

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO



No. 10-017551- -00010-0000

Fecha: 2013-07-29 16:39:29 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI
Act. 851 DIVISIONAL Folios: 5



Industria y Comercio

SUPERINTENDENCIA

DELEGATURA DE PROPIEDAD INDUSTRIAL DIRECCIÓN DE NUEVAS CREACIONES

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO



No. 13-179114- -00000-0000

Fecha: 2013-07-29 16:39:30 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI
Act. 411 PRESENTACION Folios: 5

SOLICITUD DIVISIONAL DE PATENTE DE INVENCION

TITULO: DEPSIPÉPTIDOS CÍCLICOS

SOLICITANTE: NOVARTIS AG

EXPEDIENTE No. 10-017.551A

DIRECCIÓN: Lichtstrasse 35, CH-4056 Basel

APODERADO: CARLOS R. OLARTE

BOGOTÁ: 29 de julio de 2013

P2010/000016A

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO



No. 10-017551-00010-0000

Fecha: 2013-07-29 16:39:29 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI
Act. 851 DIVISIONAL Folios: 5

Señores

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO
DIRECCION DE NUEVAS CREACIONES

E. _____ S. _____

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO



No. 13-179114-00000-0000

Fecha: 2013-07-29 16:39:30 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI
Act. 411 PRESENTACION Folios: 5

Medellín
María Clara Múnera
Eddie M. Rodríguez

Re: Expediente N° 10-017.551A

Solicitud de Patente de Invención Titulada: "DEPSIPÉPTIDOS CÍCLICOS"

Solicitante: NOVARTIS AG

Nuestra Ref.: P2010/000016A

CARLOS R. OLARTE, mayor de edad y vecino de Bogotá, identificado tal como aparece al pie de mi firma, en mi carácter de apoderado de la sociedad solicitante, me permito manifestar lo siguiente:

1. Me permito presentar una **SOLICITUD DIVISIONAL A**, para la solicitud de patente en referencia.

Atentamente,

CARLOS R. OLARTE
C.C. 79.782.747 de Bogotá
T.P. 74.295

Anexo: Solicitud Divisional

OLARTE RAISBECK

OLARTE RAISBECK MOU

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

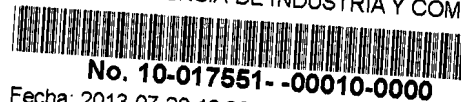


No. 13-179114-00000-0000

Fecha: 2013-07-29 16:39:30 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI
Act. 411 PRESENTACION Folios: 5

PETITORIO - FORMULAR PATEN ENTRADA EN SOLI

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO



No. 10-017551-00010-0000

Fecha: 2013-07-29 16:39:29 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI
Act. 851 DIVISIONAL Folios: 5

1



Patente de Invención.



Capítulo I.



Capítulo II.

2

SOLICITANTE
(71)

Nombre: **NOVARTIS AG**

Dirección: Lichtstrasse 35, CH-4056 Basel

Nacionalidad o Domicilio: Suiza

Lugar de Constitución: Suiza

Teléfono: _____ Fax: _____

E-mail: _____

IDENTIFICACIÓN

C.C. ☐ NIT ☐

C.E. ☐ Otro ☐

Cual _____

Número _____

REPRESENTANTE
O APODERADO

Nombre: CARLOS R. OLARTE

Dirección: World Trade Center Torre A,
Calle 100 No. 8A-37 Piso 10

Teléfono: 601-7700 Fax: 601-7799

E-mail: office@olarteraisbeck.com

IDENTIFICACIÓN

C.C. ☒ NIT ☐

C.E. ☐ Otro ☐

Cual _____

Número 79782747Bta
TP 74.295

INVENTOR (ES)
(72)

Nombre: VER PAGINA ADJUNTA

Dirección: VER PAGINA ADJUNTA

Nacionalidad o Domicilio: VER PAGINA ADJUNTA

5

PCT (86)

Solicitud Internacional No. PCT/EP2008/060689 Fecha Agosto 14, 2008

Publicación Internacional No. WO 2009/024527 Fecha Febrero 26, 2009

6

Título (54) **DEPSIPÉPTIDOS CÍCLICOS**

Clasificación Internacional (51) C07K 11/02, A61K 38/15

Prioridad

SI ☒ NO ☐

(33) País de Origen

EP

(32) Fecha

Agosto 17, 2007

(31) Número de Solicitud

07114507.2

9

Comprobante de pago No. 13-

Fecha Julio 2013



ANEXOS



Comprobante de pago de la tasa de presentación de la solicitud.



Documento que acredita la existencia y representación legal cuando el solicitante sea persona jurídica.



Poderes, si fuere el caso. Adjunto copia simple ver expediente original No. 10-017.551



Documento de cesión del inventor al solicitante o a su causante. Ver expediente original No. 10-017.551.



Declaraciones.



Copia de la solicitud internacional. (Resumen, descripción, reivindicaciones, dibujos).



Traducción de la solicitud internacional al castellano. (Resumen, descripción, reivindicaciones, dibujos).



Copia del examen preliminar internacional efectuado por la Autoridad Internacional de Examen Preliminar (IPEA).



Traducción del examen preliminar internacional efectuado por la IPEA.



De ser el caso, copia del contrato de acceso.



De ser el caso, documento que acredite la licencia o autorización de uso de conocimientos tradicionales de las comunidades indígenas.



De ser el caso, certificado de depósito del material biológico. Ver expediente original No. 10-017.551



Arte final 12 x 12.



De ser el caso, información sobre otras solicitudes de patente o títulos obtenidos en el extranjero por el mismo titular o su causante, relacionadas parcial o totalmente con la invención de esta solicitud.



De ser el caso, modificaciones efectuadas a la solicitud internacional.



Otros. Búsqueda Internacional



FIGURA CARACTERÍSTICA:



Solicito la concesión de la patente,

NOMBRE: CARLOS R. OLARTE

FIRMA: 

C.C. 79.782.747 Btá T.P. 74.295

Instrucciones para el diligenciamiento del presente formulario, ver reverso de esta página.

LISTA DE INVENTORES

PCT/EP2008/060689

1. Philipp KRASTEL,
Hauptstrasse 13, 79639
Grenzach-Wyhl
Alemania
Nacionalidad: Alemana

2. Brigitta-Maria LIECHTY,
Kleinhueninger-Strasse 140,
CH-4057 Basel
Suiza
Nacionalidad: Suiza

3. Josef Gottfried MEINGASSNER,
Novartis Institutes for BioMedical,
Research GmbH & Co KG,
Postfach 80, A-1235 Wien
Austria
Nacionalidad: Austriaca

4. Esther SCHMITT,
Mauerstr. 6,
79539 Lörrach
Alemania
Nacionalidad: Alemana

5. Erwin Paul SCHREINER,
Novartis Institutes for BioMedical,
Research GmbH & Co KG,
Postfach 80, A-1235 Wien
Austria
Nacionalidad: Austriaca

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO
NIT : 800.176.089-2
- / -

 Industria y Comercio SUPERINTENDENCIA	RECIBO DE CAJA	No. 13 - 0075346
		Bogotá D.C., Julio 29 de 2013 - 16:26:14

RECIBIDO DE : OLARTE MOURE & ASOCIADOS					NI 830.122.870
*** Soporte del Pago ***					
TIPO PAGO	BANCO	CUENTA	No. PAGO	FECHA PAGO	VR.PAGO
CONSIGNACION	BANCO DE BOGOTA	062754387	532446283	25/07/2013	8.925.000.00

*** Conceptos Pagados ***				
CANT.	RENTISTICO	CONCEPTO	Vr.UNDITARIO	Vr.CONCEPTO
1	50005-01-01 SOLICITUDES	2205 DIVISIONAL SOLICITUD DE PATENTE DE INVENCION CONT. DERE	450.000.00	450.000.00
				\$450.000.00
			=====	

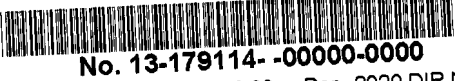
SON: **CUATROCIENTOS CINCUENTA MIL PESOS MONEDA CORRIENTE***

Responsable: _____

Recibo de Caja Aplicado al Expediente No. _____

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

No. 10-017551- -00010-0000
Fecha: 2013-07-29 16:39:29 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI
Act. 851 DIVISIONAL Folios: 5

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

No. 13-179114- -00000-0000
Fecha: 2013-07-29 16:39:30 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI
Act. 411 PRESENTACION Folios: 5

 Industria y Comercio SUPERINTENDENCIA		PLANILLA DE RADICACIÓN - DIGITALIZACIÓN DIARIA RELACIÓN DE ANEXOS	
Dependencia: 2020		Fecha: 13 / 07 / 29 / AAAA MM DD	Recorrido: 3
Tipo de Radicación: Entrada: ☒ Salida: ☐ Traslado: ☐ Convenio: ☐			
Radicador:			Planilla:

ID	No. Radicación	Consecutivo	Item
1	10 - 17551 -	10	7
2	13 - 179114 -	0	
3			
4			
5			
6			
7			
8			
9			
10			
11			
12			
13			
14			
15			
16			
17			

Item	Unidad de Conservación
1	Bolsa
2	Caja
3	Libro
4	Sobre
5	Tomo
6	Otro
Item	Soporte Documental
7	CD
8	Disquete
9	DVD
10	Folleto
11	Foto
12	Periódico
13	Plano
14	Publicación Periódica
15	USB
16	Otro

Observaciones:

CC

Nota del traductor:

El documento adjunto de poder de Novartis AG a Carlos R. Olarte y/o J. Ian Raisbeck y/o Ana Maria Frieri y/o Juan Guillermo Moure y/o Natalia Castro lleva los siguientes datos en inglés.

CERTIFICACIÓN NOTARIAL

1. En esta fecha, día 30 de Agosto de 2006, yo, el suscrito Notario Público certifico por medio del presente la autenticidad de las firmas del señor Arthur Canonica, ciudadano de Corticiasca, Suiza, residente en Wisen/SO, Suiza, y del Sr. Pascal Traub, ciudadano de Riehen, Suiza, residente en Basilea, Suiza, ambos personas mayores de edad y con dirección comercial en Lichstrasse 35, 4056, Basilea, Suiza. La autenticidad de la firmas fue establecida por medio de la comparación.
2. Además, yo, el Notario Público, certifico por el presente que las anteriores personas han ejecutado el anterior documento como apoderados de Novartis AG.
3. Además, yo, el Notario Público certifico por el presente que Novartis AG, con su principal lugar de negocios en Basilea, Suiza, está debidamente constituida, está actualmente vigente y que los propósitos para los cuales se otorgó el Documento de Poder están dentro del alcance de sus propósitos corporativos.



4. Además, yo, el Notario Público, certifico por el presente que las anteriores personas tienen la autoridad para ejecutar el documento de Poder y que por este instrumento, su representación es legal.

La base para mis certificaciones de los puntos 2, 3 y 4 fue la exhibición de los siguientes documentos auténticos:

- Documento de Poder de Novartis AG fechado el 19 de junio de 2006 y
- Extracto del Registro de Comercio del Cantón de la ciudad de Basilea para Novartis AG, en Basilea, fechado el 25 de enero de 2006.

Basilea, Suiza, este día 30 de Agosto de 2006.

(Firmado) Dr. Matthias Staehelin, Notario Público del Cantón de la ciudad de Basilea, Suiza.

Mi licencia vence el 11 de Marzo de 2009.

Hay una Apostilla de Suiza, firmada por Heidi Fischer, bajo el No. 8049/13584.



Traductor Oficial
JORGE E. SIERRA REYES
Licencia 376 - 1993 Minjusticia

Certificación:

Certifico que la presente es una traducción verdadera y completa del documento adjunto: "Novartis"

Fecha: 12 de Septiembre de 2006.

Traductor: Jorge Enrique Sierra Reyes.

Licencia No. 376 de 1993, del Ministerio de Justicia.

Dirección: Carrera 15 No. 99-13 Oficina 411. Bogotá, Colombia.

Teléfono: (57-1) 2182308, (57-1) 6232925.

E-mail: treseser1@yahoo.com. No. 8346



Traductor Oficial
JORGE E. SIERRA REYES
Licencia 376 - 1993 Minjusticia

Power of Attorney

The undersigned,

domiciled in

NOVARTIS AG

Lichtstrasse 35, CH-4056 Basel / Switzerland

by means of these presents hereby grants to **Carlos R. Olarte and/or J. Ian Raisbeck and/or Ana María Frieri and/or Juan Guillermo Moure and/or Natalia Castro** full and sufficient Power of Attorney to file, prosecute, obtain, defend and enforce any and all of the company's Patents for Inventions, Utility Models, Layout-Designs (topographies) of Integrated Circuits, Industrial Designs, Trademarks, Advertising Slogans, Trade Names, Commercial Emblems, Geographical Indications, Protection of Trade Secrets, Obtainer's Certificates, Copyrights, Registration of Domain Names, Health Registrations, or any other intellectual property right in the Republic of Colombia, to which end it empowers them to take all steps necessary before any administrative or judicial authority of any class for the objects stated, to file petitions, recourses, replies and oppositions, pay taxes and annuities, request testimonies, receive documents and securities, abandon applications and collect refunds. Sufficient power is hereby granted to receive notifications on behalf of the Company, to confer powers on those who are to represent the company judicially and extrajudicially, to answer in court in the matter of all claims and demands that may be presented in connection with the objects stated, giving them likewise power to substitute these presents and revoke such substitutions.

