste en 3 restos de etilenglicol
	PEG7	polietilenglicol que consiste en 7 restos de etilenglicol
	PMS	metilsulfato de N-metildibenzopirazina
	Pir	piroglutamato(ilo)
	RIA	Radio Inmuno Ensayo
20	TA	temperatura ambiente
	Sar	sarcosina
	tBu	terc-butilo
	TEA	trietil amina
	TFA	ácido trifluoro acético
25	THF	tetrahidrofurano
	TLC	cromatografía de capa fina
	Tpi	ácido tetrahidronorharman-3-carboxílico
	tritol	trifenilcarbonilo
	Tyr	tirosina(ilo)
30	Val	valina(ilo)
	XTT	ácido sodio 3'-[1-(fenilaminocarbonil)-3,4-tetrazolio]-bis(4-metoxi-6-nitro)bencenosulfónico

Breve descripción de las figuras

35 Las **Figuras 9 - 14** muestran los espectros de RMN H medidos de compuestos de la invención seleccionados: **compuestos 11/12, 13/14, 15, 16, 17, 18.**

40 Los contenidos de todas las referencias y patentes mencionadas se incorporan por la presente por referencia. La invención se explica con más detalle por medio de los siguientes ejemplos sin embargo, sin quedar limitada a los mismos.

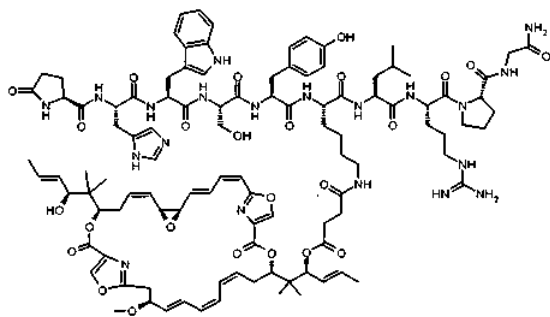
Ejemplos

I) Síntesis de compuestos de la invención

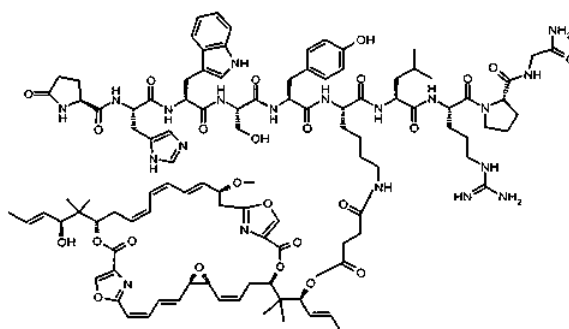
45

Ejemplo 9

Disorazol A1 mono hemi succinilo [D-Lys⁶]LHRH, ambos regioisómeros (11) y (12)



(11)



(12)

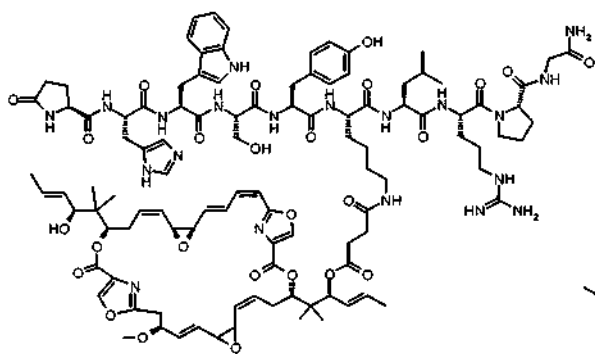
De acuerdo con el procedimiento de síntesis general enumerado como B., 6 mg de mono hemi succinato de disorazol A1 (mezcla a 1:1 de ambos regioisómeros) y 3,2 mg de HATU se disolvieron en 0,25 ml de DMF. Se añadieron 5 μ l de DIPEA y se agitó durante 20 min. a t.a. para permitir la formación del complejo de éster activado. Se disolvieron 10,1 mg de péptido [D-Lys⁶]LHRH en 0,25 ml de DMF, se añadió a la mezcla y la reacción se agitó durante 1,5 h a temperatura ambiente. La reacción se controló por HPLC-UV y la mezcla se sometió posteriormente a HPLC preparativa. Por lo tanto, la mezcla de reacción se diluyó con 1,5 ml de mezcla del disolvente B al 40 % (A: NH₄AcO 20 mM, AcN al 5 %, HOAc al 0,2 % a pH 4,5; B: AcN al 95 %, agua al 5 %). La solución se acidificó a pH 6 con aprox. 0,1 ml de HOAc al 10 %. Después de filtrar a través de un filtro de membrana con cierre Luer, la solución se inyectó en HPLC preparativa (B al 40 % --> B al 85 % en 25 min). El pico principal se recogió y la fracción se liofilizó para dar 5 mg de **11** y **12** en forma de copos de color marrón claro (proporción de 1:1, rendimiento combinado: 35 %).

HR-ESI-MS: (estado de carga +2) 1048,0
masa calculada: 2092

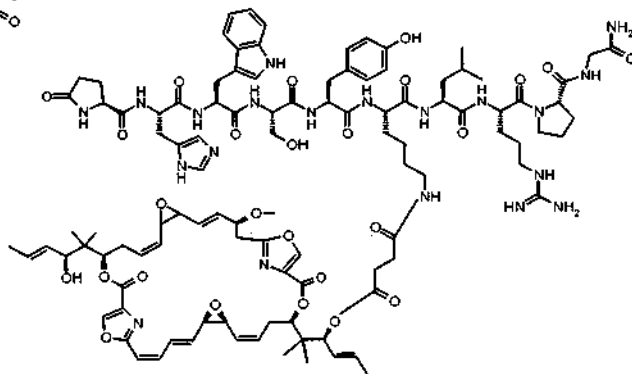
15 RMN H: véase la figura 9.

Ejemplo 10

20 Disorazol E1 mono hemi succinilo [D-Lys⁶]LHRH, ambos regioisómeros (13) y (14)



(13)



(14)

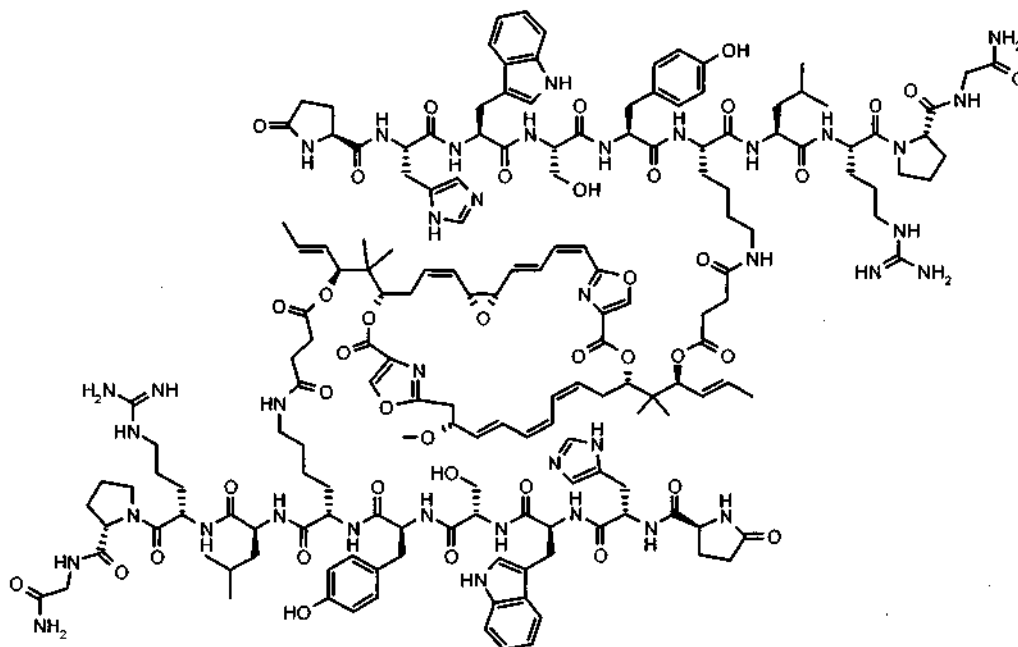
25 De acuerdo con el procedimiento de síntesis general enumerado como B., 40 mg disorazol E1 mono hemi succinato (mezcla a 1:1 de ambos regioisómeros) y 18 mg de HATU se disolvieron en 1 ml de DMF. Se añadieron 25 μ l de DIPEA y se agitó durante 15 min. a t.a. para permitir la formación del complejo de éster activado. Se disolvieron 54 mg de péptido [D-Lys⁶]LHRH en 1 ml de DMF, se añadió a la mezcla y la reacción se agitó durante 2 h a temperatura ambiente. La reacción se controló por HPLC-UV y la mezcla se sometió posteriormente a HPLC preparativa. Por lo tanto, la mezcla de reacción se diluyó con 3,5 ml de mezcla del disolvente B al 40 % (A: NH₄AcO 20 mM, AcN al 5 %, HOAc al 0,2 % a pH 4,5; B: AcN al 95 %, agua al 5 %). La solución se acidificó a pH 6 con aprox. 0,5 ml de HOAc al 10 %. Después de filtrar a través de un filtro de membrana con cierre Luer, la solución se inyectó en HPLC preparativa (B al 40 % --> B al 85 % en 25 min). El pico principal se recogió y la fracción se liofilizó

para dar 29 mg de **13** y **14** en forma de copos de color marrón claro (proporción de 1:1, rendimiento combinado: 36 %).

HR-ESI-MS: (estado de carga +2) 1056,0
masa calculada: 2108

5 RMN H: véase la figura 10.

Ejemplo 11

Disorazol A1 bis hemi succinilo [D-Lys⁶]LHRH (15)

(15)

5

De acuerdo con el procedimiento de síntesis general enumerado como B., 15,7 mg de bis hemi succinato de disorazol A1 y 7,5 mg de HATU se disolvieron en 1 ml de DMF. Se añadieron 11 µl de DIPEA y se agitó durante 20 min. a t.a. para permitir la formación del complejo de éster activado. Se disolvieron 23,6 mg de péptido [D-Lys⁶]LHRH en 1 ml de DMF, se añadió a la mezcla y la reacción se agitó durante 2 h a temperatura ambiente. La reacción se controló por HPLC-UV y la mezcla se sometió posteriormente a HPLC preparativa. Por lo tanto, la mezcla de reacción se diluyó con 4,5 ml de mezcla del disolvente B al 40 % (A: NH₄AcO 20 mM, AcN al 5 %, HOAc al 0,2 % a pH 4,5; B: AcN al 95 %, agua al 5 %). La solución se acidificó a pH 6 con aprox. 0,5 ml de HOAc al 10 %.