Poder

El suscrito,

domiciliado en

por medio del presente otorga a **Carlos R. Olarte y/o J. Ian Raisbeck y/o Ana María Frieri y/o Juan Guillermo Moure y/o Natalia Castro** poder especial, amplio y suficiente para presentar, tramitar, obtener, defender y hacer respetar todas y cualquiera de las Patentes de Invención, Modelos de Utilidad, Esquemas de Trazados de Circuitos Integrados, Diseños Industriales, Marcas, Lemas Comerciales, Nombres Comerciales, Enseñas Comerciales, Denominaciones de Origen, Protección de Secretos Empresariales, Certificados de Obtentor, Derechos de Autor, Registro de Nombres de Dominio, Registros Sanitarios, o cualquier otro bien de propiedad intelectual de la compañía en la República de Colombia, a cuyo efecto los faculta para dar todos los pasos necesarios ante cualquier autoridad administrativa o judicial de cualquier jerarquía para cumplir con lo encomendado, elevar solicitudes, recursos, respuestas y oposiciones, pagar impuestos y anualidades, solicitar testimonios, recibir documentos y valores, desistir y percibir. Se concede poder bastante para recibir notificaciones a nombre de la compañía, otorgar poderes a quienes vayan a representar a la compañía judicial y extrajudicialmente, responder en juicio a todas las reclamaciones o demandas que por motivo de lo encomendado se presentaren, dándoles asimismo facultad para sustituir el presente y revocar dichas sustituciones.

Signature/Firma:

Date/Fecha: June 27, 2006

City/Country/Ciudad,País: Basel, Switzerland


Arthur Canonica


Pascal Traub

Attestation

- 1 On this date, the 30th (thirtieth) day of August 2006 (two thousand and six), I, the undersigned Notary Public certify herewith the authenticity of the signatures of **Mr. Arthur Canonica**, citizen of Corticiasca, Switzerland, residing in Wisen/SO, Switzerland and of **Mr. Pascal Traub**, citizen of Riehen, Switzerland, residing in Basel, Switzerland, both of legal age and with business address at, Lichtstrasse 35, 4056 Basel, Switzerland. The authenticity of the signatures was established by means of comparison.
- 2 Further, I, the Notary Public certify herewith that the foregoing persons have executed the foregoing document as proxy holders for Novartis AG.
- 3 Further, I, the Notary Public certify herewith that Novartis AG, having its principal place of business located in Basel / Switzerland, is duly incorporated, is currently in existence, and that the purposes for which the Power of Attorney is granted are within the scope of its corporate purposes.
- 4 Further, I, the Notary Public certify herewith that the foregoing persons have the authority to execute the Power of Attorney and that for this instrument their representation is legal.

The foundation for my certifications contained in points 2 (two), 3 (three) and 4 (four) was the exhibition of the following authentic documents:

- Power of Attorney by Novartis AG dated June 19 (nineteen), 2006 (two thousand and six); and
- Extract from the Register of Commerce of the Canton of Basel-City for Novartis AG, in Basel, dated January 25 (twenty-five), 2006 (two thousand and six).

BASEL, Switzerland, this 30th (thirtieth) day of August 2006 (two thousand and six)



Dr. Matthias Staehelin, Notary Public
in the Canton of Basel-City, Switzerland

My license expires on March 11 (eleven),
2009 (two thousand and nine).

APOSTILLE

(Hague Convention of October 5th, 1961)

1. Country: Switzerland (Schweiz / Suisse)

This official document

2. is signed by *P. in*

3. in his/her function as *off. pers.*

4. and certified by the seal of the *Chancery*

Certified 20. Aug. 2006

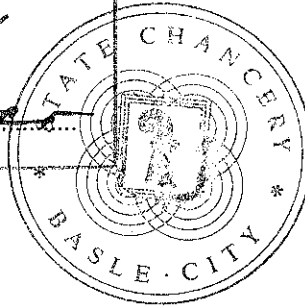
5. in Basel (Bâle) 6. on

7. by the State Chancery of the Canton of Basel-Stadt

8. no. *2009/18584*

9. Seal / stamp: 10. Signature: *Fischer*

Heidi Fischer



(19) World Intellectual Property Organization
International Bureau



(43) International Publication Date
26 February 2009 (26.02.2009)

PCT

(10) International Publication Number
WO 2009/024527 A1

(51) International Patent Classification:
C07K 11/02 (2006.01) *A61K 38/15* (2006.01)

(21) International Application Number:
PCT/EP2008/060689

(22) International Filing Date: 14 August 2008 (14.08.2008)

(25) Filing Language: English

(26) Publication Language: English

(30) Priority Data:
07114507.2 17 August 2007 (17.08.2007) EP

(71) Applicant (for all designated States except US): **NOVARTIS AG** [CH/CH]; Lichtstrasse 35, CH-4056 Basel (CH).

(72) Inventors; and

(75) Inventors/Applicants (for US only): **KRASTEL, Philipp** [DE/DE]; Hauptstrasse 13, 79639 Grenzach-wyhlen (DE). **LIECHTY, Brigitta-Maria** [CH/CH]; Kleinhüeningerstrasse 140, CH-4057 Basel (CH). **MEINGASSNER, Josef Gottfried** [AT/AT]; Novartis Institutes for BioMedical, Research GmbH & Co KG, Postfach 80, A-1235 Wien (AT). **SCHMITT, Esther** [DE/DE]; Mauerstr. 6, 79539 Lörrach (DE). **SCHREINER, Erwin Paul** [AT/AT]; Novartis Institutes for BioMedical, Research GmbH & Co KG, Brunner Strasse 59, A-1235 Wien (AT).

(74) Agent: **VOEGELI-LANGE, Regina**; Novartis Pharma Ag, Patent Department, CH-4002 Basel (CH).

(81) Designated States (unless otherwise indicated, for every kind of national protection available): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KM, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PG, PH, PL, PT, RO, RS, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.

(84) Designated States (unless otherwise indicated, for every kind of regional protection available): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), Eurasian (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), European (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MT, NL, NO, PL, PT, RO, SE, SI, SK, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

Declaration under Rule 4.17:

— as to applicant's entitlement to apply for and be granted a patent (Rule 4.17(ii))

Published:

— with international search report
— before the expiration of the time limit for amending the claims and to be republished in the event of receipt of amendments
— with (an) indication(s) in relation to deposited biological material furnished under Rule 13bis separately from the description

(54) Title: CYCLIC DEPSIPEPTIDES

(57) Abstract: The present application relates to cyclic depsipeptides, or derivatives thereof, having the structure of formula (I), and uses thereof, e.g. as inhibitors of kallikrein 7 and human neutrophil elastase.

WO 2009/024527 A1

Cyclic depsipeptides

Field of the Invention

The present invention relates to cyclic depsipeptides, or a derivatives thereof.

Background of the Invention

Kallikrein 7 is a S1 serine protease of the kallikrein gene family displaying a chymotrypsin like activity. Human kallikrein 7 (hK7, KLK7 or stratum corneum chymotryptic enzyme (SCCE), Swissprot P49862) plays an important role in skin physiology (1, 2, 3). It is mainly expressed in the skin and has been reported to play an important role in skin physiology. hK7 is involved in the degradation of the intercellular cohesive structures in cornified squamous epithelia in the process of desquamation. The desquamation process is well regulated and delicately balanced with the *de novo* production of corneocytes to maintain a constant thickness of the stratum corneum, the outermost layer of the skin critically involved in skin barrier function. In this regard, hK7 is reported to be able to cleave the corneodesmosomal proteins corneodesmosin and desmocollin 1 (4, 5, 6). The degradation of both corneodesmosomes is required for desquamation. In addition, very recently it has been shown that the two lipid processing enzymes β -glucocerebrosidase and acidic sphingomyelinase can be degraded by hK7 (7). Both lipid processing enzymes are co-secreted with their substrates glucosylceramides and sphingomyelin and process these polar lipid precursors into their more non-polar products e.g. ceramides, which are subsequently incorporated into the extracellular lamellar membranes. The lamellar membrane architecture is critical for a functional skin barrier. Finally, hK7 has been shown to activate Interleukin-1 β (IL-1 β) precursor to its active form in vitro (8). Since keratinocytes express IL-1 β but not the active form of the specific IL-1 β converting enzyme (ICE or caspase 1), it is proposed that IL-1 β activation in human epidermis occurs via another protease, a potential candidate being hK7.

Recent studies link an increased activity of hK7 to inflammatory skin diseases like atopic dermatitis, psoriasis or Netherton's syndrome. This might lead to an uncontrolled degradation of corneodesmosomes resulting in a miss-regulated desquamation, an enhanced degradation of lipid

processing enzymes resulting in a disturbed lamellar membrane architecture or an uncontrolled activation of the proinflammatory cytokine IL-1 β . The net result would be an impaired skin barrier function and inflammation (see also WO-A-2004/108139).

Due to the fact that the hK7 activity is controlled at several levels, various factors might be responsible for an increased hK7 activity in inflammatory skin diseases. Firstly, the amount of protease being expressed might be influenced by genetic factors. Such a genetic link, a polymorphism in the 3'-UTR in the hK7 gene, was recently described (9). The authors hypothesise that the described 4 base pair insertion in the 3'-UTR of the kallikrein 7 gene stabilizes the hK7 mRNA and results in an overexpression of hK7. Secondly, since hK7 is secreted via lamellar bodies to the stratum corneum extracellular space as zymogen and it is not able to autoactivate, it needs to be activated by another protease e.g. hK5 (5). Uncontrolled activity of such an activating enzyme might result in an overactivation of hK7. Thirdly, activated hK7 can be inhibited by natural inhibitors like LEKTI, ALP or elafin (10, 11). The decreased expression or the lack of such inhibitors might result in an enhanced activity of hK7. Recently it was found, that mutations in the *spink5* gene, coding for LEKTI, are causative for Netherton's syndrome (12) and a single point mutation in the gene is linked to atopic dermatitis (13, 14). Finally, another level of controlling the activity of hK7 is the pH. hK7 has a neutral to slightly alkaline pH optimum (2) and there is a pH gradient from neutral to acidic from the innermost to the outermost layers in the skin. Environmental factors like soap might result in a pH increase in the outermost layers of the stratum corneum towards the pH optimum of hK7 thereby increasing the hK7 activity.

The hypothesis that an increased activity of hK7 is linked to skin diseases with an impaired skin barrier including inflammatory and hyperproliferative skin diseases is supported by the following studies: Firstly, Netherton's syndrome patients show a phenotype dependent increase in serine protease activity, a decrease in corneodesmosomes, a decrease in the lipid processing enzymes β -glucocerebrosidase and acidic sphingomyelinase, and an impaired barrier function (15, 16). Secondly, a transgenic mice overexpressing human kallikrein 7 shows a skin phenotype similar to that found in patients with atopic dermatitis (17, 18, 19). Thirdly, in the skin of atopic dermatitis and psoriasis patients elevated levels of hK7 were described (17, 20). Furthermore, increased activity of K7 and thus epithelial barrier dysfunction may also play an important role in the pathology of other epithelial diseases such as inflammatory bowel disease and Crohn's disease.

Therefore, hK7 is considered to be a potential target for the treatment of diseases involved with epithelial dysfunction such as inflammatory and/or hyperproliferative and pruritic skin diseases like atopic dermatitis, psoriasis, Netherton's syndrome or other pruritic dermatoses such as prurigo nodularis, unspecified itch of the elderly as well as other diseases with epithelial barrier dysfunction such as inflammatory bowel disease and Crohn's disease and there is a need for specific modulators (agonists or inhibitors) thereof.

Human neutrophil elastase (HNE, also known as human leukocyte elastase, HLE) belongs to the chymotrypsin family of serine proteinases. Its catalytic activity is optimal around pH 7, and the catalytic site is composed of three hydrogenbonded amino acid residues: His57, Asp102, and Ser195 (in chymotrypsin numbering), which form the so-called catalytic triad. The enzyme is composed of a single peptide chain of 218 amino acid residues and four disulfide bridges. It shows 30 to 40% sequence identity with other elastinolytic or nonelastinolytic serine proteinases. HNE preferentially cleaves the oxidized insulin B chain with Val at the P1 position, but it also hydrolyzes bonds with Ala, Ser, or Cys in the P1 position.

HNE is located in the azurophilic granules of polymorphonuclear leukocytes (PMNLs), where the HNE concentration is rather high (3 μ g of enzyme/10⁶ cells). The major physiological function is to digest bacteria and immune complexes and to take part in the host defense process. HNE aids in the migration of neutrophils from blood to various tissues such as the airways in response to chemotactic factors. HNE also takes part in wound healing, tissue repair, and in the apoptosis of PMNLs.

In addition to elastin (highly flexible and highly hydrophobic component of lung connective tissue, arteries, skin, and ligaments), HNE cleaves many proteins with important biological functions, including different types of collagens, membrane proteins, and cartilage proteoglycans. HNE also indirectly favours the breakdown of extracellular matrix proteins by activating procollagenase, prostromelysin, and progelatinase. HNE inactivates a number of endogenous proteinase inhibitors such as α 2-antiplasmin, α 1-antichymotrypsin, antithrombin, and tissue inhibitor of metalloproteinases.

Extracellular elastase activity is tightly controlled in the pulmonary system by α 1-protease inhibitor (α 1PI), responsible for protection of the lower airways from elastolytic damage, whereas the secretory leukocyte proteinase inhibitor protects mainly the upper airways. In a number of

pulmonary pathophysiological states, e.g., pulmonary emphysema, chronic bronchitis, and cystic fibrosis, endogenous elastase inhibitors are inefficient in regulating HNE activity.

HNE is considered to be the primary source of tissue damage associated with inflammatory diseases such as pulmonary emphysema, adult respiratory distress syndrome (ARDS), chronic bronchitis, chronic obstructive pulmonary disease (COPD), pulmonary hypertension, and other inflammatory diseases as well as bronchopulmonary dysplasia in premature neonates. HNE is involved in the pathogenesis of increased and abnormal airway secretions commonly associated with airway inflammatory diseases. Thus, bronchoalveolar lavage (BAL) fluid from patients with chronic bronchitis and cystic fibrosis has increased HNE activity. Furthermore, excessive elastase has been proposed to contribute not only to these chronic inflammatory diseases but also to acute inflammatory diseases such as ARDS and septic shock.