10

15

Después de filtrar a través de un filtro de membrana con cierre Luer, la solución se inyectó en HPLC preparativa (B al 40 % --> B al 85 % en 25 min). El pico principal se recogió y la fracción se liofilizó para dar 18 mg de **15** en forma de copos de color blanco (rendimiento: 32 %).

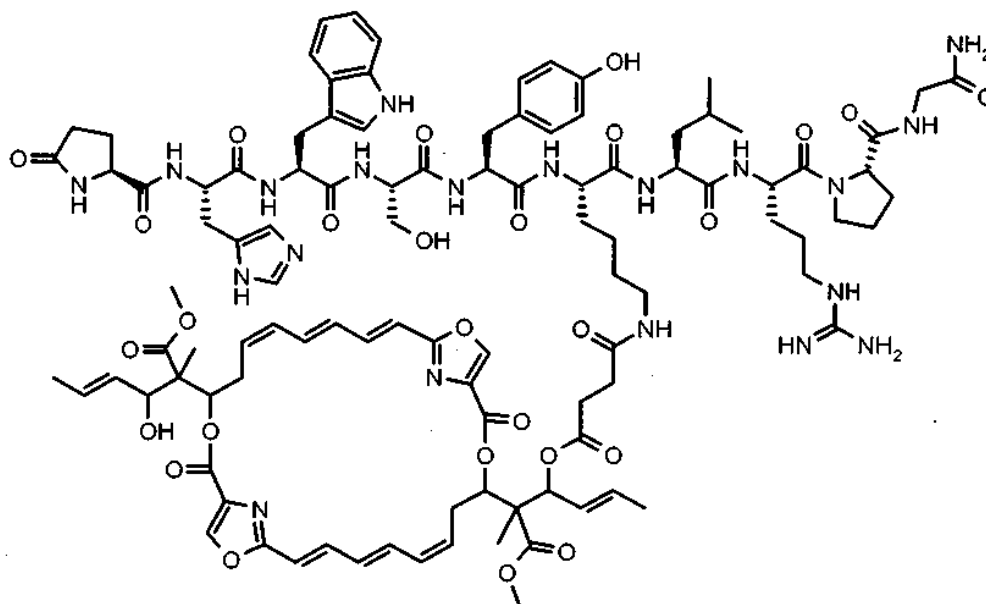
HR-ESI-MS: (estado de carga +4) 858,4

masa calculada: 3426

RMN H: véase la figura 11.

20

Ejemplo 12

Disorazol Z mono hemi succinilo [D-Lys⁶]LHRH (16)

(16)

5

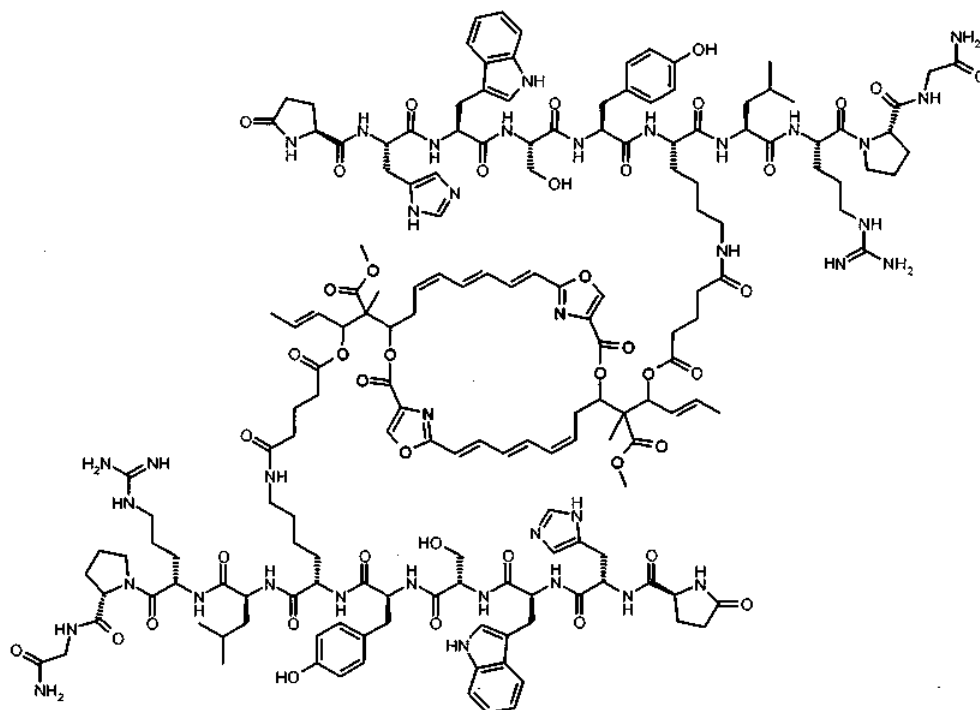
De acuerdo con el procedimiento de síntesis general enumerado como B., 45 mg de mono hemi succinato de disorazol Z y 24 mg de HATU se disolvieron en 1 ml de DMF. Se añadieron 37 μ l de DIPEA y se agitó durante 20 min. a t.a. para permitir la formación del complejo de éster activado. Se disolvieron 76 mg de péptido [D-Lys⁶]LHRH en 1 ml de DMF, se añadió a la mezcla y la reacción se agitó durante 1,5 h a temperatura ambiente. La reacción se controló por HPLC-UV y la mezcla se sometió posteriormente a HPLC preparativa. Por lo tanto, la mezcla de reacción se diluyó con 4,5 ml de mezcla del disolvente B al 40 % (A: NH₄AcO 20 mM, AcN al 5 %, HOAc al 0,2 % a pH 4,5; B: AcN al 95 %, agua al 5 %). La solución se acidificó a pH 6 con aprox. 0,75 ml de HOAc al 10 %. Después de filtrar a través de un filtro de membrana con cierre Luer, la solución se inyectó en HPLC preparativa (B al 40 % --> B al 85 % en 25 min). El pico principal se recogió y la fracción se liofilizó para dar 42 mg de **16** en forma de copos de color marrón claro (rendimiento: 38 %).

HR-ESI-MS: (estado de carga +2) 1042,0
masa calculada: 2080

RMN H: véase la figura 12.

20

Ejemplo 13

Disorazol Z bis hemi glutarilo [D-Lys⁶]LHRH (17)

(17)

5

De acuerdo con el procedimiento de síntesis general enumerado como B., 35 mg de bis hemi glutarato de disorazol Z y 34 mg de HATU se disolvieron en 1 ml de DMF. Se añadieron 54 μ l de DIPEA y se agitó durante 20 min. a t.a. para permitir la formación del complejo de éster activado. Se disolvieron 128 mg de péptido [D-Lys⁶]LHRH en 1 ml de DMF, se añadió a la mezcla y la reacción se agitó durante 2 h a temperatura ambiente. La reacción se controló por HPLC-UV y la mezcla se sometió posteriormente a HPLC preparativa. Por lo tanto, la mezcla de reacción se diluyó con 4,5 ml de mezcla del disolvente B al 40 % (A: NH₄AcO 20 mM, AcN al 5 %, HOAc al 0,2 % a pH 4,5; B: AcN al 95 %, agua al 5 %). La solución se acidificó a pH 6 con aprox. 1 ml de HOAc al 10 %. Después de filtrar a través de un filtro de membrana con cierre Luer, la solución se inyectó en HPLC preparativa (B al 40 % --> B al 85 % en 25 min). El pico principal se recogió y la fracción se liofilizó para dar 39 mg de **17** en forma de copos de color blanco (rendimiento: 33 %).

HR-ESI-MS: (estado de carga +4) 862,4

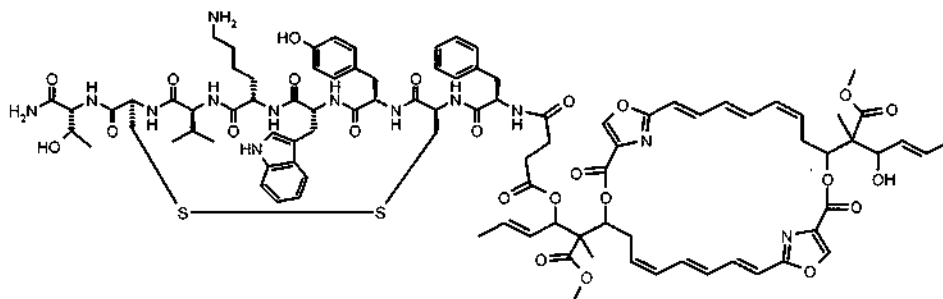
masa calculada: 3442

RMN H: véase la figura 13.

20

Ejemplo 14:

Disorazol Z mono hemi succinil somatostatina (18)

**(18)**

5

De acuerdo con el procedimiento de síntesis general enumerado como B., 20 mg de mono hemi succinato de disorazol Z y 21 mg de HATU se disolvieron en 1 ml de DMF. Se añadieron 15 µl de DIPEA y se agitó durante 15 min. a t.a. para permitir la formación del complejo de éster activado. Se disolvieron 25 mg del péptido sintético H-D-Phe-Cys-Tyr-D-Trp-Lys(Fmoc)-Val-Cys-Thr-NH₂ x HCl (con puente disulfuro) en 1 ml de DMF, se añadió a la mezcla y la reacción se agitó durante 4 h a temperatura ambiente. La reacción se controló por HPLC-UV. La mezcla de reacción en bruto se diluyó con 2 ml de DMF y se añadió piperidina hasta una concentración final de un 10 % (v/v). Después de agitar durante 5 min a t.a., la mezcla se sometió directamente a HPLC preparativa. Por lo tanto, la mezcla de reacción se diluyó con 4,5 ml de mezcla del disolvente B al 50 % (A: NH₄AcO 20 mM, AcN al 5 %, HOAc al 0,2 % a pH 4,5; B: AcN al 95 %, agua al 5 %). La solución se acidificó a pH 6 con aprox. 1,5 ml de HOAc al 10 %. Después de filtrar a través de un filtro de membrana con cierre Luer, la solución se inyectó en HPLC preparativa (B al 50 % --> B al 100 % en 25 min). El pico principal se recogió y la fracción se liofilizó para dar 12 mg de **18** en forma de copos de color beige (rendimiento: 33 %).