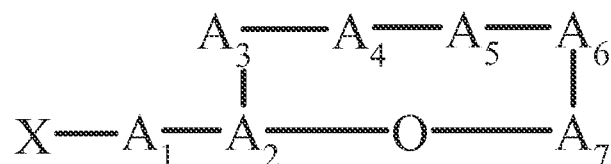
Therefore, HNE is considered to be a potential target for the treatment of diseases involved with HNE activity such as inflammatory diseases such as pulmonary emphysema, adult respiratory distress syndrome (ARDS), chronic bronchitis, chronic obstructive pulmonary disease (COPD), pulmonary hypertension, and other inflammatory diseases as well as bronchopulmonary dysplasia in premature neonates, and diseases involved with increased and abnormal airway secretions as well as acute inflammatory diseases. Thus there is a need for specific modulators (agonists or inhibitors) of HNE.

Treatment can be by local or systemic application such as creams, ointments and suppositories or by oral or sc or iv application or by inhalation, respectively.

Chondromyces is a genus in the family Polyangiaceae, which belongs to the order Myxococcales within the Delta-proteobacteria. Bacteria of the order Myxococcales, also called myxobacteria, are gram-negative rod-shaped bacteria with two characteristics distinguishing them from most other bacteria. They swarm on solid surfaces using an active gliding mechanism and aggregate to form fruiting bodies upon starvation (Kaiser (2003)). The present inventors have identified cyclic depsipeptide produced by Chondromyces that are able to specifically modulate kallikrein 7.

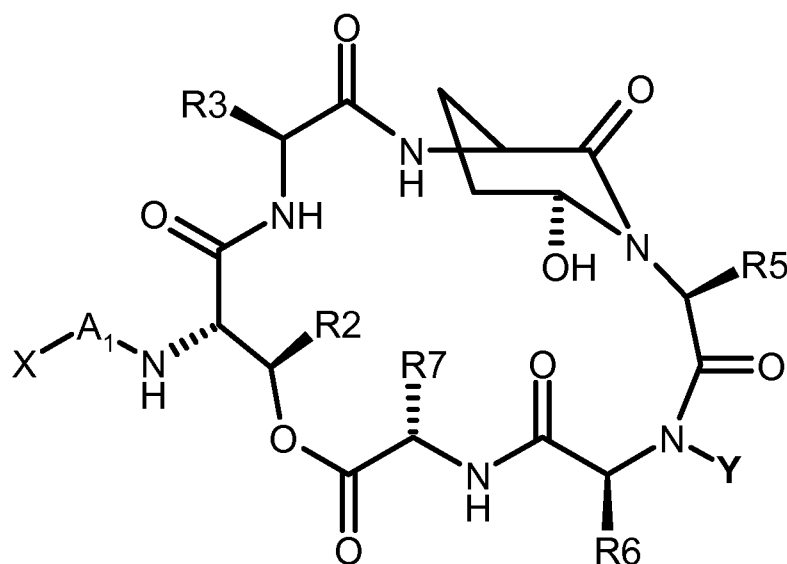
Summary of the Invention

In one aspect the present invention relates to cyclic depsipeptides, or derivatives thereof, having the structure of formula (I):



wherein the ester bond is found between the carboxy group of A7 and the hydroxy group of A2, wherein X and A₁ are each independently optional, and wherein X is any chemical residue, wherein A₁ is a standard amino acid which is not aspartic acid or a derivative of said standard amino acid, wherein A₂ is threonine or serine, wherein A₃ is a non-basic standard amino acid or a non-basic derivative thereof, wherein A₄ is Ahp, dehydro-AHP, proline or a derivative thereof, wherein A₅ is isoleucine or valine, wherein A₆ is tyrosine or a derivative thereof and wherein A₇ is leucine, isoleucine or valine.

Alternatively, the cyclic depsipeptides of the invention, or derivatives thereof, can be depicted according to Formula (I'):



wherein X and A₁ are as defined in the claims, and wherein R2 is H or methyl

R3 the side chain of a non-basic amino acid or a non-basic derivative thereof

R5 is the side chain of the amino acid isoleucine or valine

R6 is the side chain of tyrosine or a derivative thereof

R7 is the side chain of the amino acid leucine, isoleucine or valine

Y is either hydrogen or a methylgroup,

and wherein Ahp can be substituted by dehydro-AHP, Ahp-I, Ahp-II, proline or a derivative thereof.

The present invention also relates to a pharmaceutically acceptable salt of such a cyclic depsipeptide or a derivative thereof.

In the cyclic depsipeptides of the invention X can be H or an acyl residue, for instance $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CO}$, $(\text{CH}_3)_2\text{CHCH}_2\text{CO}$ or $(\text{CH}_3)_2\text{CHCO}$.

In the cyclic depsipeptides of the invention A1 can be glutamine, glutamic acid, or a derivative thereof, e.g. a glutamic nitrile or a glutamic acid ester.

In the cyclic depsipeptides of the invention A2 can be threonine or a derivative thereof.

In the cyclic depsipeptides of the invention A3 can be leucine.

In the cyclic depsipeptides of the invention A6 can be tyrosine.

In some embodiments of the cyclic depsipeptides of the invention A4 can be the Ahp derivative 3-amino-piperidin-2-one, Ahp-I or Ahp-II.

In some embodiments of the cyclic depsipeptides, or derivatives thereof, of the invention, X is $(\text{CH}_3)_2\text{CHCO}$, A₁ is glutamine, glutamic acid or a derivative thereof, A₂ is threonine, A₃ is leucine, A₄ is Ahp or a derivative thereof, A₅ is isoleucine or valine, A₆ is tyrosine or a derivative thereof and A₇ is isoleucine or valine.

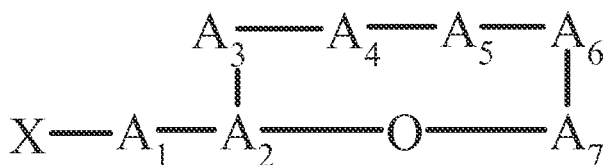
In other embodiments of cyclic depsipeptide, or derivatives thereof, of the invention X is $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CO}$ A₁ is glutamine, glutamic acid or a derivative thereof, A₂ is threonine, A₃ is

leucine, A₄ is Ahp or a derivative thereof, A₅ is isoleucine, A₆ is tyrosine or a derivative thereof, and A₇ is isoleucine.

In yet other embodiments of cyclic depsipeptide, or derivative thereof, of the invention X is CH₃CH₂CH(CH₃)CO, A₁ is glutamine, glutamic acid or a derivative thereof, A₂ is threonine, A₃ is leucine, A₄ is dehydro-AHP or a derivative thereof, A₅ is isoleucine, A₆ is tyrosine or a derivative thereof, and A₇ is isoleucine.

In further embodiments of cyclic depsipeptide, or derivative thereof, of the invention X is (CH₃)₂CHCH₂CO, A₁ is glutamine, glutamic acid or a derivative thereof, A₂ is threonine, A₃ is leucine, A₄ is dehydro-AHP, Ahp or a derivative thereof, A₅ is isoleucine, A₆ is tyrosine or a derivative thereof, and A₇ is isoleucine.

The present invention moreover also relates to cyclic depsipeptides, or derivatives thereof, having the structure of formula (I)



wherein the ester bond is found between the carboxy group of A₇ and the hydroxy group of A₂, wherein X is (CH₃)₂CHCH₂CO, wherein A₁ is glutamine, glutamic acid or a derivative thereof, wherein A₂ is threonine, wherein A₃ is leucine, wherein A₄ is Ahp or proline, or a derivative thereof, wherein A₅ is phenylalanine, wherein A₆ is tyrosine or a derivative thereof, and wherein A₇ is valine.

In particular embodiments thereof, X is (CH₃)₂CHCH₂CO, A₁ is glutamine, glutamic acid or a derivative thereof, A₂ is threonine, A₃ is leucine, A₄ is Ahp, or a derivative thereof, A₅ is phenylalanine, A₆ is tyrosine or a derivative thereof, and A₇ is valine.

In other embodiments thereof, X is (CH₃)₂CHCH₂CO, A₁ is glutamine, glutamic acid or a derivative thereof, A₂ is threonine, A₃ is leucine, A₄ is proline, or a derivative thereof, A₅ is phenylalanine, A₆ is tyrosine or a derivative thereof, and A₇ is valine. In these embodiments, the nitrogen atom of the amid bond between A₅ and A₆ can be substituted with a methyl.

In the cyclic depsipeptide, or derivative thereof, of the invention A1, A2, A3, A5, A6 and A7 can be L-amino acids. Moreover, A4 can 3S,6R Ahp.

The present invention also relates to the use of the above-described depsipeptides, and derivatives thereof, as a medicament. For instance for the treatment of cancer, in particular ovarian cancer, or for the treatment of inflammatory and/or hyperproliferative and pruritic skin diseases such as keloids, hypertrophic scars, acne, atopic dermatitis, psoriasis, pustular psoriasis, rosacea, Netherton's syndrome or other pruritic dermatoses such as prurigo nodularis, unspecified itch of the elderly as well as other diseases with epithelial barrier dysfunction such as aged skin, inflammatory bowel disease and Crohn's disease, as well as pancreatitis, or of cancer, in particular ovarian cancer, cystic fibrosis (CF), chronic obstructive pulmonary disease (COPD), pulmonary fibrosis, adult respiratory distress syndrome, chronic bronchitis, hereditary emphysema, rheumatoid arthritis, IBD, psoriasis, asthma.

In one embodiment the present invention relates to the use of the above-described depsipeptides, and derivatives thereof, as a medicament for the treatment of inflammatory and/or hyperproliferative and pruritic skin diseases such as keloids, hypertrophic scars, acne, atopic dermatitis, psoriasis, pustular psoriasis, rosacea, Netherton's syndrome or other pruritic dermatoses such as prurigo nodularis, unspecified itch of the elderly as well as other diseases with epithelial barrier dysfunction such as aged skin, inflammatory bowel disease and Crohn's disease, as well as pancreatitis, or of cancer, in particular ovarian cancer.

In another embodiment the present invention relates to the use of the above-described depsipeptides, and derivatives thereof, as a medicament for the treatment of cystic fibrosis (CF), chronic obstructive pulmonary disease (COPD), pulmonary fibrosis, adult respiratory distress syndrome, chronic bronchitis, hereditary emphysema, rheumatoid arthritis, IBD, psoriasis, asthma.

In yet another embodiment the present invention relates to the use of the above-described depsipeptides, and derivatives thereof, as a medicament for the treatment of inflammatory and/or hyperproliferative and pruritic skin diseases such as keloids, hypertrophic scars, acne, atopic dermatitis, psoriasis, pustular psoriasis, rosacea, Netherton's syndrome or other pruritic dermatoses such as prurigo nodularis, unspecified itch of the elderly.

The present invention also encompasses processes for producing the cyclic depsipeptide, or derivative thereof, of the invention, for instance by cultivation of a *Chondromyces* strain, a variant or a mutant thereof, in a suitable medium, and optionally chemical derivation of the so-produced cyclic depsipeptide, or by expression of the biosynthesis genes of a *Chondromyces* strain, a variant or a mutant thereof, in a heterologous microbial host strain, and optionally chemical derivation of the so-produced cyclic depsipeptide.

These processes of the invention can be performed with the strains *Chondromyces crocatus* (DSM 19329) or *Chondromyces robustus* (DSM 19330) or *Chondromyces apiculatus* (DSM 21595).

The present invention hence also relates to isolated *Chondromyces* microorganisms deposited under the accession number DSM 19329 or DSM 19330 or DSM 21595 and to cyclic depsipeptides, or derivative thereof, produced by these isolated *Chondromyces* microorganisms.

Description of the Figures

Figure 1: ^1H -NMR spectrum of the compound of formula (II) (600 MHz, d_6 -DMSO)

Figure 2: ^{13}C -NMR spectrum of the compound of formula (II) (150 MHz, d_6 -DMSO)

Figure 3: ^1H -NMR spectrum of the compound of formula (VIII) (600 MHz, d_6 -DMSO)

Figure 4: ^{13}C -NMR spectrum of the compound of formula (VIII) (150 MHz, d_6 -DMSO).

Figure 5: ^1H -NMR spectrum of a. derivative of the cyclic depsipeptide according to formula (II) wherein the Ahp has been converted into 3-amino-piperidin-2-one (Example 4).

Figure 6: ^1H NMR spectrum of a. derivative of the cyclic depsipeptide according to Example 5. (500 MHz, d_6 -DMSO)

Figure 7: ^1H -NMR spectrum of a. derivative of the cyclic depsipeptide according to Example 19. (500 MHz, d_6 -DMSO)

Figure 8: ^1H -NMR spectrum of a. derivative of the cyclic depsipeptide according to Example 21. (500 MHz, d_6 -DMSO)

Figure 9: ^1H NMR spectrum of a. derivative of the cyclic depsipeptide according to Example 26. (500 MHz, d_6 -DMSO)

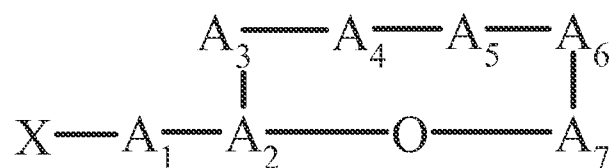
Figure 10: ^1H -NMR spectrum of a. derivative of the cyclic depsipeptide according to Example 32. (500 MHz, d_6 -DMSO)

Figure 11: ^1H -NMR spectrum of a. derivative of the cyclic depsipeptide according to Example 44. (500 MHz, d_6 -DMSO)

Figure 12: ^1H -NMR spectrum of a. derivative of the cyclic depsipeptide according to Example 45. (500 MHz, d_6 -DMSO)

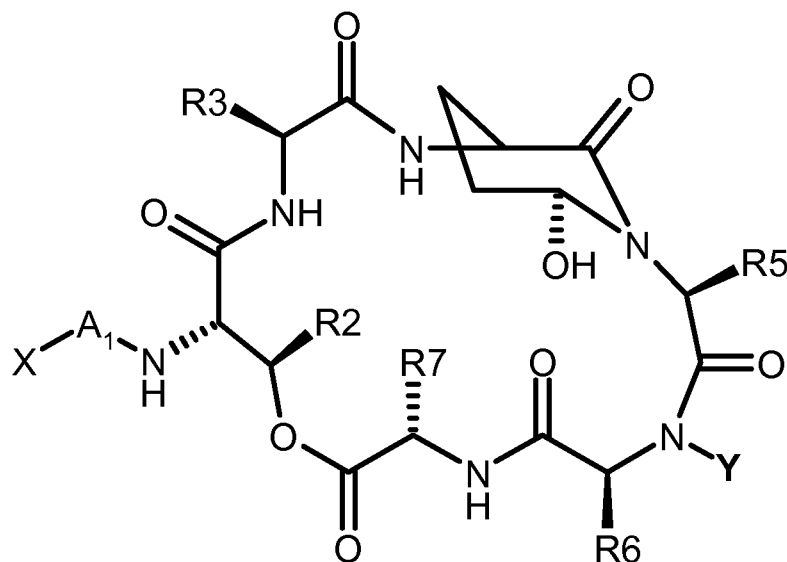
Detailed description of the Invention

As described herein-above and in the claims, the present invention relates in one aspect to cyclic depsipeptides, or a derivatives thereof, having the structure of formula (I):



wherein the ester bond is found between the carboxy group of A7 and the hydroxy group of A2, wherein X and A₁ are each independently optional, and wherein X is any chemical residue, wherein A₁ is a standard amino acid which is not aspartic acid, wherein A₂ is threonine or serine, wherein A₃ is a non-basic standard amino acid or a non-basic derivative thereof, wherein A₄ is Ahp, dehydro-AHP, proline or a derivative thereof, wherein A₅ is isoleucine or valine, wherein A₆ is tyrosine or a derivative thereof and wherein A₇ is leucine, isoleucine or valine.