10

15

HR-ESI-MS: (estado de carga +2) 937,4

20

masa calculada: 1873

RMN H: véase la figura 14.

II) Producción de disorazol Z mediante fermentación

25

El disorazol Z se produce mediante fermentación de la cepa Soce 1875 productora de mixobacterias de *Sorangium cellulosum* (disponible en DSMZ con el n.º de registro DSM53600).

Para inoculación del fermentador, es preferente un cultivo de partida cultivado en matraces de agitación. El proceso de fermentación se realiza por ejemplo de forma discontinua o semicontinua.

30

Como un cultivo de partida, se usa medio que comprende los siguientes componentes: almidón soluble al 0,8 % (Merck 1.01252), extracto de levadura al 0,2 %, harina de soja desgrasada al 0,2 %, CaCl₂ al 0,1 % x 2 H₂O, MgSO₄ al 0,1 % x 7 H₂O, 8 mg/l de Na-Fe-EDTA, tampón HEPES al 1 %, glucosa al 0,2 %, resina de XAD al 1 % a un pH de 7,4 al comienzo del cultivo. Los matraces de agitación del cultivo de partida se pueden incubar a 30 °C a una agitación de 160 rpm. Para la fermentación, se usa una fermentación discontinua de 70 litros de medio idéntica a la del cultivo de partida pero sin tampón HEPES a un pH de 7,9 antes de poner en autoclave. Se añade al XAD 1 % (vol/vol) (Amberlite XAD 16, Rohm y Haas) para adsorber el disorazol Z.

35

El fermentador se inocula con un litro de cultivo de partida. El cultivo se realiza a una temperatura de 30 °C, con aireación a 5,5 l/min a una velocidad del agitador de 80 rpm. Si fuera necesario, el pH se mantiene constante o por encima de 6,8 mediante la adición de solución de KOH al 5 % durante el transcurso de la fermentación. El almidón residual se controla mediante la reacción de yodo. La concentración de glucosa se controla, por ejemplo usando tiras de ensayo (Roche).

40

El cultivo de producción está listo para su cosecha cuando la glucosa y el almidón están esencialmente metabólicamente consumidos y cuando la concentración del disorazol Z alcanza una meseta. Después de un total de doce días, la fermentación se detiene y se cosecha mediante recogida de la resina XAD mediante tamiz. Las células que se unen a la XAD están incluidas en la extracción y etapas de purificación posteriores.

45

Para fines analíticos, se usa una alícuota del cultivo de fermentación para recogida de la resina de XAD y masa celular, seguido de extracciones usando metanol, metanol: etanol: isopropanol (80:15:5), y una etapa final usando acetona. Los extractos se combinan, se concentran y se analizan por HPLC-MS.

50

Cuando se usa una cepa alternativa de *Sorangium cellulosum*, preferentemente Soce 427 (enumerada en DSMZ con el número de registro DSM53419), el siguiente medio se puede usar para el cultivo de partida: almidón al 0,3 % (Cerestar SF 12618, Cerestar Deutschland, Krefeld), harina de soja desgrasada al 0,2 % (Soyamine 50T, Lucas Meyer, Hamburgo), extracto de levadura al 0,1 % (Marcor), sulfato de magnesio al 0,1 % (Roth, P027.2), cloruro cálcico a 0,05 % (Merck, 1.02382), 8 mg/l de sal de sodio y hierro del ácido etilendiamintetraacético (Na-Fe-EDTA) (Merck, 108413) y tampón HEPES al 0,9 % (Roth, 9105.3), a un pH a 7,5. Después de poner en autoclave, se añade una solución de glucosa al 20 % (Riedel-de Haën 16301) hasta una concentración final de glucosa al 0,3 %. Para fermentación, se usa el mismo medio excepto el tampón HEPES a un pH de 7,9 antes de poner en autoclave.

Después de la fermentación de acuerdo con la descripción mencionada anteriormente, la masa celular húmeda y la resina de XAD recogida por centrifugación de caldo de cultivo de fermentación de 70 l de *Sorangium cellulosum*, cepa So ce427, se extraen con porciones de 3 l de metanol. El filtrado combinado se evapora para dar una mezcla acuosa residual. Si fuera necesario, se añade agua para dar 1,2 - 1,5 l que se extrae con tres porciones de 1,2 l de diclorometano. Las soluciones orgánicas combinadas se secan con sulfato sódico anhidro y a continuación se evaporan a sequedad. El residuo se vuelve a disolver en 1 l de metanol acuoso (97 %) y se reparte con tres porciones de heptano. La fase de metanol se evapora, se diluye con tolueno y se evapora a sequedad. El residuo se separa mediante cromatografía en gel con metanol en Sephadex LH-20 (Farmacia) para dar una fracción de disorazol Z enriquecida, que se purifica mediante RP-MPLC (ODS-AQ, 120 Å, S 16 µm) con metanol-agua (65/35) para dar el disorazol Z purificado.

III) Acción antiproliferativa en diversas líneas de células tumorales

Los compuestos de la invención seleccionados se investigaron por su actividad antiproliferativa en un ensayo de proliferación en líneas de células tumorales establecidas.

El ensayo usado determina la actividad de deshidrogenasa celular y hace posible una determinación de la vitalidad celular e indirectamente el recuento celular.

Las líneas celulares usadas son la línea KB/HeLa de células de carcinoma del cuello uterino humano (ATCC CCL17), la línea SKOV-3 de células de adenocarcinoma de ovario (ATCC HTB77), la línea SF-268 de células de glioblastoma humano (NCI 503138) y la línea NCI-H460 de células de carcinoma de pulmón (NCI 503473). Además, para la investigación de la acción específica del ciclo celular de los compuestos de la invención, se usa un sistema de células RKOp27 (Schmidt M *et al.*, Oncogene 2000, 19 (20): 2423-2429). RKO es una línea de células de carcinoma de colon humano (ATCC CRL-2577), en la que se expresa el inhibidor p27^{kip1} del ciclo celular inducido por medio del sistema de expresión de ecdisona y puede conducir a una parada del ciclo celular de forma específica en G2. Una sustancia que actúa de forma no específica inhibe la proliferación independientemente de si la célula RKO se para o no se para en G1 o G2. Algunas sustancias específicas del ciclo celular tales como, por ejemplo, inhibidores de tubulina son, sin embargo, solamente citotóxicas si las células no se paran y se pasa a través del ciclo celular.

Ensayo de XTT para actividad de deshidrogenasa celular

Las líneas KB/HeLa, SKOV-3, SF-268 y NCI-H460 de células detuvo que crecen de forma adherente se cultivaron en condiciones convencionales en una incubadora a 37 °C, CO₂ al 5 % y humedad atmosférica de un 95 %. En el día experimental 1, las células se separan usando tripsina/EDTA y se alimentan mediante centrifugación. Posteriormente, el sedimento celular se pueda suspender en el respectivo medio de cultivo a con el correspondiente recuento celular y se hace reaccionar en una placa de microtitulación de 96 pocillos. Las placas se cultivan a continuación durante una noche en la incubadora. Las sustancias de ensayo se preparan como soluciones de reserva de 1 mg/ml en DMSO y se diluyen hasta las concentraciones apropiadas en el día experimental 2 usando medio de cultivo. Las sustancias en el medio de cultivo se añaden a continuación a las células y se incuban en la incubadora durante 45 h. Como un control, se usan células que no se tratan con la sustancia de ensayo. Para el ensayo de XTT, se disuelve 1 mg/ml de XTT (ácido sodio 3'-[1-(fenilaminocarbonil)-3,4-tetrazolio]-bis(4-metoxi-6-nitro)bencenosulfónico) en medio RPMI-1640 sin Rojo Fenol. Además, se prepara una solución de 0,383 mg/ml de PMS (metilsulfato de N-metildibenzopirazina) en solución salina tamponada con fosfato (PBS). En el día experimental 4, se pipetea 75 µl/pocillo de mezcla de XTT-PMS en las placas de células que mientras tanto se han incubado con las sustancias de ensayo durante 45 h. Para esto, poco antes de su uso, la solución de XTT se mezcla con la solución de PMS en la proporción de 50:1 (vol:vol). Las placas celulares se incuban a continuación en la incubadora durante un período adicional de 3 h y la densidad óptica (DO_{490nm}) se determina en un fotómetro. Por medio de la DO_{490nm} determinada, el porcentaje de inhibición se calcula con respecto al control y se representa de forma semilogarítmica en forma de una curva de concentración-acción. La CI₅₀ se calcula por medio de un análisis de regresión para la curva de concentración-acción usando del programa Graphpad Prism.

Análisis del ciclo celular por medio del modelo RKOp27

El ensayo se realiza en placas de 96 pocillos. Mediante expresión inducible de p27^{kip1}, el crecimiento de las anulase para completamente, pero no mueren. Mediante la comparación de la actividad en células inducidas y no inducidas,

se pueden obtener conclusiones sobre el mecanismo de acción (especificidad del ciclo celular) de los agentes terapéuticos. Las células no inducidas se inoculan en recuento celular aproximadamente tres veces más elevado, ya que la división no se produce más durante el ensayo en comparación con células no inducidas (20000 células/pocillo inducidas, 6250 células/pocillo no inducidas). Los controles son células sin tratar (+/- inducción). La inducción se realiza con muristerona A 3 μ M. En el 1er día, las células se exponen (+/- muristerona A) y se incuban a 37 °C durante 24 h. En el día 2, la sustancia de ensayo se añade (DMSO de control) y la incubación continua a 37 °C durante un periodo adicional de 45 h antes de realizar un ensayo de XTT convencional.

En la **tabla 1**, las actividades citotóxica y/o de inhibición del crecimiento de compuestos de la invención seleccionados con/sin expresión de p27^{kip1} se muestran en comparación con el resto citotóxico doxorubicina, el conjugado AN-152 de la técnica anterior, y los restos de disorazol, A1, E1 y Z, y los compuestos de la invención seleccionados: disorazol Z - (Glutaril-[D-Lys⁶]LHRH)₂ - compuesto 17; disorazol Z - Succinil-[D-Lys⁶]LHRH - compuesto 16; disorazol E1 - Succinil-[D-Lys⁶] LHRH - compuestos 13/14; disorazol A1 - Succinil-[D-Lys⁶]LHRH - compuestos 11/12; disorazol A1 - (Succinil-[D-Lys⁶]LHRH)₂ - compuesto 15.

Los compuestos sometidos a ensayo no muestran actividades citotóxicas en el estado inducido de p27^{kip1}. Los resultados muestran una inhibición muy potente de la proliferación de las líneas de células tumorales seleccionadas con los compuestos de la invención seleccionados. Además, los conjugados sometidos a ensayo muestran una clara atenuación de la toxicidad en comparación con los restos de disorazol sin conjugar, libres.

Tabla 1

compuesto	Cl ₅₀ [mg/ml]					
	KB/HELA	SKOV-3	SF-268	NCI-H460	RKOp27	inducido por RKOp27
doxorubicina	0,320	0,347	0,305	0,105	0,082	0,124
AN-152	0,871	1,238	1,258	0,558	0,587	0,632
disorazol Z	0,001005	0,000504	0,001284	0,000670	0,000659	> 3,16
compuesto 16	0,018915	0,007683	0,017800	0,009235	0,005180	> 3,16
compuesto 17	> 3,16	> 3,16	> 3,16	> 3,16	> 3,16	> 3,16
disorazol A1	0,000049	0,000027	0,000125	0,000022	0,000049	> 3,16
compuestos 11/12	0,058930	0,042800	0,113100	0,029660	0,033960	> 3,16
compuesto 15	> 3,16	> 3,16	> 3,16	> 3,16	aprox. 3,16	> 3,16
disorazol E1	0,000170	0,000074	0,000474	0,000065	0,000170	> 3,16
compuestos 13/14	0,018910	0,016850	0,055660	0,012803	0,017240	> 3,16

IV) Ensayo de proliferación dependiente del receptor GnRH

La inhibición mediada por el receptor dependiente de la dosis de proliferación celular de los compuestos de la invención seleccionados se investigó.

Para estudiar estos efectos, se usó una línea de células positivas (hGnRH-R) para receptor GnRH humano (5C6; Beckers *et al.*, Eur. J. Biochem. 1995, 231: 535-543) y una línea de células negativas para hGnRH-R (LTK; ECACC n.º 85011432).

Las respectivas células se expusieron a 1 ml en medio de cultivo en placas de multititulación de 24 pocillos (MTP) con un índice celular de 15000 células por pocillo. El índice celular se ajusta de un modo tal que después de 5 días de ensayo las células sin tratar todavía están en la fase de crecimiento exponencial.

Los compuestos de ensayo se proporcionan a las células cultivadas después de 4 horas de crecimiento inicial (adherencia) en un volumen de 100 μ l para producir las concentraciones finales proporcionadas en la tabla 2.

Después de 30 min de incubación a 37 °C, todo el medio de cultivo se retira por succión y las células se lavan dos veces con medio de cultivo sin compuestos de ensayo. Después del lavado, las células se colocan en una incubadora (a 37 °C, CO₂ al 5 % y una humedad atmosférica de un 95 %) y se incuban durante un periodo adicional de 4 días.

Para la determinación del índice celular después de la incubación, las células se separan usando tripsina/EDTA y se centrifugan. Se hace el recuento del número de células vitales y el número de células totales usando un Analizador Vi-Cell (Beckman Coulter).

- 5 El número de células vitales se analiza en comparación con células de control sin tratar (= 100 %). Solamente se consideran los grupos de células (pocillos respectivos) cuya viabilidad celular total superior a un 90 %, es decir, la inhibición de la proliferación celular mediante toxicidad inespecífica se puede excluir.

- 10 En la **tabla 2**, se presenta el estado de proliferación después de 96 horas de incubación de células positivas y negativas para hGnRH-R en presencia y ausencia de diferentes concentraciones de compuestos de ensayo. El estado de proliferación de células de control sin tratar después de 96 horas se establece en un 100 %. Los compuestos de ensayo usados eran el conjugado AN-152 de la técnica anterior y los siguientes compuestos de la invención seleccionados: disorazol Z - (Glutaril-[D-Lys⁶]LHRH)₂ - compuesto 17; disorazol Z - Succinil-[D-Lys⁶]LHRH - compuesto 16; disorazol E1 - Succinil-[D-Lys⁶]LHRH - compuestos 13/14; disorazol A1 - Succinil-[D-Lys⁶]LHRH - compuestos 11/12; disorazol A1 - (Succinil-[D-Lys⁶]LHRH)₂ - compuesto 15.

- 20 Todos los compuestos de la invención sometidos a ensayo muestran una inhibición de la proliferación celular dependiente de la dosis con respecto al periodo de investigación de 96 horas. Este efecto de inhibición es específico como se puede observar a partir de los resultados con la línea celular LTK⁻ negativa para hGnRH-R

Tabla 2

compuesto	línea celular 5C6				línea celular LTK ⁻			
	100 nM	10 nM	1 nM	0,1 nM	100 nM	10 nM	1 nM	0,1 nM
control	100 %				100 %			
AN-152	42,1				101,3			
compuesto 17	41,7	58,5	85,9	95,5	98,0	98,8	99,8	100,9
control	100 %				100 %			
AN-152	43,9				102,3			
compuesto 16	21,9	54,1	80,9	83,8	61,7	103,4	105,8	101,8
control	100 %				100 %			
AN-152	42,1				101,3			
compuestos 13/14	14,6	45,9	80,8	85,9	27,0	93,2	98,8	98,6
control	100 %				100 %			
AN-152	43,9				102,3			
compuestos 11/12	23,5	52,5	80,3	88,0	77,2	101,4	111,5	109,6
control	100 %				100 %			
AN-152	43,9				102,3			
compuesto 15	43,0	66,6	98,6	95,1	101,7	108,0	111,3	108,6

V) Acción antiproliferativa dependiente del receptor GnRH del compuesto 16 *in vivo*

- 25 30 ratones atímicos CD 1 nu/nu se inocularon por vía subcutánea con la línea de células OVCAR-3 de carcinoma de ovario humano, positiva para el receptor GnRH (5 millones de células por animal). El experimento comenzó después de la formación de tumores sólidos. Por grupo de dosis se usaron 5 animales.

- 30 En el día 0 del experimento, el volumen del tumor individual se determinó por palpación y se estableció en un 100 %. Los compuestos de ensayo se administraron posteriormente en el día 0 del experimento mediante inyección en la vena de la cola de los animales de ensayo. Un volumen convencional de 10 ml de solución salina al 0,9 % por kg (200 µl por 20 g de ratón) que contenían con costo de ensayo en la concentración requerida se administró solamente una vez en el día 0 del experimento.

El tamaño del tumor se determinó de nuevo mediante palpación en el día 18 del experimento.
 En el caso de aparición de tumores adicionales, los volúmenes se añadían.
 No se registraron efectos tóxicos, como pérdida de peso, durante todo el experimento.

Grupo	Control (solución salina)	Disorazol Z (0,16 mg/kg = 215 nmol/kg)	Compuesto 16 (0,5 mg/kg = 215 nmol/kg)	Compuesto 16 (0,1 mg/kg = 43 nmol/kg)
Tamaño medio del tumor el día 0	86	92	74	79
Desviación estándar el día 0	15	34	59	21
Tamaño medio del tumor el día 18	206	146	40	76
Desviación estándar el día 18	165	97	26	64

5

Los resultados demuestran el crecimiento de los tumores sin tratar, la supresión moderada del crecimiento del tumor con disorazol Z solo, y la eficacia antiproliferativa claramente mejorada, dependiente de la dosis obtenida por conjugación de disorazol Z con [D-Lys⁶]-LHRH.

REIVINDICACIONES

1. Un compuesto de fórmula (I) o (IV)

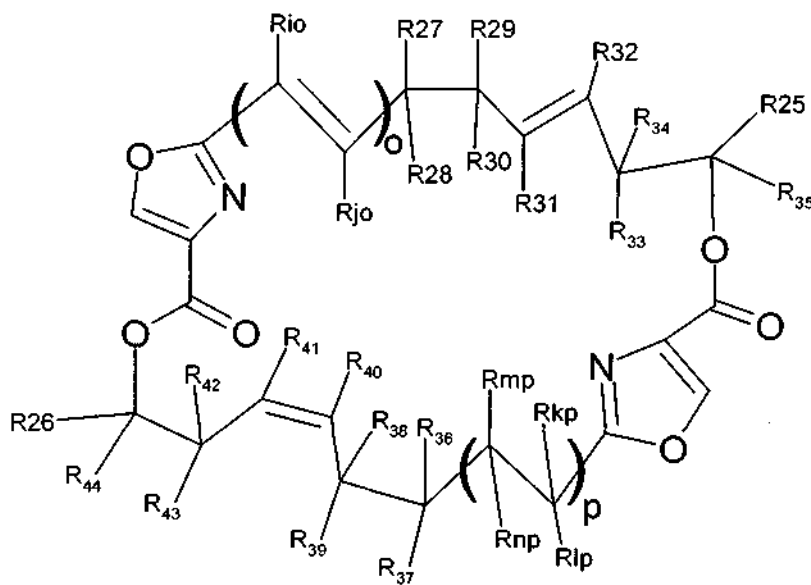
5 C1 -B1 -A-B2-C2 (I),

C1 - B1 -A (IV),

en las que para (I) y (IV):

10

A es un resto disorazol de acuerdo con la fórmula (III)



(III),

15 en la que:

R₁₀, R_{j0}, R_{kp}, R_{mp}, R₂₈, R₃₀, R₃₁, R₃₂, R₃₃, R₃₄, R₃₅, R₃₆, R₃₈, R₄₀, R₄₁, R₄₂, R₄₃, R₄₄ son hidrógeno; R_{lp}, R_{np} juntos forman un doble enlace o se seleccionan independientemente entre el grupo que consiste en "hidrógeno, alcoxilo";

20 R₂₇, R₂₉ juntos forman un doble enlace o un epóxido (oxirano);

R₃₇, R₃₉ juntos forman un doble enlace o un epóxido (oxirano);

R₂₅, R₂₆ se seleccionan independientemente entre sí entre el grupo que consiste en: "alquilo" que está opcionalmente sustituido en el grupo alquilo con 1, 2 o 3 sustituyentes seleccionados independientemente entre sí entre el grupo que consiste en "alquilo, cicloalquilo, cicloalquil-alquilo, arilo, heteroarilo, aril-alquilo, heteroaril-alquilo, heterociclilo, heterocicilil-alquilo, alquilsulfonilo, arilsulfonilo, aril-alquilsulfonilo, -F, -Cl, -Br, -I, -N₃, -NO₂, =O, =S, =S(O)₂, hidroxilo, acetilo, carboxilo, carboxiléster, amida, carbonato, carbamato, restos de alfa-aminoácido, restos de beta-aminoácido, alcoxilo, amino, hidroxilamino, mono-alquilamino, di-alquilamino, hidrazinilo, ciano, ciano-alquilo, sulfhidrilo, disulfidilalquilo y/o alquil-sulfidilo";