Alternatively, the cyclic depsipeptides of the invention, or a derivative thereof, can be depicted according to Formula (I'):



wherein X and A₁ are as defined in the claims, and wherein

R₂ the side chain of the amino acid threonine or serine

R₃ the side chain of a non-basic amino acid or a non-basic derivative thereof

R₅ is the side chain of the amino acid isoleucine or valine

R₆ is the side chain of tyrosine or a derivative thereof

R₇ is the side chain of the amino acid leucine, isoleucine or valine

Y is either hydrogen or a methyl group,

and wherein Ahp can be substituted by dehydro-AHP, Ahp-I, Ahp-II, proline or a derivative thereof.

The present invention also relates to a pharmaceutically acceptable salt of such a cyclic depsipeptide or a derivative thereof.

In the cyclic depsipeptides of the invention the nitrogen atom of the amid bond between A₅ and A₆ can be substituted with a methyl.

In the cyclic depsipeptides of the invention X can be H or an acyl residue, for instance CH₃CH₂CH(CH₃)CO, (CH₃)₂CHCH₂CO or (CH₃)₂CHCO.

In the cyclic depsipeptides of the invention A1 can be glutamine, glutamic acid or a derivative thereof.

In the cyclic depsipeptides of the invention A2 can be threonine.

In the cyclic depsipeptides of the invention A3 can be leucine.

In the cyclic depsipeptides of the invention A6 can be tyrosine or a derivative thereof.

In some embodiments of the cyclic depsipeptides of the invention A4 can be the Ahp derivative 3-amino-piperidin-2-one, Ahp-I or Ahp-II.

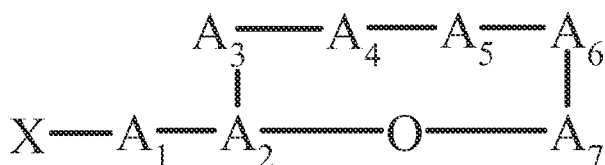
In some embodiments of cyclic depsipeptide, or derivative thereof, of the invention, X is $(\text{CH}_3)_2\text{CHCO}$, A₁ is glutamine, glutamic acid or a derivative thereof, A₂ is threonine, A₃ is leucine, A₄ is Ahp or a derivative thereof, A₅ is isoleucine or valine, A₆ is tyrosine or a derivative thereof and A₇ is isoleucine or valine.

In other embodiments of cyclic depsipeptide, or derivative thereof, of the invention X is $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CO}$ A₁ is glutamine, glutamic acid or a derivative thereof, A₂ is threonine, A₃ is leucine, A₄ is Ahp or a derivative thereof, A₅ is isoleucine, A₆ is tyrosine or a derivative thereof, and A₇ is isoleucine.

In yet other embodiments of cyclic depsipeptide, or derivative thereof, of the invention X is $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CO}$, A₁ is glutamine, glutamic acid or a derivative thereof, A₂ is threonine, A₃ is leucine, A₄ is dehydro-AHP or a derivative thereof, A₅ is isoleucine, A₆ is tyrosine or a derivative thereof, and A₇ is isoleucine.

In further embodiments of cyclic depsipeptide, or derivative thereof, of the invention X is $(\text{CH}_3)_2\text{CHCH}_2\text{CO}$, A₁ is glutamine, glutamic acid or a derivative thereof, A₂ is threonine, A₃ is leucine, A₄ is dehydro-AHP or a derivative thereof, A₅ is isoleucine, A₆ is tyrosine or a derivative thereof, and A₇ is isoleucine.

The present invention moreover also relates to cyclic depsipeptides, or derivatives thereof, having the structure of formula (I)



wherein the ester bond is found between the carboxy group of A7 and the hydroxy group of A2, wherein X is $(\text{CH}_3)_2\text{CHCH}_2\text{CO}$, wherein A₁ is glutamine, glutamic acid or a derivative thereof, wherein A₂ is threonine, wherein A₃ is leucine, wherein A₄ is Ahp or proline, or a derivative thereof, wherein A₅ is phenylalanine, wherein A₆ is tyrosine or a derivative thereof, and wherein A₇ is valine.

In particular embodiments thereof, X is $(\text{CH}_3)_2\text{CHCH}_2\text{CO}$, A₁ is glutamine, glutamic acid or a derivative thereof, A₂ is threonine, A₃ is leucine, A₄ is Ahp, or a derivative thereof, A₅ is phenylalanine, A₆ is tyrosine or a derivative thereof, and A₇ is valine.

In other embodiments thereof, X is $(\text{CH}_3)_2\text{CHCH}_2\text{CO}$, A₁ is glutamine, glutamic acid or a derivative thereof, A₂ is threonine, A₃ is leucine, A₄ is proline, or a derivative thereof, A₅ is phenylalanine, A₆ is tyrosine or a derivative thereof, and A₇ is valine. In these embodiments, the nitrogen atom of the amid bond between A₅ and A₆ can be substituted with a methyl.

In the cyclic depsipeptide, or derivative thereof, of the invention A₁, A₂, A₃, A₅, A₆ and A₇ can be L-amino acids. Moreover, A₄ can be 3S,6R Ahp.

A₅ stands for isoleucine, phenylalanine or valine. A₅ is in particular isoleucine or valine, and preferably isoleucine.

In another embodiment, A₅ may be phenylalanine in particular when A₄ is not Ahp, and the remaining variables are as defined in claim 1.

In another embodiment, A₄ is 5-hydroxyproline and A₅ is isoleucine, and the remaining variables are as defined in claim 1.

In another embodiment, A₄ is Ahp and A₅ is isoleucine, and the remaining variables are as defined in claim 1.

In another embodiment, A₄ is Ahp-I and A₅ is isoleucine, and the remaining variables are as defined in claim 1.

In another embodiment, A4 is Ahp-II and A5 is isoleucine, and the remaining variables are as defined in claim 1.

In another embodiment, A4 is Ahp, A5 and A7 is isoleucine, and the remaining variables are as defined in claim 1.

In another embodiment, A4 is Ahp-I, A5 and A7 is isoleucine, and the remaining variables are as defined in claim 1.

In another embodiment, A4 is Ahp-II, A5 and A7 is isoleucine, and the remaining variables are as defined in claim 1.

In another embodiment, A4 is 5-hydroxyproline, A5 and A7 is isoleucine, and the remaining variables are as defined in claim 1.

As used herein, A1 is a glutamine, glutamic acid, ornithine, or a glutamine derivative such as for example glutamic nitrile, glutamic acid ester such as C₁₋₁₂alkyl ester (e.g. glutamic acid methyl ester) or such as C₆₋₂₄aryl ester (e.g. glutamic acid phenyl or benzyl ester).

The present invention also relates to the use of the above-described depsipeptides, and derivatives thereof, as a medicament. For instance for the treatment of cancer, in particular ovarian cancer, or for the treatment of inflammatory and/or hyperproliferative and pruritic skin diseases such as keloids, hypertrophic scars, acne, atopic dermatitis, psoriasis, Netherton's syndrome or other pruritic dermatoses such as prurigo nodularis, unspecified itch of the elderly as well as other diseases with epithelial barrier dysfunction such as inflammatory bowel disease and Crohn's disease, as well as pancreatitis.

In one embodiment the present invention relates to the use of the above-described depsipeptides, and derivatives thereof, as a medicament for the treatment of inflammatory and/or hyperproliferative and pruritic skin diseases such as keloids, hypertrophic scars, acne, atopic dermatitis, psoriasis, pustular psoriasis, rosacea, Netherton's syndrome or other pruritic dermatoses such as prurigo nodularis, unspecified itch of the elderly as well as other diseases with epithelial barrier dysfunction such as aged skin, inflammatory bowel disease and Crohn's disease, as well as pancreatitis, or of cancer, in particular ovarian cancer.

In another embodiment the present invention relates to the use of the above-described depsipeptides, and derivatives thereof, as a medicament for the treatment of cystic fibrosis (CF), chronic obstructive pulmonary disease (COPD), pulmonary fibrosis, adult respiratory distress syndrome, chronic bronchitis, hereditary emphysema, rheumatoid arthritis, IBD, psoriasis, asthma.

In yet another embodiment the present invention relates to the use of the above-described depsipeptides, and derivatives thereof, as a medicament for the treatment of inflammatory and/or hyperproliferative and pruritic skin diseases such as keloids, hypertrophic scars, acne, atopic dermatitis, psoriasis, pustular psoriasis, rosacea, Netherton's syndrome or other pruritic dermatoses such as prurigo nodularis, unspecified itch of the elderly.

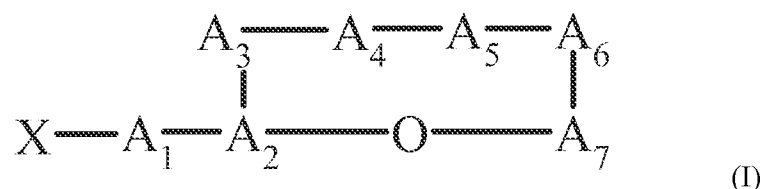
The present invention also encompasses processes for producing the cyclic depsipeptide, or derivative thereof, of the invention, for instance by cultivation of a *Chondromyces* strain, a variant or a mutant thereof, in a suitable medium, and optionally chemical derivation of the so-produced cyclic depsipeptide, or by expression of the biosynthesis genes of a *Chondromyces* strain, a variant or a mutant thereof, in a heterologous microbial host strain, and optionally chemical derivation of the so-produced cyclic depsipeptide.

These processes of the invention can be performed with the strains *Chondromyces crocatus* (DSM 19329) or *Chondromyces robustus* (DSM 19330) or *Chondromyces apiculatus* (DSM 21595).

The present invention hence also relates to isolated *Chondromyces* microorganisms deposited under the accession number DSM 19329 or DSM 19330 or DSM 21595 and to cyclic depsipeptides, or derivative thereof, produced by these isolated *Chondromyces* microorganisms.

The present invention provides:

A cyclic depsipeptide, or a derivative thereof, having the structure of formula (I):



wherein an ester bond is formed between the carboxy group of A7 and the hydroxy group of A2, wherein X and A₁ are each independently optional, and wherein

X is H or an amino group modifying moiety and may be typically selected from an aryl carbonyl residue or from an acyl residue,

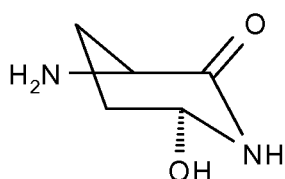
A₁ is glutamine, ornithine, glutamic acid or a derivative thereof;

A₂ is threonine or serine,

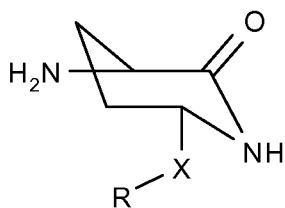
A₃ is leucine,

A₄ is Ahp, 3-amino-piperidine-2-one, dehydro-AHP, Ahp-I, Ahp-II, proline, 5-hydroxy-proline or a derivative thereof, wherein the point of fusion (with A₃ and A₅) are at the nitrogen atom and the carboxyl oxygen (by virtue of the replacement of a hydrogen atom by a bond) of the proline, and 5-hydroxyproline,

wherein Ahp, 3-amino-piperidine-2-one, dehydro-AHP, Ahp-I, and Ahp-II, are as defined below, and wherein the point of fusion (with A₃ and A₅) are at the nitrogen atoms of the said compounds (by virtue of the replacement of a hydrogen atom by a bond):

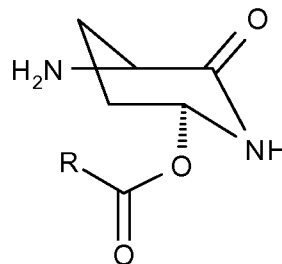


3-amino-6-hydroxy-piperidin-2-one (Ahp)

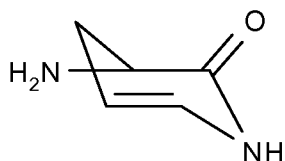


Ahp-I

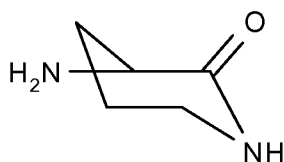
X = O or bond



Ahp-II



3-amino-3,4-dihydro-1H-pyridin-2-one (dehydro-AHP)



3-amino-piperidin-2-one

wherein X is O or a bond, and R is an organic moiety or is a radical as defined in claim 3,

A₅ is isoleucine, phenylalanine or valine,

A₆ is tyrosine, N-Me-tyrosine or a derivative thereof,

A₇ is leucine, isoleucine or valine,

or a pharmaceutically acceptable salt thereof.

The depsipeptide of claim 1 wherein X is $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CO}$, $(\text{CH}_3)_2\text{CHCH}_2\text{CO}$, $(\text{CH}_3)_2\text{CHCO}$, CH_3CO or Phenyl-CO.

The depsipeptide of claim 1 wherein the nitrogen atom of the amid bond between A5 and A6 is substituted with a methyl and the OH group of the tyrosine is OR, wherein R is selected from the group consisting of hydrogen, (C_{1-12}) alkyl, (C_{2-12}) alkenyl, (C_{2-12}) alkynyl, halo (C_{1-12}) alkyl, halo (C_{2-12}) alkenyl, halo (C_{2-12}) alkynyl, (C_{1-12}) alkoxycarbonyl, (C_{1-12}) alkoxy-carbonyl (C_{1-12}) alkyl, (C_{1-12}) alkylaminocarbonyl, unsubstituted or further substituted by aryl, arylalkyl, arylalkenyl or arylalkynyl, heterocyclyl and heterocyclylalkyl.

The depsipeptide of claim 1 wherein A4 is the Ahp derivative 3-amino-piperidin-2-one, Ahp-I or Ahp-II, wherein R is selected from the group consisting of (C_{1-12}) alkyl, (C_{2-12}) alkenyl, (C_{2-12}) alkynyl, halo (C_{1-12}) alkyl, (C_{1-12}) alkoxy (C_{1-12}) alkyl, (C_{1-12}) alkoxy (C_{1-12}) alkoxy (C_{1-12}) alkyl, hydroxy (C_{1-12}) alkyl, phenyl and phenyl (C_{1-6}) alkyl.

The depsipeptide of claim 1 wherein the acyl residue X is $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CO}$ or $(\text{CH}_3)_2\text{CHCO}$,

A₁ is glutamine, glutamic acid, or a derivative thereof,

A₂ is threonine,

A₃ is leucine,

A₄ is Ahp, 3-amino-piperidine-2-one, proline, 5-hydroxy-proline or a derivative thereof,

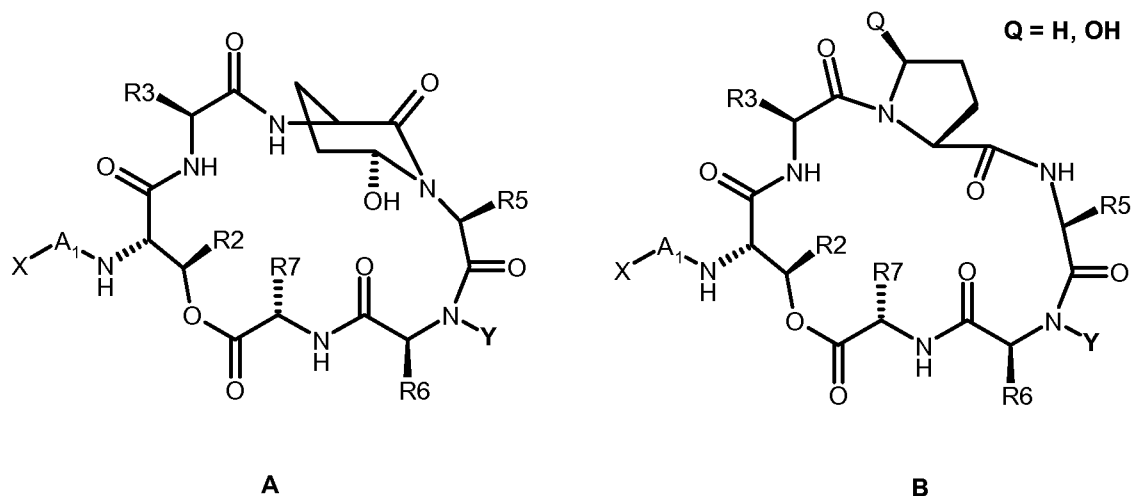
A₅ is isoleucine,

A₆ is tyrosine, N-Me-tyrosine or a derivative thereof,

A₇ is isoleucine or valine, preferably isoleucine.

The depsipeptide of any of the previous claims wherein A₄ is Ahp, Ahp-I, 3-amino-piperidine-2-one, proline, or 5-hydroxy-proline, preferably Ahp, Ahp-I, 3-amino-piperidine-2-one, or 5-hydroxy-proline, also preferably Ahp, Ahp-I or 5-hydroxy-proline, more preferably Ahp.

A depsipeptide of claim 1, which is a compound in accordance to formulae A or B,



wherein X and A₁ are as defined in claim 1, and wherein

R2 the side chain of the amino acid threonine or serine,

R3 the side chain of leucine,

R5 is the side chain of the amino acid isoleucine or valine, in particular R5 stands for isoleucine,

R6 is the side chain of tyrosine optionally derivatized, in particular optionally derivatized on its hydroxyl group as defined in claim 3,

R7 is the side chain of the amino acid leucine, isoleucine or valine, in particular R7 stands for isoleucine,

Y is either hydrogen or a methyl, and Y is in particular methyl.

The cyclic depsipeptide of any of the previous claims wherein A1, A2, A3, A5, A6 and A7 are L-amino acids.

The cyclic depsipeptide of any of the previous claims wherein A4 is 3S,6R Ahp.

The cyclic depsipeptide of any of the previous claims wherein A1 is a glutamine, ornithine, or a glutamine derivative as described in any of the examples of the description, and is for example selected from glutamic nitrile, glutamic acid ester such as C₁₋₁₂alkyl ester (e.g. glutamic acid methyl ester) or such as C₆₋₂₄aryl ester (e.g. glutamic acid phenyl or benzyl ester).

A pharmaceutical composition comprising a cyclic depsipeptide of any of the previous claims in conjunction with a pharmaceutical acceptable carrier and/or ingredient.

The cyclic depsipeptide of any of the previous claims for use as a medicament, in particular for use as described in the methods for treating a patient, such as claims 13 - 15, and the use of the said depsipeptides in the manufacture of a medicament for the treatment in a disease or disorder as described in the said method claims.

A method of treating a subject suffering from inflammatory and/or hyperproliferative and pruritic skin diseases such as keloids, hypertrophic scars, acne, atopic dermatitis, psoriasis, pustular psoriasis, rosacea, Netherton's syndrome or other pruritic dermatoses such as prurigo nodularis, unspecified itch of the elderly as well as other diseases with epithelial barrier dysfunction such as aged skin, inflammatory bowel disease and Crohn's disease, as well as pancreatitis, or of cancer, in particular ovarian cancer, cystic fibrosis (CF), chronic obstructive pulmonary disease (COPD), pulmonary fibrosis, adult respiratory distress syndrome, chronic bronchitis, hereditary emphysema, rheumatoid arthritis, IBD, psoriasis, asthma, comprising administering to said subject a therapeutically effective amount of a cyclic depsipeptide, or derivative thereof, of any of claims 1 - 10.

A method of treating a subject according to claim 13, wherein the subject suffers from keloids, hypertrophic scars, acne, atopic dermatitis, psoriasis, pustular psoriasis, rosacea, Netherton's syndrome or other pruritic dermatoses such as prurigo nodularis, unspecified itch of the elderly as well as other diseases with epithelial barrier dysfunction such as aged skin, inflammatory bowel disease and Crohn's disease, as well as pancreatitis, or of cancer, in particular ovarian cancer.

A method of treating a subject according to claim 14, wherein the subject suffers from keloids, hypertrophic scars, acne, atopic dermatitis, psoriasis, pustular psoriasis, rosacea, Netherton's syndrome or other pruritic dermatoses such as prurigo nodularis, unspecified itch of the elderly as well as other diseases with epithelial barrier dysfunction such as aged skin.

A method of treating a subject according to claim 13, wherein the subject suffers from cystic fibrosis (CF), chronic obstructive pulmonary disease (COPD), pulmonary fibrosis, adult respiratory distress syndrome, chronic bronchitis, hereditary emphysema, rheumatoid arthritis, IBD, psoriasis, asthma.

A process for producing the cyclic depsipeptide, or derivative thereof, of any of claims 1-10 comprising cultivation of a *Chondromyces* strain, a variant or a mutant thereof, in a suitable medium, and optionally chemical derivation of the so-produced cyclic depsipeptide.

A process for producing the cyclic depsipeptide, or derivative thereof, of any of claims 1-10 comprising expressing the biosynthesis genes of a *Chondromyces* strain, a variant or a mutant thereof, in a heterologous microbial host strain, and optionally chemical derivation of the so-produced cyclic depsipeptide.

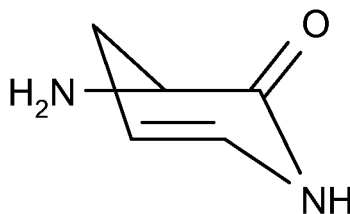
The process of claims 17 or 18 wherein the strain is *Chondromyces crocatus* (DSM 19329) or *Chondromyces robustus* (DSM 19330) or *Chondromyces apiculatus* (DSM 21595).

An isolated *Chondromyces* microorganism producing the cyclic depsipeptide, or derivative thereof, of any of claims 1-10, deposited under the accession number DSM 19329 or DSM 19330 or DSM 21595.

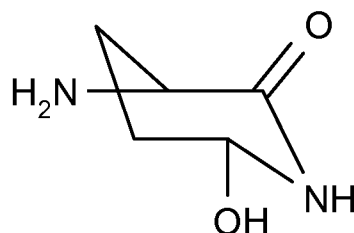
A cyclic depsipeptide, or derivative thereof, produced by the isolated *Chondromyces* microorganism of claim 20 or obtained by a process according to claims 17-18.

A process for the preparation of a derivative of a cyclic depsipeptide, or derivative thereof, according to claim 1 which comprises alternatively

a) - the preparation of a derivative of a cyclic depsipeptide, or derivative thereof, according to claim 1 wherein A4 is

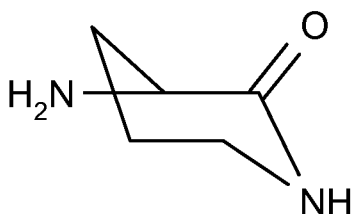


by treatment of a compound wherein A4 is

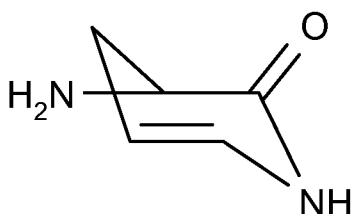


with an organic or inorganic acid, or a Lewis acid at a temperature between -78 °C and 150 °C;

b) - the preparation of a derivative of a cyclic depsipeptide, or derivative thereof, according to claim 1 wherein A4 is

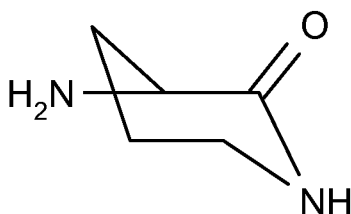


by treatment of a compound wherein A4 is

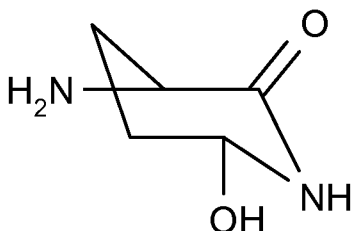


with molecular hydrogen or source thereof in presence of a catalyst in a solvent at a temperature between -50 and 100 °C;

c) - the preparation of a derivative of a cyclic depsipeptide, or derivative thereof, according to claim 1 wherein A4 is

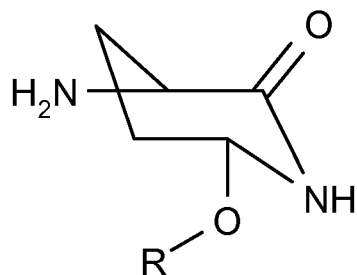


by treatment of a compound wherein A4 is

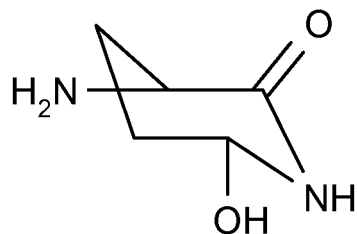


with an organic or inorganic acid or a Lewis acid, in presence of an reducing agent at a temperature between -78 °C and 150 °C; or

d) - the preparation of a derivative of a cyclic depsipeptide, or derivative thereof, according to claim 1 wherein A4 is

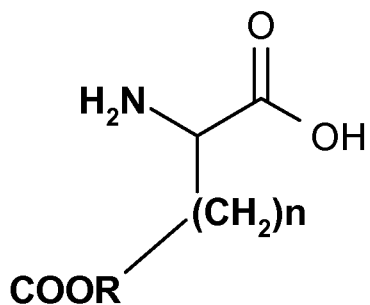


by treatment of a compound wherein A4 is

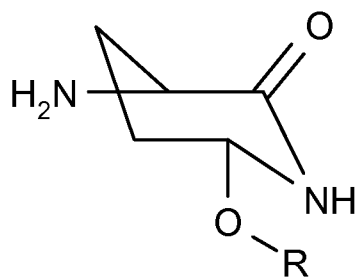


with a substituted or unsubstituted alkanol and an organic or inorganic acid, or a Lewis acid, at a temperature between -78 °C and 150 °C;

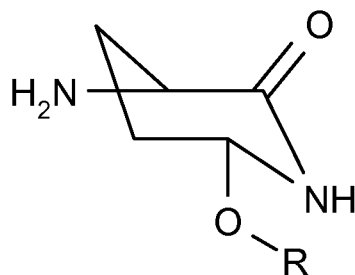
e) - the preparation of compounds wherein A1 is



wherein $n = 1, 2$ and A4 is

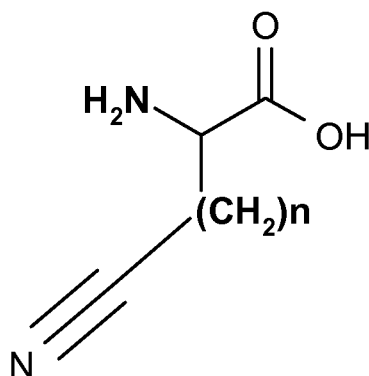


wherein R preferentially is H, alkyl, substituted alkyl, by treatment of a compound wherein A1 is Gln or Asn and A4 is