25 B₁ y/o B₂ se seleccionan independientemente entre sí entre el grupo que consiste en "conector de resto de ácido dicarbónico, succinilo, glutarilo";

C₁ y/o C₂ se seleccionan independientemente entre sí entre el grupo que consiste en "LHRH, [D-Lys⁶] - LHRH, somatostatina, análogos de somatostatina, albúmina de suero humano (HSA)";

o es 1 o 2;

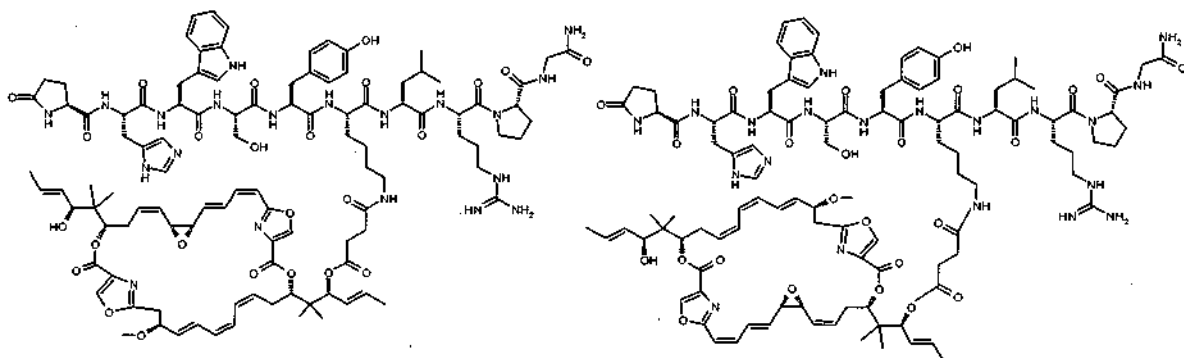
p es 1 o 2;

35 en donde el término "alquilo" incluye hidrocarburos acíclicos saturados, parcialmente insaturados o insaturados que tienen C₁-C₁₂ átomos de carbono, que pueden ser de cadena lineal o ramificada y que pueden contener uno o más dobles enlaces y/o uno o más triples enlaces;

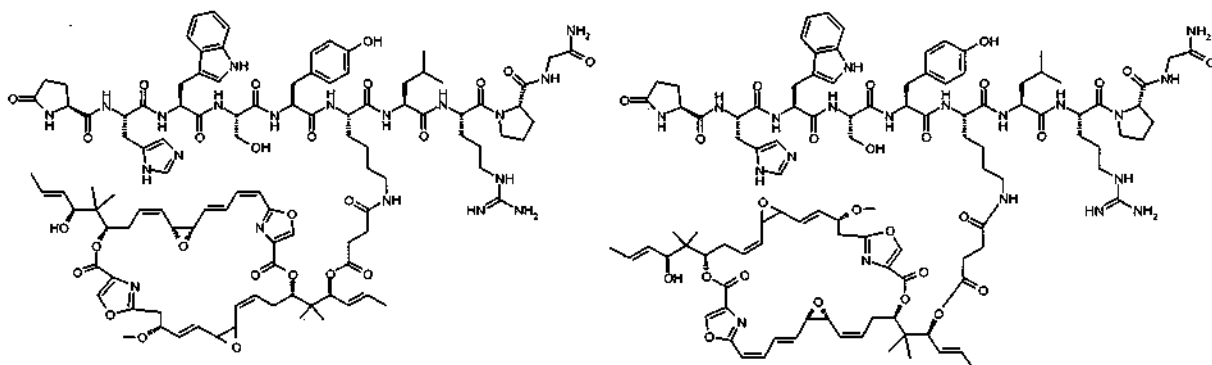
40 en donde el término "alcoxilo" se refiere a radicales en los que un grupo "alquilo", "cicloalquilo", "cicloalquil-alquilo", "arilo", "aril-alquilo", "heteroarilo", "heteroaril-alquilo", "heterociclilo" y/o "heterocicilil-alquilo" está unido a través de un átomo de oxígeno (grupo -O-).

2. Un compuesto como se reivindica en la reivindicación 1, en donde el compuesto se selecciona entre el grupo que consiste en:

"disorazol A1 - succinil-[D-Lys⁶]LHRH" (compuestos 11 y 12 regioisoméricos):

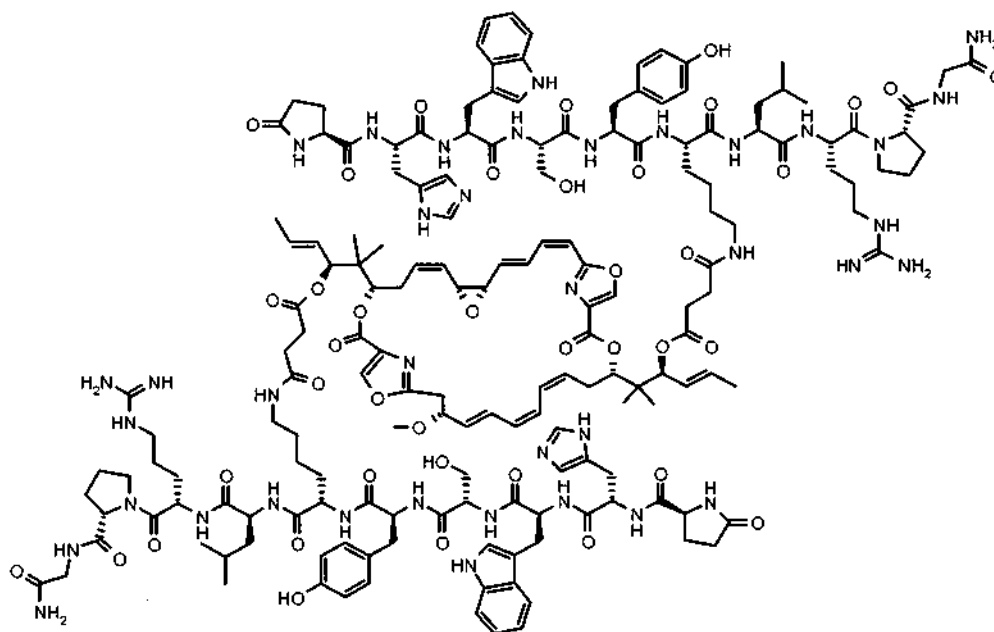


5 disorazol E1 - succinil-[D-Lys⁶]LHRH" (compuestos 13 y 14 regioisoméricos):

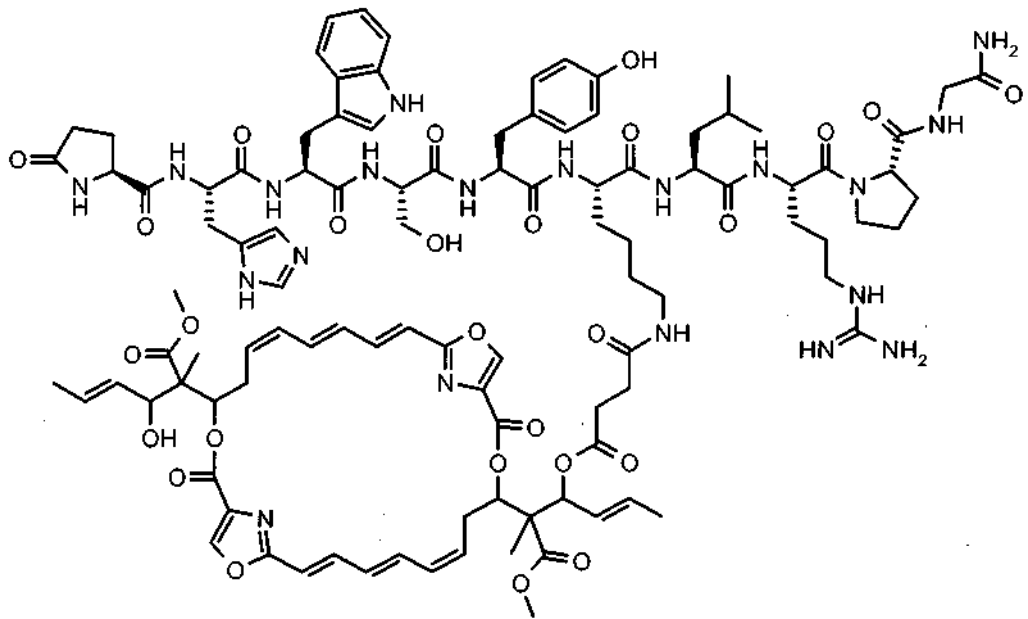


10

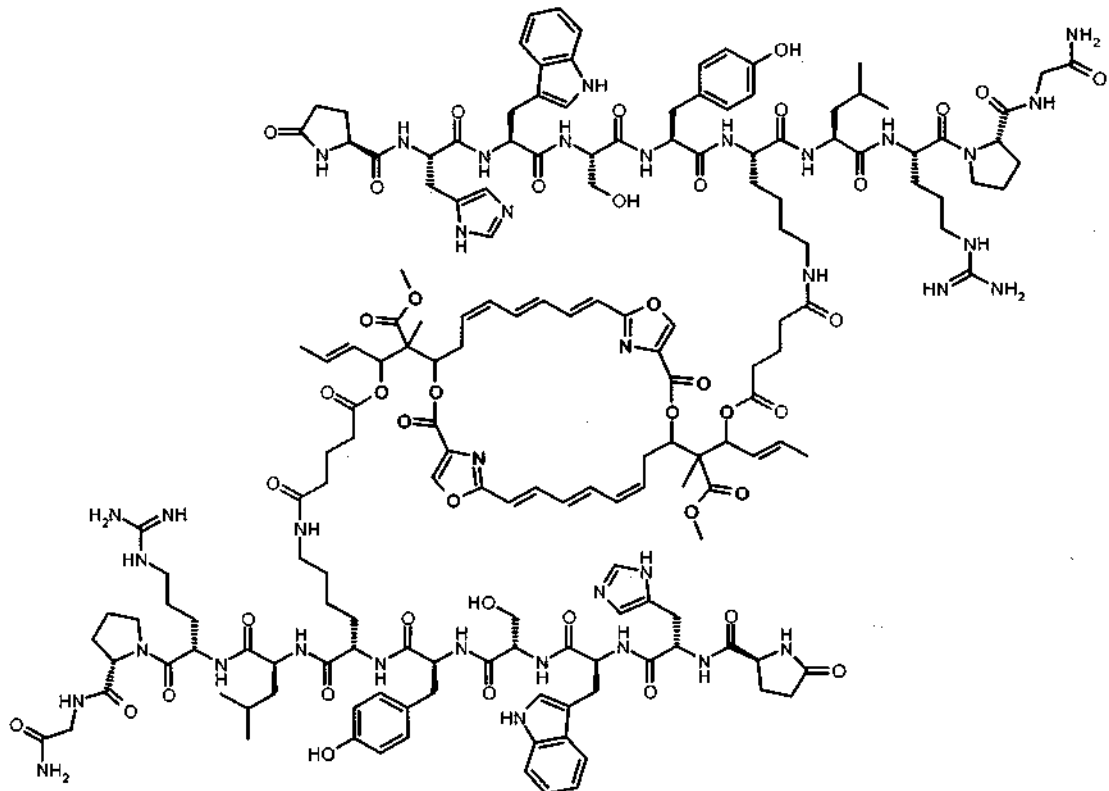
disorazol A1 - (succinil-[D-Lys⁶]LHRH)₂" (compuesto 15):