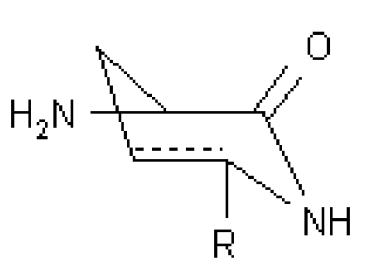


wherein R preferably is H, alkyl, substituted alkyl, with an substituted or unsubstituted alkanol and an organic or inorganic acid or a Lewis acid in a solvent or without a solvent at a temperature between -78 °C and 150 °C;

f) - the preparation of compounds wherein A1 is



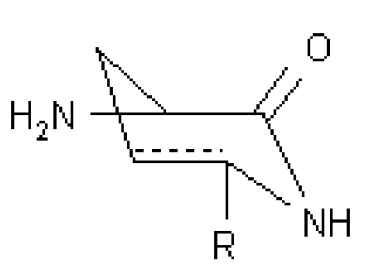
wherein R preferably is H, OH, O-alkyl, substituted O-alkyl, O-acyl, by treatment of a compound wherein A1 is Gln or Asn and A4 is



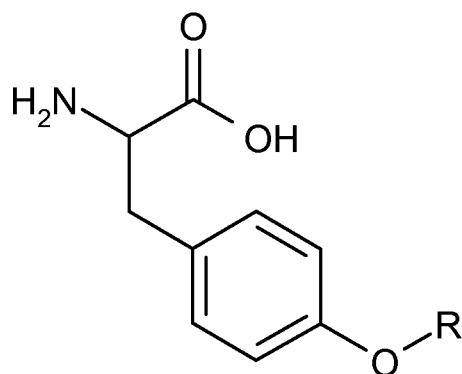
with an dehydrating agent in a solvent or without a solvent at a temperature between -78 °C and 150 °C;

g) - the preparation of compounds wherein A4 is

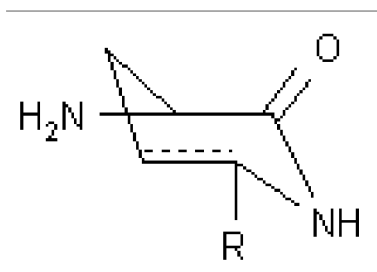
24



and A6 is



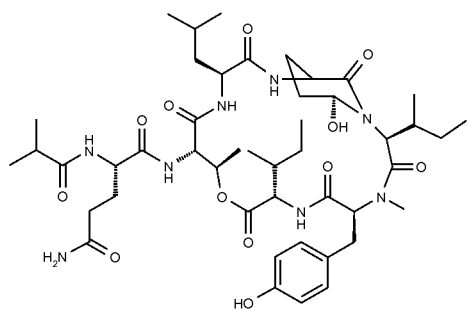
wherein R preferably is alkyl, substituted alkyl, acyl, alkoxycarbonyl by treatment of a compound wherein A4 is



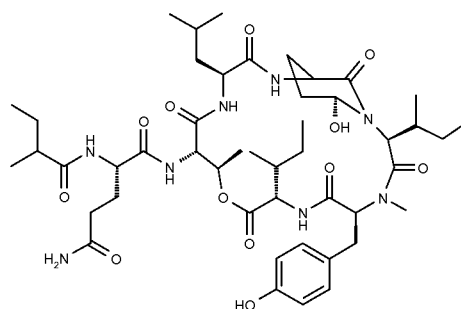
and A6 is Tyr, with an alkylating agent or an acylating agent in a solvent or without a solvent at a temperature between -78 °C and 150°C.

A cyclic depsipeptide, or a derivative thereof, or a pharmaceutically acceptable salt thereof, in particular and essentially as described in the description and/or the working examples.

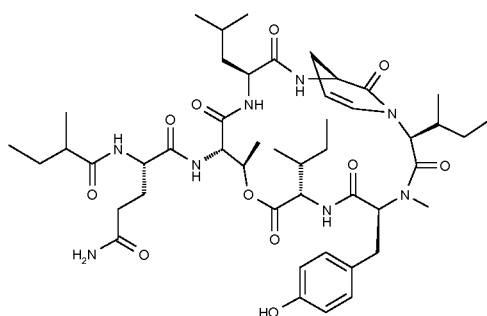
Specific embodiments of cyclic depsipeptides of the invention are:



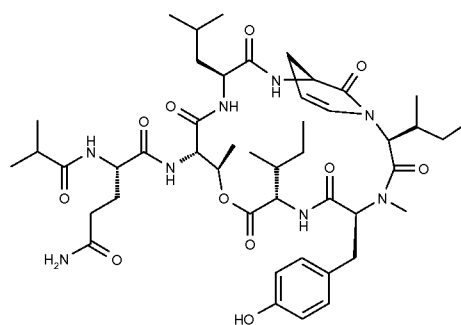
Formula (II)



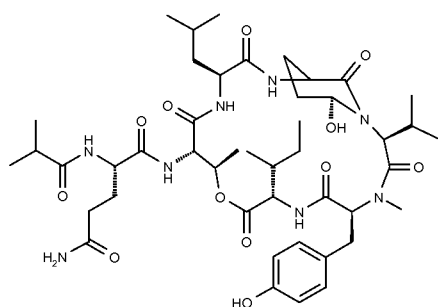
Formula (III)



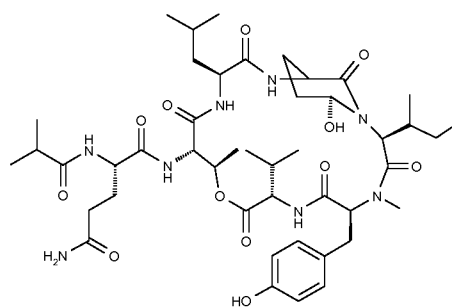
Formula (IV)



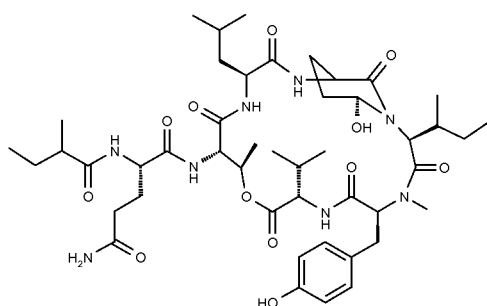
Formula (V)



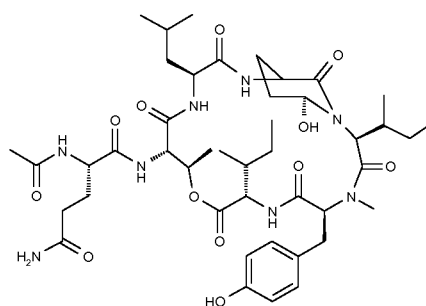
Formula (VI)



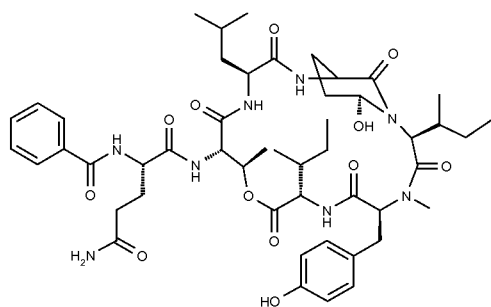
Formula (VII)



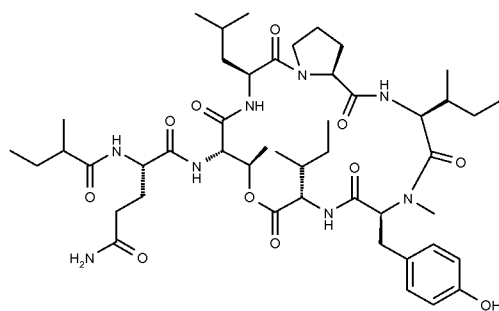
Formula (XI)



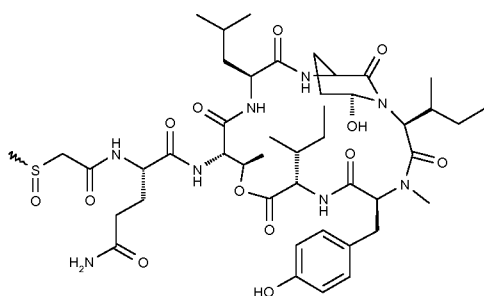
Formula (XII)



Formula (XIII)



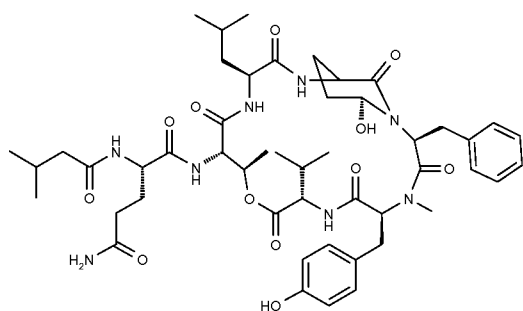
Formula (XIV)



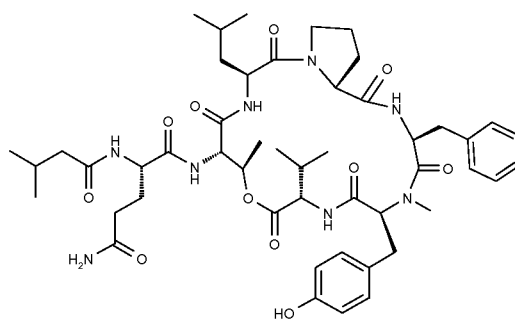
Formula (XVII)

The cyclic depsipeptides of formula (II)-(VII), (XI)-(XIV) and (XVII) can be produced by the *Chondromyces crocatus* strain of the invention (DSM 19329).

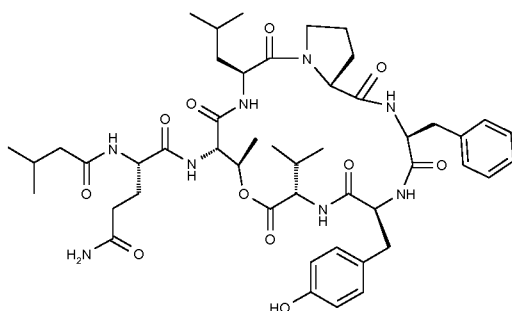
Other specific embodiments of cyclic depsipeptides of the invention are:



Formula (VIII)



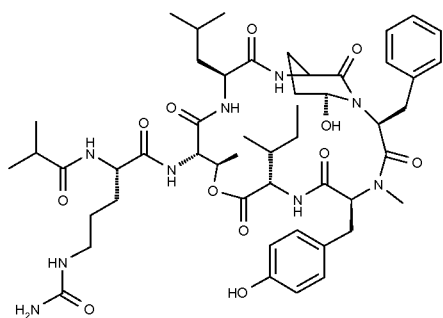
Formula (IX)



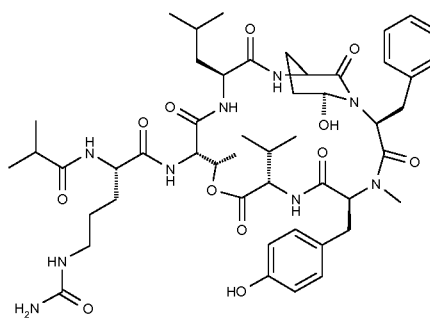
Formula (X)

The cyclic depsipeptides of formula (VIII)-(X) can be produced by the *Chondromyces robustus* of the invention (DSM 19330).

Other specific embodiments of cyclic depsipeptides of the invention are:



Formula (XV)



Formula (XVI)

The cyclic depsipeptides of formula (XV)-(XVI) can be produced by the *Chondromyces apiculatus* of the invention (DSM 21595).

List of abbreviations

Ahp	3-amino-6-hydroxy-2-piperidone
DSMZ	Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen GmbH
hK7	Human kallikrein 7
HPLC	High performance/pressure liquid chromatography

HTS	High Throughput Screening
IC	Intermediary culture
ID	Identification
MB	Myxobacteria
MC	Main-culture
PC	Pre-culture
pO₂	Partial pressure of oxygen in culture broth (100% = saturation with air)
rpm	Rotations per minute
SCCE	Stratum corneum chymotryptic enzyme
SPEX	Solid phase extraction
vvm	Aeration rate (<u>V</u> olume of air per culture <u>v</u> olume and per <u>m</u> inute)

A "chemical residue" can be any organic or anorganic chemical moiety. The expression "chemical residue" includes, but is not limited to substituted or unsubstituted aliphatic group, e.g. C₁-C₃ alkyl, C₁-C₆ alkyl, or C₁-C₁₂ alkyl, substituted or unsubstituted aryl, substituted or unsubstituted arylalkyl, substituted or unsubstituted heteroaryl, or halogen. For instance, a chemical residue as defined in the claims can be any of the chemical groups described herein-below.

The expression "chemical residue" includes, but is not limited to amino acids, peptides, polypeptides, proteins and the like.

Examples of anorganic chemical moiety are for instance halogens, such as Br or Cl.

An "aliphatic group" is non-aromatic moiety that may contain any combination of carbon atoms, hydrogen atoms, halogen atoms, oxygen, nitrogen or other atoms, and optionally contain one or more units of unsaturation, e.g., double and/or triple bonds. An aliphatic group may be straight chained, branched or cyclic and preferably contains between about 1 and about 24 carbon atoms, more typically between about 1 and about 12 carbon atoms. In addition to aliphatic hydrocarbon groups, aliphatic groups include, for example, polyalkoxyalkyls, such as polyalkylene glycols, polyamines, and polyimines, for example. Such aliphatic groups may be further substituted.

The terms "C₁-C₃ alkyl", "C₁-C₆ alkyl," or "C₁-C₁₂ alkyl," as used herein, refer to saturated, straight- or branched-chain hydrocarbon radicals containing between one and three, one and twelve, or one and six carbon atoms, respectively. Examples of C₁-C₃ alkyl radicals include methyl, ethyl, propyl and isopropyl radicals; examples of C₁-C₆ alkyl radicals include, but are not limited to, methyl, ethyl, propyl, isopropyl, n-butyl, tert-butyl, sec-butyl, n-pentyl, neopentyl and n-hexyl radicals; and examples of C₁-C₁₂ alkyl radicals include, but are not limited to, ethyl, propyl, isopropyl, hexyl, heptyl, octyl, nonyl, decyl, undecyl, dodecyl radicals and the like.

The term "substituted alkyl," as used herein, refers to an alkyl, such as a C₁-C₁₂ alkyl or C₁-C₆ alkyl group, substituted by one, two, three or more aliphatic substituents.

Suitable aliphatic substituents include, but are not limited to, --F, --Cl, --Br, --I, --OH, protected hydroxy, aliphatic ethers, aromatic ethers, oxo, --NO₂, --CN, --C₁-C₁₂-alkyl optionally substituted with halogen (such as perhaloalkyls), C₂-C₁₂-alkenyl optionally substituted with halogen, --C₂-C₁₂-alkynyl optionally substituted with halogen, --NH₂, protected amino, --NH--C₁-C₁₂-alkyl, --NH--C₂-C₁₂-alkenyl, --NH--C₂-C₁₂-alkynyl, --NH--C₃-C₁₂-cycloalkyl, --NH-aryl, --NH-heteroaryl, --NH-heterocycloalkyl, -dialkylamino, -diarylamino, -diheteroarylamino, --O--C₁-C₁₂-alkyl, --O--C₂-C₁₂-alkenyl, --O--C₂-C₁₂-alkynyl, --O--C₃-C₁₂-cycloalkyl, --O-aryl, --O-heteroaryl, --O-heterocycloalkyl, --C(O)--C₁-C₁₂-alkyl, --C(O)--C₂-C₁₂-alkenyl, --C(O)--C₂-C₁₂-alkynyl, --C(O)--C₃-C₁₂-cycloalkyl, --C(O)-aryl, --C(O)-heteroaryl, --C(O)-heterocycloalkyl, --CONH₂, --CONH--C₁-C₁₂-alkyl, --CONH--C₂-C₁₂-alkenyl, --CONH--C₂-C₁₂-alkynyl, --CONH--C₃-C₁₂-cycloalkyl, --CONH-aryl, --CONH-heteroaryl, --CONH-heterocycloalkyl, --CO₂--C₁-C₁₂-alkyl, --CO₂--C₂-C₁₂-alkenyl, --CO₂--C₂-C₁₂-alkynyl, --CO₂--C₃-C₁₂-cycloalkyl, --CO₂-aryl, --CO₂-heteroaryl, --CO₂-heterocycloalkyl, --OCO₂--C₁-C₁₂-alkyl, --OCO₂--C₂-C₁₂-alkenyl, --OCO₂--C₂-C₁₂-alkynyl, --OCO₂--C₃-C₁₂-cycloalkyl, --OCO₂-aryl, --OCO₂-heteroaryl, --OCO₂-heterocycloalkyl, --OCONH₂, --OCONH--C₁-C₁₂-alkyl, --OCONH--C₂-C₁₂-alkenyl, --OCONH--C₂-C₁₂-alkynyl, --OCONH--C₃-C₁₂-cycloalkyl, --OCONH-aryl, --OCONH-heteroaryl, --OCONH-heterocycloalkyl, --NHC(O)--C₁-C₁₂-alkyl, --NHC(O)--C₂-C₁₂-alkenyl, --NHC(O)--C₂-C₁₂-alkynyl, --NHC(O)--C₃-C₁₂-cycloalkyl, --NHC(O)-aryl, --NHC(O)-heteroaryl, --NHC(O)-heterocycloalkyl, --NHCO₂--C₁-C₁₂-alkyl, --NHCO₂--C₂-C₁₂-alkenyl, --NHCO₂--C₂-C₁₂-alkynyl, --NHCO₂--C₃-C₁₂-cycloalkyl, --NHCO₂-aryl, --NHCO₂-heteroaryl, --NHCO₂-heterocycloalkyl, --NHC(O)NH₂, NHC(O)NH--C₁-C₁₂-alkyl, --NHC(O)NH--C₂-C₁₂-alkenyl, --NHC(O)NH--C₂-C₁₂-alkynyl, --NHC(O)NH--C₃-C₁₂-cycloalkyl, --NHC(O)NH-aryl, --NHC(O)NH-heteroaryl, --NHC(O)NH-heterocycloalkyl, NHC(S)NR₂, NHC(S)NH--C₁-C₁₂-alkyl, --NHC(S)NH--C₂-C₁₂-alkenyl, --NHC(S)NH--C₂-C₁₂-alkynyl, --NHC(S)NH--C₃-C₁₂-cycloalkyl, --NHC(S)NH-aryl, --NHC(S)NR-heteroaryl, --NHC(S)NH-heterocycloalkyl, --NHC(NH)NH₂,

NHC(NH)NH--C₁-C₁₂-alkyl,--NHC(NH)NH--C₂-C₁₂-alkenyl,--NHC(NH)NH--C₂-C₁₂-alkynyl,--NHC(NH)NH--C₃-C₁₂-cycloalkyl,--NHC(NH)NH-aryl,--NHC(NH)NH-heteroaryl,--NHC(NH)NH-heterocycloalkyl, NHC(NH)--C₁-C₁₂-alkyl,--NHC(NH)--C₂-C₁₂-alkenyl,--NHC(NH)--C₂-C₁₂-alkynyl,--NHC(NH)--C₃-C₁₂-cycloalkyl,--NHC(NH)-aryl,--NHC(NH)-heteroaryl,--NHC(NH)-heterocycloalkyl, --C(NR)NH--C₁-C₁₂-alkyl,--C(NH)NH--C₂-C₁₂-alkenyl,--C(NR)NH--C₂-C₁₂-alkynyl,--C(NH)NH--C₃-C₁₂-cycloalkyl,--C(NH)NH-aryl,--C(NH)NH-heteroaryl,--C(NH)NH-heterocycloalkyl,--S(O)--C₁-C₁₂-alkyl,--S(O)--C₂-C₁₂-alkenyl,--S(O)--C₂-C₁₂-alkynyl,--S(O)--C₃-C₁₂-cycloalkyl,--S(O)-aryl,--S(O)-heteroaryl,--S(O)-heterocycloalkyl-SO₂NH₂,--SO₂NH--C₁-C₁₂-alkyl,--SO₂NH--C₂-C₁₂-alkenyl,--SO₂NH--C₂-C₁₂-alkynyl,--SO₂NH--C₃-C₁₂-cycloalkyl,--SO₂NH-aryl,--SO₂NH-heteroaryl,--SO₂NH-heterocycloalkyl,--NHSO₂--C₁-C₁₂-alkyl,--NHSO₂--C₂-C₁₂-alkenyl,--NHSO₂--C₂-C₁₂-alkynyl,--NHSO₂--C₃-C₁₂-cycloalkyl,--NHSO₂-aryl,--NHSO₂-heteroaryl,--NHSO₂-heterocycloalkyl,--CH₂NH₂,--CH₂SO₂CH₃,-aryl,-arylalkyl,-heteroaryl,-heteroarylalkyl,-heterocycloalkyl,--C₃-C₁₂-cycloalkyl, polyalkoxyalkyl, polyalkoxy,-methoxymethoxy,-methoxyethoxy,--SH,--S--C₁-C₁₂-alkyl,--S--C₂-C₁₂-alkenyl,--S--C₂-C₁₂-alkynyl,--S--C₃-C₁₂-cycloalkyl,--S-aryl,--S-heteroaryl,-S-heterocycloalkyl, or methylthiomethyl. It is understood that the aryls, heteroaryls, alkyls and the like can be further substituted.

The terms "C₂-C₁₂ alkenyl" or "C₂-C₆ alkenyl," as used herein, denote a monovalent group derived from a hydrocarbon moiety containing from two to twelve or two to six carbon atoms having at least one carbon-carbon double bond by the removal of a single hydrogen atom. Alkenyl groups include, but are not limited to, for example, ethenyl, propenyl, butenyl, 1-methyl-2-buten-1-yl, alkadienes and the like.

The term "substituted alkenyl," as used herein, refers to a "C₂-C₁₂ alkenyl" or "C₂-C₆ alkenyl" group as previously defined, substituted by one, two, three or more aliphatic substituents.

The terms "C₂-C₁₂ alkynyl" or "C₂-C₆ alkynyl," as used herein, denote a monovalent group derived from a hydrocarbon moiety containing from two to twelve or two to six carbon atoms having at least one carbon-carbon triple bond by the removal of a single hydrogen atom. Representative alkynyl groups include, but are not limited to, for example, ethynyl, 1-propynyl, 1-butylnyl, and the like.

The term "substituted alkynyl," as used herein, refers to a "C₂-C₁₂ alkynyl" or "C₂-C₆ alkynyl" group as previously defined, substituted by one, two, three or more aliphatic substituents.

The term "C₁-C₆ alkoxy," as used herein, refers to a C₁-C₆ alkyl group, as previously defined, attached to the parent molecular moiety through an oxygen atom. Examples of C₁-C₆-alkoxy include, but are not limited to, methoxy, ethoxy, propoxy, isopropoxy, n-butoxy, sec-butoxy, tert-butoxy, n-pentoxy, neopentoxy and n-hexoxy.

The terms "halo" and "halogen," as used herein, refer to an atom selected from fluorine, chlorine, bromine and iodine.

The term "aryl," as used herein, refers to a mono-or bicyclic carbocyclic ring system having one or two aromatic rings including, but not limited to, phenyl, naphthyl, tetrahydronaphthyl, indanyl, idenyl and the like.

The term "substituted aryl," as used herein, refers to an aryl group, as previously defined, substituted by one, two, three or more aromatic substituents.

Aromatic substituents include, but are not limited to, --F, --Cl, --Br, --I, --OH, protected hydroxy, aliphatic ethers, aromatic ethers, oxo, --NO₂, --CN, --C₁-C₁₂-alkyl optionally substituted with halogen (such as perhaloalkyls), C₂-C₁₂-alkenyl optionally substituted with halogen, --C₂-C₁₂-alkynyl optionally substituted with halogen, --NH₂, protected amino, --NH--C₁-C₁₂-alkyl, --NH--C₂-C₁₂-alkenyl, --NH--C₂-C₁₂-alkynyl, --NH--C₃-C₁₂-cycloalkyl, --NH-aryl, --NH-heteroaryl, --NH-heterocycloalkyl, -dialkylamino, -diarylamino, -diheteroarylamino, --O--C₁-C₁₂-alkyl, --O--C₂-C₁₂-alkenyl, --O--C₂-C₁₂-alkynyl, --O--C₃-C₁₂-cycloalkyl, --O-aryl, --O-heteroaryl, --O-heterocycloalkyl, --C(O)--C₁-C₁₂-alkyl, --C(O)--C₂-C₁₂-alkenyl, --C(O)--C₂-C₁₂-alkynyl, --C(O)--C₃-C₁₂-cycloalkyl, --C(O)-aryl, --C(O)-heteroaryl, --C(O)-heterocycloalkyl, --CONH₂, --CONH--C₁-C₁₂-alkyl, --CONH--C₂-C₁₂-alkenyl, --CONH--C₂-C₁₂-alkynyl, --CONH--C₃-C₁₂-cycloalkyl, --CONH-aryl, --CONH-heteroaryl, --CONH-heterocycloalkyl, --CO₂--C₁-C₁₂-alkyl, --CO₂--C₂-C₁₂-alkenyl, --CO₂--C₂-C₁₂-alkynyl, --CO₂--C₃-C₁₂-cycloalkyl, --CO₂-aryl, --CO₂-heteroaryl, --CO₂-heterocycloalkyl, --OCO₂--C₁-C₁₂-alkyl, --OCO₂--C₂-C₁₂-alkenyl, --OCO₂--C₂-C₁₂-alkynyl, --OCO₂--C₃-C₁₂-cycloalkyl, --OCO₂-aryl, --OCO₂-heteroaryl, --OCO₂-heterocycloalkyl, --OCONH₂, --OCONH--C₁-C₁₂-alkyl, --OCONH--C₂-C₁₂-alkenyl, --OCONH--C₂-C₁₂-alkynyl, --OCONH--C₃-C₁₂-cycloalkyl, --OCONH-aryl, --OCONH-heteroaryl, --OCONH-heterocycloalkyl, --NHC(O)--C₁-C₁₂-alkyl, --NHC(O)--C₂-C₁₂-alkenyl, --NHC(O)--C₂-C₁₂-alkynyl, --NHC(O)--C₃-C₁₂-cycloalkyl, --NHC(O)-aryl, --NHC(O)-heteroaryl, --NHC(O)-heterocycloalkyl, --NHCO₂--C₁-C₁₂-alkyl, --NHCO₂--C₂-C₁₂-alkenyl, --NHCO₂--C₂-C₁₂-alkynyl, --NHCO₂--C₃-C₁₂-cycloalkyl, --NHCO₂-aryl, --NHCO₂-heteroaryl, --NHCO₂-heterocycloalkyl, --NHC(O)NH₂, NHC(O)NH--C₁-C₁₂-alkyl, --NHC(O)NH--C₂-C₁₂-