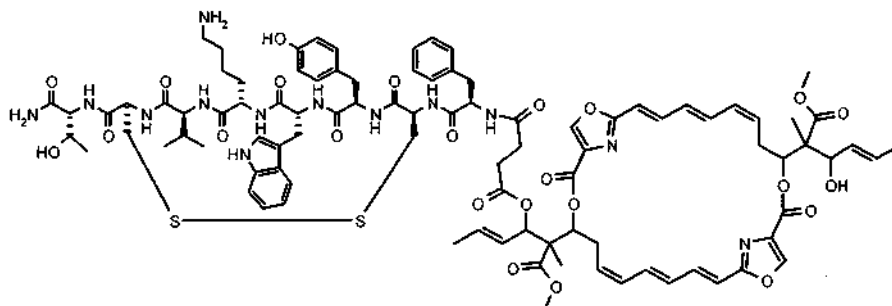
"disorazol Z - succinil-[D-Lys⁶]LHRH" (compuesto 16):



5 "disorazol Z - (glutaril-[D-Lys⁶]LHRH)₂" (compuesto 17):



"disorazol Z - succinil-somatostatina" (compuesto 18):



- 5 3. Un proceso para preparar un compuesto como se reivindica en cualquiera de las reivindicaciones 1 a 2 que comprende las etapas:
- 10 a) hacer reaccionar un compuesto de disorazol con un conector, para producir un resto de disorazol-conector mono- y/o bisfuncionalizado,
 b) opcionalmente, separar (purificar) el resto de disorazol-conector mono- y/o bisfuncionalizado a partir de eductos de reacción y productos secundarios,
 c) acoplar el resto de disorazol-conector opcionalmente separado (purificado) mono- y/o bisfuncionalizado con moléculas de unión celular para producir un conjugado de disorazol de fórmula (I) C1 - B1 - A-B2 - C2 y/o de fórmula (IV) C1 - B1 - A,
 15 d) opcionalmente, separar (purificar) el conjugado de disorazol de fórmula (I) C1 - B1 - A-B2 - C2 y/o de fórmula (IV) C1 - B1 - A a partir de eductos de reacción y productos secundarios.
4. Una composición farmacéutica que comprende una cantidad farmacológicamente activa de al menos un compuesto como se reivindica en cualquiera de las reivindicaciones 1 a 2.
- 20 5. La composición farmacéutica de acuerdo con la reivindicación 4, donde el al menos un compuesto está presente en una dosis unitaria de 0,0001 mg a 100 mg por kg de peso corporal de un paciente.
- 25 6. La composición farmacéutica como se reivindica en cualquiera de las reivindicaciones 4 a 5, donde la composición comprende adicionalmente al menos un vehículo y/o un excipiente farmacéuticamente aceptables.
7. La composición farmacéutica como se reivindica en cualquiera de las reivindicaciones 4 a 6, en donde la composición comprende al menos una sustancia farmacológicamente activa adicional.
- 30 8. La composición farmacéutica como se reivindica en la reivindicación 7, en donde la sustancia farmacológicamente activa adicional se selecciona entre el grupo que consiste en: "inhibidores de la ADN topoisomerasa I y/o II, agentes de intercalado de ADN, agentes de alquilación, desestabilizadores de microtúbulos, agonistas y/o antagonistas de receptor hormonal y/o factor de crecimiento, inhibidores de transducción de señales, anticuerpos frente a factores de crecimiento y sus receptores, inhibidores de quinasa, antimetabolitos".
- 35 9. La composición farmacéutica como se reivindica en cualquiera de las reivindicaciones 7 a 8, en donde la sustancia farmacológicamente activa adicional se selecciona entre el grupo que consiste en: "actinomicina D, aminoglutetimida, asparaginasa, avastina, azatioprina, BCNU (carmustina), bleomicina, busulfán, carboplatino, CCNU (lomustina), clorambucilo, cisplatino, colaspasa, ciclofosfamida, citarabina, dactinomicina, daunorrubicina, dietilestilbestrol, docetaxel, doxorubicina (adriamicina), DTIC (dacarbacina), epirubicina, epotilona, erbitux, eritrohidroxinoniladenina, etinilestradiol, etopósido, fosfato de fludarabina, fluoximasterona, flutamida, gemcitabina, gleevec/glivec, herceptin, hexametilmelamina, hidroxurea, caproato de hidroxiprogesterona, idarrubicina, ifosfamida, interferón, iressa, irinotecán, L-asparaginasa, leucovorina, mecloretamina, acetato de medroxiprogesterona, acetato de megestrol, melfalán, mesna, metotrexato, mitomicina C, mitotano, mitoxantrona, N-fosfonoacetil-L-aspartato (PALA), oxaliplatino, paclitaxel, pentostatina, plamicicina, prednisolona, prednisona, procarbazona, raloxifeno, rapamicina, semustina, sorafenib, estreptozocina, tamoxifeno, tarceva, taxotere, tenipósido, propionato de testosterona, tioguanina, tiotepa, topotecán, trimetilemelamina, uridina, vinblastina, vincristina, vindesina, vinorelbina, 2',2'-difluorodesoxicitidina, monofosfato de 5-fluorodesoxiuridina, 5-azacitidina cladribina, 5-fluorodesoxiuridina, 5-fluorouracilo (5-FU), 6-mercaptapurina".
- 40 50 10. Uso de un compuesto como se reivindica en cualquiera de las reivindicaciones 1 a 2 para la preparación de un medicamento.
- 55 11. Uso de un compuesto como se reivindica en cualquiera de las reivindicaciones 1 a 2 para la preparación de un medicamento para el tratamiento y/o la profilaxis de "leucemia aguda, adenocarcinoma, basalioma, tumores

- benignos, cáncer de vejiga, cáncer intestinal, tumores cerebrales, cáncer de mama, carcinoma bronquial, carcinoides, carcinomas, cáncer de cuello uterino, carcinoma de cuello uterino, leucemia crónica, cáncer de colon, carcinoma de colon, cáncer colorrectal, cáncer de tejido conectivo, carcinoma de cuerpo uterino, cáncer de endometrio, cáncer de esófago, Sarcoma de Ewing, gastrinoma, glioblastoma, glioma, tumores ginecológicos,
- 5 cáncer de cabeza y/o cuello, hepatoblastoma, hepatoma, hiperplasia, enfermedades hiperproliferativas, melanoma intraocular, Sarcoma de Kaposi, carcinoma de laringe, cáncer de laringe, leiomomioma, leucemia, tumor de hígado, cáncer de pulmón, cáncer de pulmón no microcítico, linfoma, tumores malignos, carcinoma de mama, meduloblastoma, melanoma, mieloma múltiple, nefroblastoma, neuroblastoma, tumores neuroendocrinos, osteosarcoma, cáncer de ovario, tumor de páncreas, cáncer de próstata, carcinoma de próstata, carcinoma rectal,
- 10 cáncer renal, carcinoma de células renales, retinoblastoma, tumor rhabdoide, sarcomas, cáncer de piel, sarcoma de parte blanda, tumores sólidos, espinalioma, cáncer de estómago, cáncer de testículo, timoma, cáncer de glándula tiroidea, tumores que comienzan en el cerebro y/o el sistema nervioso y/o las meninges, cáncer urinario y/o cáncer de útero."
- 15 12. El uso como se reivindica en cualquiera de las reivindicaciones 10 a 11, en donde el medicamento comprende además al menos una sustancia farmacéuticamente activa adicional.
13. El uso como se reivindica en cualquiera de las reivindicaciones 10 a 12, en donde el medicamento se aplica antes y/o durante y/o después del tratamiento con al menos una sustancia farmacológicamente activa adicional.
- 20 14. El uso como se reivindica en cualquiera de las reivindicaciones 12 a 13, en donde la sustancia farmacológicamente activa adicional se selecciona entre el grupo que consiste en: "inhibidores de la ADN topoisomerasa I y/o II, agentes de intercalado de ADN, agentes de alquilación, desestabilizadores de microtúbulos, agonistas y/o antagonistas de receptor hormonal y/o factor de crecimiento, inhibidores de transducción de señales, anticuerpos frente a factores de crecimiento y sus receptores, inhibidores de quinasa, antimetabolitos".
- 25 15. El uso como se reivindica en cualquiera de las reivindicaciones 12 a 14, en donde la sustancia farmacológicamente activa adicional se selecciona entre el grupo que consiste en: "actinomicina D, aminoglutetimida, asparaginasa, avastina, azatioprina, BCNU (carmustina), bleomicina, busulfán, carboplatino, CCNU (lomustina), clorambucilo, cisplatino, colaspasa, ciclofosfamida, citarabina, dactinomicina, daunorrubicina, dietilestilbestrol, docetaxel, doxorubicina (adriamicina), DTIC (dacarbacina), epirubicina, epotilona, erbitux, eritrohidroxinoniladenina, etinilestradiol, etopósido, fosfato de fludarabina, fluoximasterona, flutamida, gemcitabina, gleevec/glivec, herceptin, hexametilmelamina, hidroxurea, caproato de hidroxiprogesterona, idarrubicina, ifosfamida, interferón, iressa, irinotecán, L-asparaginasa, leucovorina, mecloretamina, acetato de medroxiprogesterona, acetato de megestrol, melfalán, mesna, metotrexato, mitomicina C, mitotano, mitoxantrona, N-fosfonoacetil-L-aspartato (PALA), oxaliplatino, paclitaxel, pentostatina, plicamicina, prednisolona, prednisona, procarbazona, raloxifeno, rapamicina, semustina, sorafenib, estreptozocina, tamoxifeno, tarceva, taxotere, tenipósido, propionato de testosterona, tioguanina, tiotepa, topotecán, trimetilemelamina, uridina, vinblastina, vincristina, vindesina, vinorelbina, 2',2'-difluorodesoxicitidina, monofosfato de 5-fluorodesoxiuridina, 5-azacitidina cladribina, 5-fluorodesoxiuridina, 5-fluorouracilo (5-FU), 6-mercaptopurina".
- 30 16. El uso como se reivindica en cualquiera de las reivindicaciones 10 a 15, en donde el medicamento se administra antes y/o durante y/o después de tratamiento con terapia de radiación y/o cirugía.
- 35 17. Kit que comprende una cantidad farmacológicamente activa de al menos un compuesto como se reivindica en cualquiera de las reivindicaciones 1 a 2 y una cantidad farmacológicamente activa de al menos una sustancia farmacéuticamente activa adicional como se reivindica en cualquiera de las reivindicaciones 12 a 15.
- 40

Figura 9

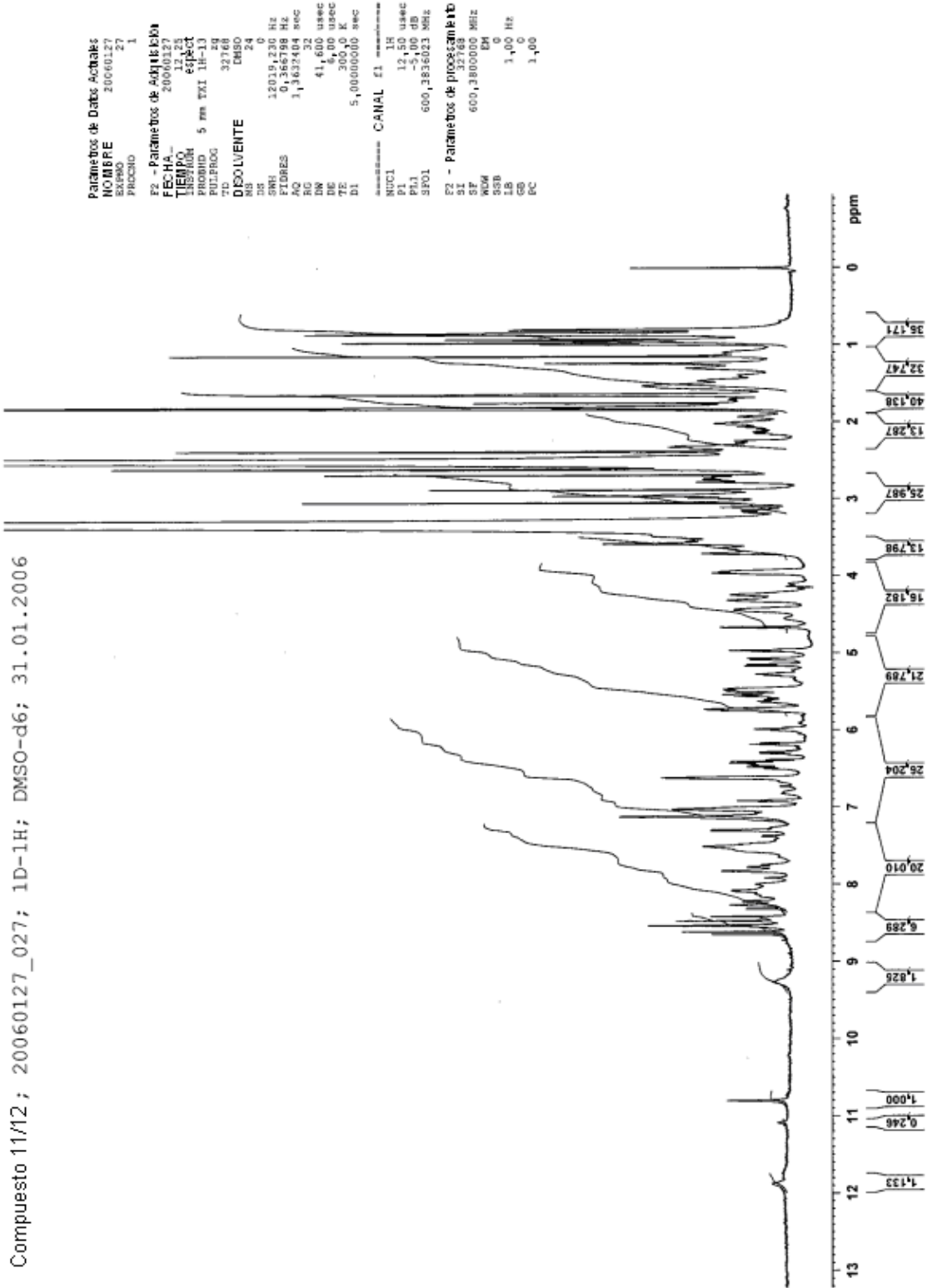


Figura 10

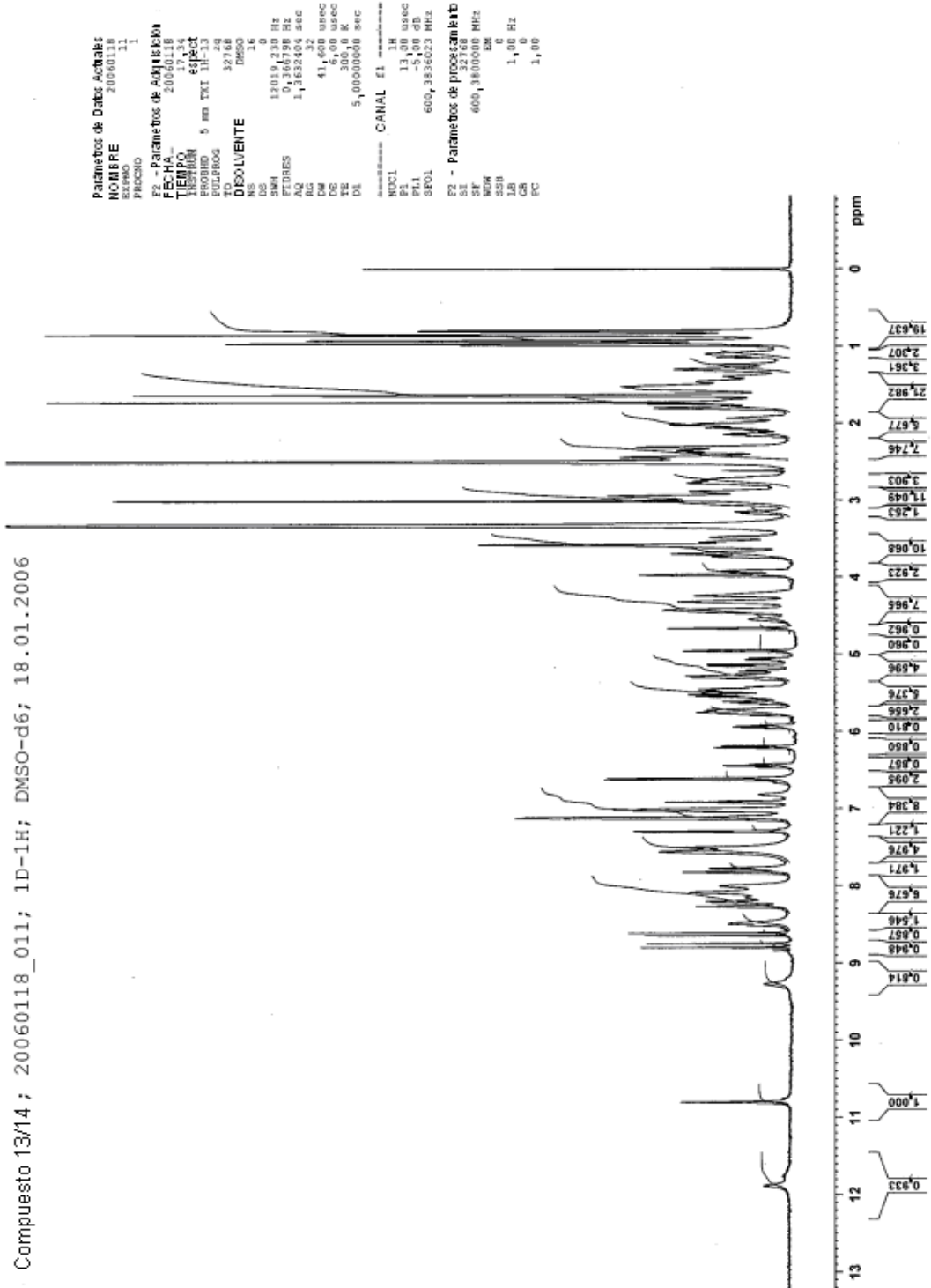


Figura 11

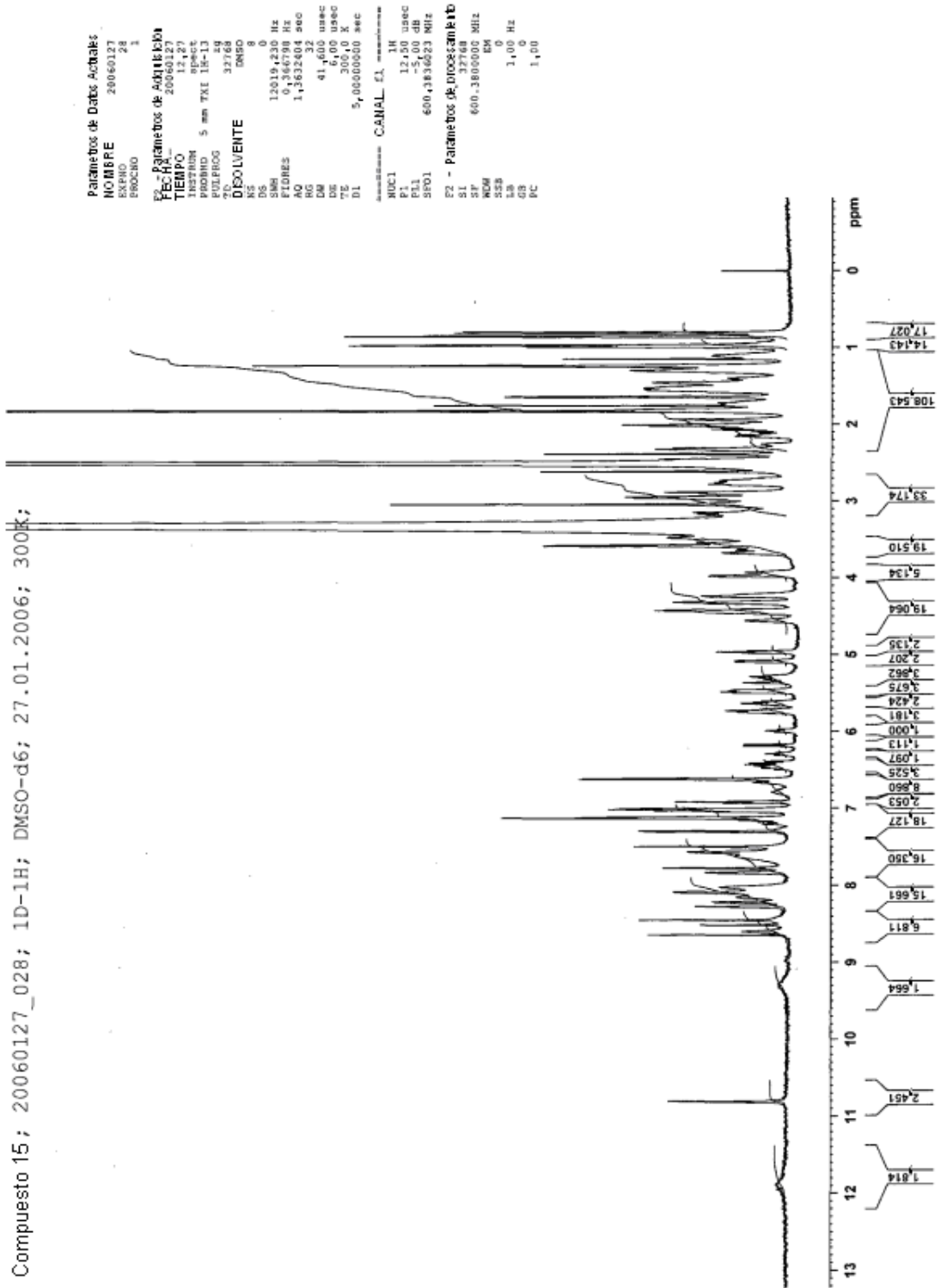


Figura 12

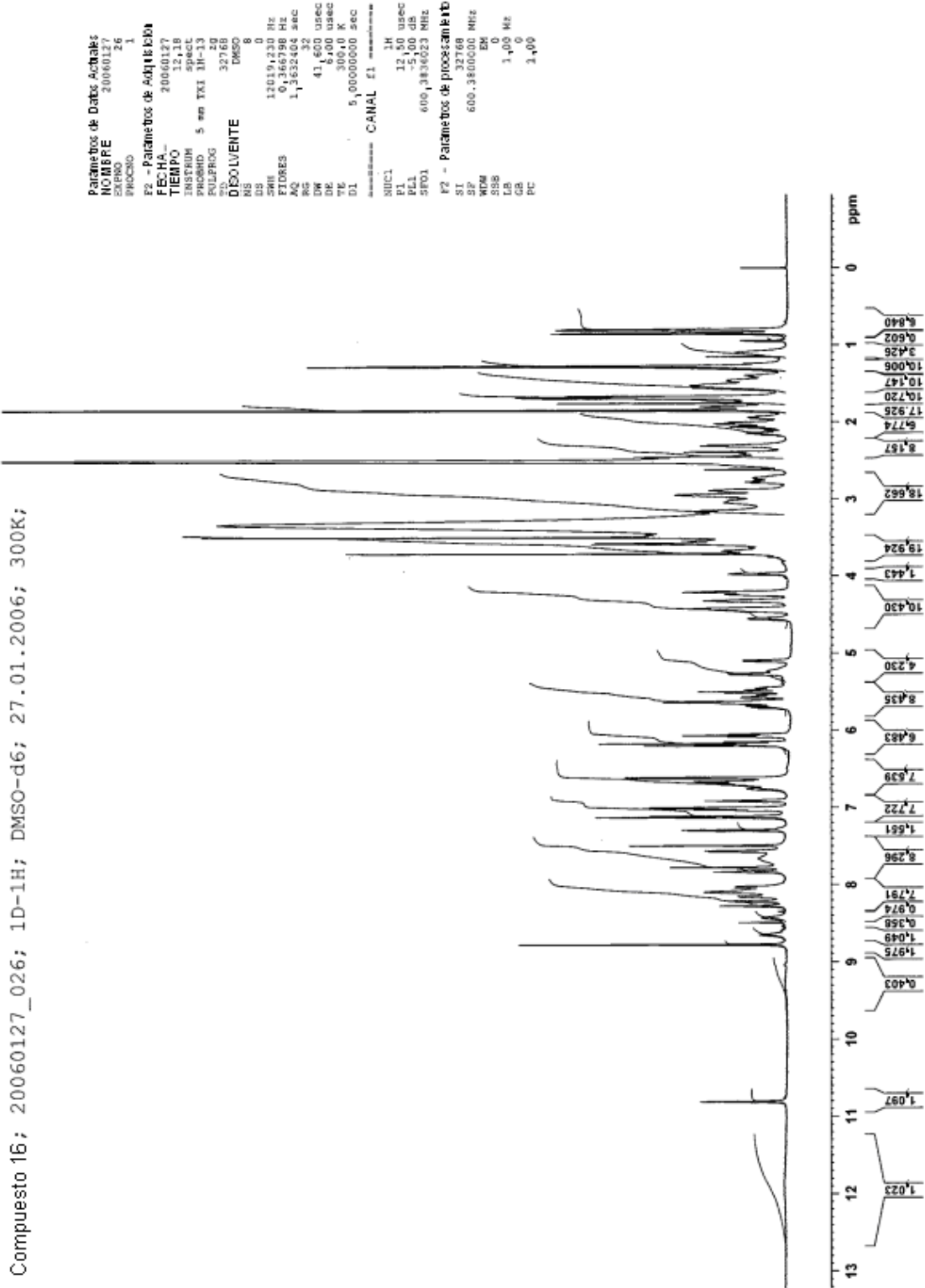


Figura 13

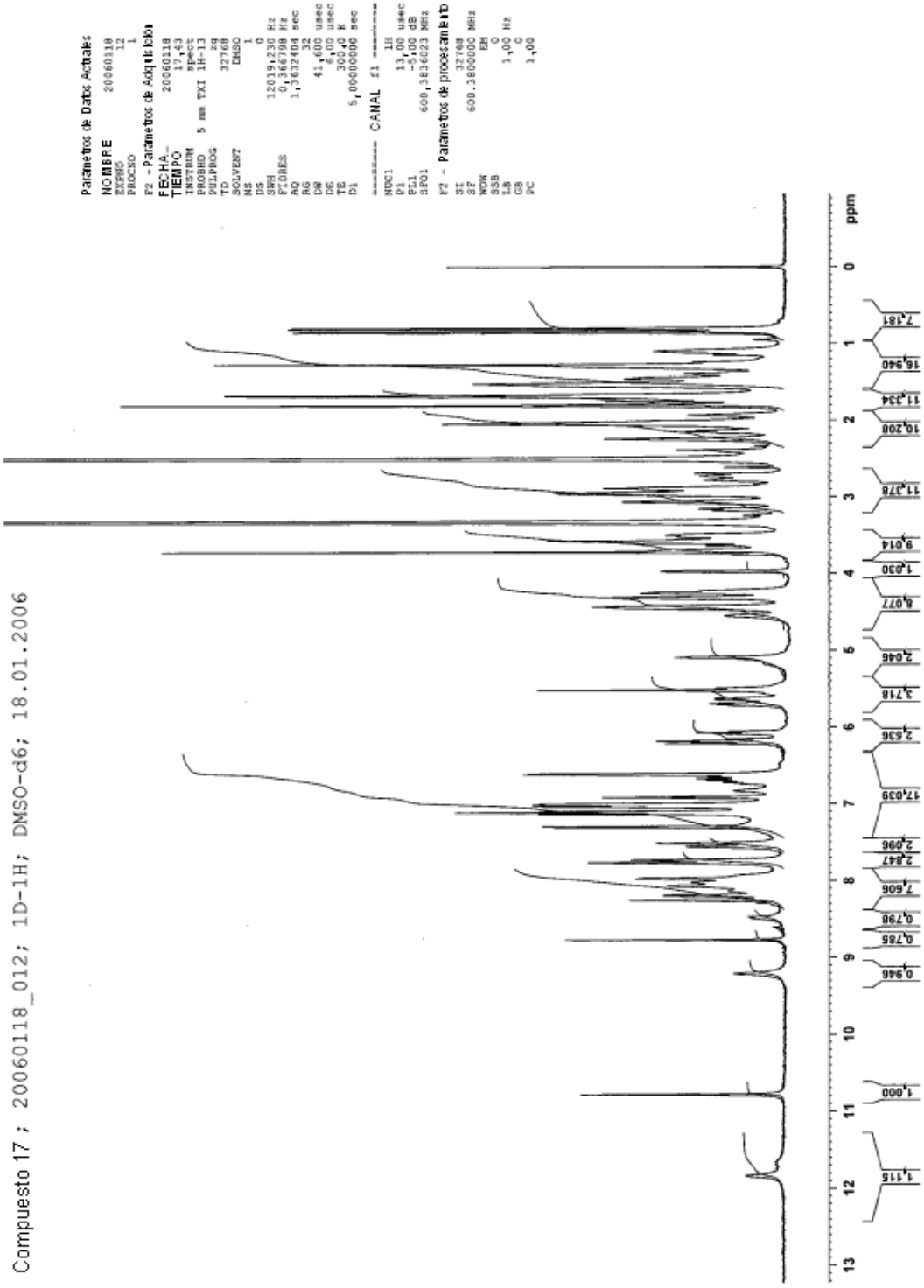


Figura 14