alkenyl,--NHC(O)NH--C₂-C₁₂-alkynyl,--NHC(O)NH--C₃-C₁₂-cycloalkyl,--NHC(O)NH-aryl,--NHC(O)NH-heteroaryl,--NHC(O)NH-heterocycloalkyl, NHC(S)NH₂, NHC(S)NH--C₁-C₁₂-alkyl,--NHC(S)NH--C₂-C₁₂-alkenyl,--NHC(S)NH--C₂-C₁₂-alkynyl,--NHC(S)NH--C₃-C₁₂-cycloalkyl,--NHC(S)NH-aryl,--NHC(S)NH-heteroaryl,--NHC(S)NH-heterocycloalkyl,--NHC(NH)NH₂, NHC(NH)NH--C₁-C₁₂-alkyl,--NHC(NH)NH--C₂-C₁₂-alkenyl,--NHC(NH)NH--C₂-C₁₂-alkynyl,--NHC(NH)NH--C₃-C₁₂-cycloalkyl,--NHC(NH)NH-aryl,--NHC(NH)NH-heteroaryl,--NHC(NH)NH-heterocycloalkyl, NHC(NH)--C₁-C₁₂-alkyl,--NHC(NH)--C₂-C₁₂-alkenyl,--NHC(NH)--C₂-C₁₂-alkynyl,--NHC(NH)--C₃-C₁₂-cycloalkyl,--NHC(NH)-aryl,--NHC(NH)-heteroaryl,--NHC(NH)-heterocycloalkyl, --C(NH)NH--C₁-C₁₂-alkyl,--C(NH)NH--C₂-C₁₂-alkenyl,--C(NH)NH--C₂-C₁₂-alkynyl,--C(NH)NH--C₃-C₁₂-cycloalkyl,--C(NH)NH-aryl,--C(NH)NH-heteroaryl,--C(NH)NH-heterocycloalkyl,--S(O)--C₁-C₁₂-alkyl,--S(O)--C₂-C₁₂-alkenyl,--S(O)--C₂-C₁₂-alkynyl,--S(O)--C₃-C₁₂-cycloalkyl,--S(O)-aryl,--S(O)-heteroaryl,--S(O)-heterocycloalkyl-SO₂NH₂,--SO₂NH--C₁-C₁₂-alkyl,--SO₂NH--C₂-C₁₂-alkenyl,--SO₂NH--C₂-C₁₂-alkynyl,--SO₂NH--C₃-C₁₂-cycloalkyl,--SO₂NH-aryl,--SO₂NH-heteroaryl,--SO₂NH-heterocycloalkyl,--NHSO₂--C₁-C₁₂-alkyl,--NHSO₂--C₂-C₁₂-alkenyl,--NHSO₂--C₂-C₁₂-alkynyl,--NHSO₂--C₃-C₁₂-cycloalkyl,--NHSO₂-aryl,--NHSO₂-heteroaryl,--NHSO₂-heterocycloalkyl,--CH₂NH₂,--CH₂SO₂CH₃,--aryl,--arylalkyl,--heteroaryl,--heteroarylalkyl,--heterocycloalkyl,--C₃-C₁₂-cycloalkyl, polyalkoxyalkyl, polyalkoxy,--methoxymethoxy,--methoxyethoxy,--SH,--S--C₁-C₁₂-alkyl,--S--C₂-C₁₂-alkenyl,--S--C₂-C₁₂-alkynyl,--S--C₃-C₁₂-cycloalkyl,--S-aryl,--S-heteroaryl,--S-heterocycloalkyl, or methylthiomethyl. It is understood that the aryls, heteroaryls, alkyls and the like can be further substituted.

The term "arylalkyl," as used herein, refers to an aryl group attached to the parent compound via a C₁-C₃ alkyl or C₁-C₆ alkyl residue. Examples include, but are not limited to, benzyl, phenethyl and the like.

The term "substituted arylalkyl," as used herein, refers to an arylalkyl group, as previously defined, substituted by one, two, three or more aromatic substituents.

The term "heteroaryl," as used herein, refers to a mono-, bi-, or tri-cyclic aromatic radical or ring having from five to ten ring atoms of which at least one ring atom is selected from S, O and N; zero, one or two ring atoms are additional heteroatoms independently selected from S, O and N; and the remaining ring atoms are carbon, wherein any N or S contained within the ring may be optionally oxidized. Heteroaryl includes, but is not limited to, pyridinyl, pyrazinyl, pyrimidinyl, pyrrolyl, pyrazolyl, imidazolyl, thiazolyl, oxazolyl, isooxazolyl, thiadiazolyl, oxadiazolyl, thiophenyl,

furanyl, quinolinyl, isoquinolinyl, benzimidazolyl, benzooxazolyl, quinoxaliny, and the like. The heteroaromatic ring may be bonded to the chemical structure through a carbon or hetero atom.

The term "substituted heteroaryl," as used herein, refers to a heteroaryl group as previously defined, substituted by one, two, three or four aromatic substituents.

The term "C₃-C₁₂-cycloalkyl," as used herein, denotes a monovalent group derived from a monocyclic or bicyclic saturated carbocyclic ring compound by the removal of a single hydrogen atom. Examples include, but not limited to, cyclopropyl, cyclobutyl, cyclopentyl, cyclohexyl, bicyclo[2.2.1]heptyl, and bicyclo[2.2.2]octyl.

The term "substituted C₃-C₁₂-cycloalkyl," as used herein, refers to a C₃-C₁₂-cycloalkyl group as previously defined, substituted by one, two, three or more aliphatic substituents.

The term "heterocycloalkyl," as used herein, refers to a non-aromatic 5-, 6- or 7-membered ring or a bi- or tri-cyclic group fused system, where (i) each ring contains between one and three heteroatoms independently selected from oxygen, sulfur and nitrogen, (ii) each 5-membered ring has 0 to 1 double bonds and each 6-membered ring has 0 to 2 double bonds, (iii) the nitrogen and sulfur heteroatoms may optionally be oxidized, (iv) the nitrogen heteroatom may optionally be quaternized, (v) any of the above rings may be fused to a benzene ring, and (vi) the remaining ring atoms are carbon atoms which may be optionally oxo-substituted. Representative heterocycloalkyl groups include, but are not limited to, [1,3]dioxolane, pyrrolidinyl, pyrazolinyl, pyrazolidinyl, imidazolinyl, imidazolidinyl, piperidinyl, piperazinyl, oxazolidinyl, isoxazolidinyl, morpholinyl, thiazolidinyl, isothiazolidinyl, quinoxaliny, pyridazinonyl, and tetrahydrofuryl.

The term "substituted heterocycloalkyl," as used herein, refers to a heterocycloalkyl group, as previously defined, substituted by one, two, three or more aliphatic substituents.

The term "heteroarylalkyl," as used herein, to an heteroaryl group attached to the parent compound via a C₁-C₃ alkyl or C₁-C₆ alkyl residue. Examples include, but are not limited to, pyridinylmethyl, pyrimidinylethyl and the like.

The term "substituted heteroarylalkyl," as used herein, refers to a heteroarylalkyl group, as previously defined, substituted by independent replacement of one, two, or three or more aromatic substituents.

The term "C₁-C₃-alkylamino," as used herein, refers to one or two C₁-C₃-alkyl groups, as previously defined, attached to the parent molecular moiety through a nitrogen atom. Examples of C₁-C₃-alkylamino include, but are not limited to, methylamino, dimethylamino, ethylamino, diethylamino, and propylamino.

The term "alkylamino" refers to a group having the structure--NH(C₁-C₁₂ alkyl) where C₁-C₁₂ alkyl is as previously defined.

The term "dialkylamino" refers to a group having the structure--N(C₁-C₁₂ alkyl) (C₁-C₁₂ alkyl), where C₁-C₁₂ alkyl is as previously defined. Examples of dialkylamino are, but not limited to, dimethylamino, diethylamino, methylethylamino, piperidino, and the like.

The term "alkoxycarbonyl" represents an ester group, i.e., an alkoxy group, attached to the parent molecular moiety through a carbonyl group such as methoxycarbonyl, ethoxycarbonyl, and the like.

The term "carboxaldehyde," as used herein, refers to a group of formula--CHO.

The term "carboxy," as used herein, refers to a group of formula--COOH.

The term "carboxamide," as used herein, refers to a group of formula--C(O)NH(C₁-C₁₂ alkyl) or--C(O)N(C₁-C₁₂ alkyl) (C₁-C₁₂ alkyl),--C(O)NH₂, NHC(O)(C₁-C₁₂ alkyl), N(C₁-C₁₂ alkyl)C(O)(C₁-C₁₂ alkyl) and the like.

The term "hydroxy protecting group" as used herein, refers to a labile chemical moiety which is known in the art to protect a hydroxyl group against undesired reactions during synthetic procedures. After said synthetic procedure(s) the hydroxy protecting group as described herein may be selectively removed. Hydroxy protecting groups as known in the art are described generally in T. H. Greene and P. G. M. Wuts, *Protective Groups in Organic Synthesis*, 3rd edition, John Wiley & Sons, New York (1999). Examples of hydroxyl protecting groups include benzyloxycarbonyl, 4-nitrobenzyloxycarbonyl, 4-bromobenzyloxycarbonyl, 4-methoxybenzyloxycarbonyl, methoxycarbonyl, tert-butoxycarbonyl, isopropoxycarbonyl, diphenylmethoxycarbonyl, 2,2,2-trichloroethoxycarbonyl, 2-(trimethylsilyl)ethoxycarbonyl, 2-furfuryloxycarbonyl, allyloxycarbonyl, acetyl, formyl, chloroacetyl, trifluoroacetyl, methoxyacetyl, phenoxyacetyl, benzoyl, methyl, t-butyl, 2,2,2-trichloroethyl, 2-trimethylsilyl ethyl, 1,1-dimethyl-2-propenyl, 3-methyl-3-butenyl, allyl, benzyl, para-methoxybenzyl, diphenylmethyl, triphenylmethyl (trityl),

tetrahydrofuryl, methoxymethyl, methylthiomethyl, benzyloxymethyl, 2,2,2-trichloroethoxymethyl, 2-(trimethylsilyl)ethoxymethyl, methanesulfonyl, para-toluenesulfonyl, trimethylsilyl, triethylsilyl, triisopropylsilyl, and the like. Preferred hydroxyl protecting groups for the present invention are acetyl (Ac or $-\text{C}(\text{O})\text{CH}_3$), benzoyl (Bn or $-\text{C}(\text{O})\text{C}_6\text{H}_5$), and trimethylsilyl (TMS or $-\text{Si}(\text{CH}_3)_3$).

The term "protected hydroxy", as used herein, refers to a hydroxy group protected with a hydroxy protecting group, as defined above, including benzoyl, acetyl, trimethylsilyl, triethylsilyl, methoxymethyl groups, for example.

The term "amino protecting group", as used herein, refers to a labile chemical moiety which is known in the art to protect an amino group against undesired reactions during synthetic procedures. After said synthetic procedure(s) the amino protecting group as described herein may be selectively removed. Amino protecting groups as known in the art are described generally in T. H. Greene and P. G. M. Wuts, *Protective Groups in Organic Synthesis*, 3rd edition, John Wiley & Sons, New York (1999). Examples of amino protecting groups include, but are not limited to, t-butoxycarbonyl, 9-fluorenylmethoxycarbonyl, benzyloxycarbonyl, and the like.

The term "protected amino", as used herein, refers to an amino group protected with an amino protecting group as defined above.

The term "acyl" includes residues derived from acids, including but not limited to carboxylic acids, carbamic acids, carbonic acids, sulfonic acids, and phosphorous acids. Examples include aliphatic carbonyls, aromatic carbonyls, aliphatic sulfonyls, aromatic sulfinyls, aliphatic sulfinyls, aromatic sulfonyls, aliphatic sulfamyls, aromatic sulfamyls, aromatic phosphates and aliphatic phosphates.

An "amino acid" is a molecule that contains both amine and carboxyl functional groups with the general formula $\text{NH}_2\text{CHR}\text{COOH}$. The term amino acid includes standard amino acids and nonstandard amino acids.

"Standard amino acids" are alanine, arginine, asparagine, aspartic acid, cysteine, glutamic acid, glutamine, glycine, histidine, isoleucine, leucine, lysine, methionine, phenylalanine, proline, serine, threonine, tryptophan, tyrosine, and valine.

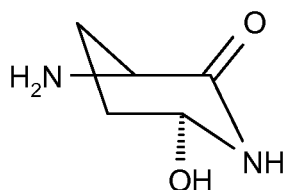
A “standard amino acid which is not aspartic acid” is selected from the group consisting of alanine, arginine, asparagine, cysteine, glutamic acid, glutamine, glycine, histidine, isoleucine, leucine, lysine, methionine, phenylalanine, proline, serine, threonine, tryptophan, tyrosine, and valine. In the case of glutamine or glutamic acid, a “derivative thereof” is e.g. a nitrile or an ester, such as e.g. glutamine-nitrile, glutamic acid ester.

“Nonstandard amino acids” are amino acids (molecules that contains both amine and carboxyl functional groups) which are not one of the standard amino acids. Examples thereof are selenocysteine (incorporated into some proteins at a UGA codon), pyrrolysine (used by some methanogenic bacteria in enzymes to produce methane and coded for with the codon UAG), lanthionine, 2-aminoisobutyric acid, dehydroalanine, 3-amino-6-hydroxy-2-piperidone, gamma-aminobutyric acid, ornithine, citrulline, homocysteine, dopamine or hydroxyproline.

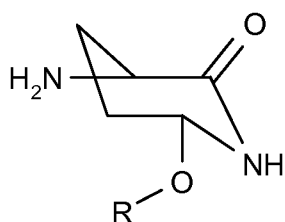
“Non-basic standard amino acids” are alanine, asparagine, aspartic acid, cysteine, glutamic acid, glutamine, glycine, isoleucine, leucine, methionine, phenylalanine, proline, serine, threonine, tryptophan, tyrosine, and valine.

“Ahp” (3-amino-6-hydroxy-piperidin-2-one) is a nonstandard amino acid found for instance in cyanobacteria. “Ahp derivatives” include, but are not limited to 3-amino-3,4-dihydro-1H-pyridin-2-one (dehydro-AHP), 3-amino-piperidin-2-one and “ether and ester derivatives of AHP. Preferred Ahp derivatives are 3-amino-piperidin-2-one, or Ahp-I or Ahp-II as depicted below wherein R is selected from the group consisting of (C₁₋₁₂)alkyl, (C₂₋₁₂)alkenyl, (C₂₋₁₂)alkynyl halo(C₁₋₁₂)alkyl, (C₁₋₁₂)alkoxy(C₁₋₁₂)alkyl, (C₁₋₁₂)alkoxy(C₁₋₁₂)alkoxy(C₁₋₁₂)alkyl, hydroxy(C₁₋₁₂)alkyl, phenyl and phenyl(C₁₋₆)alkyl.

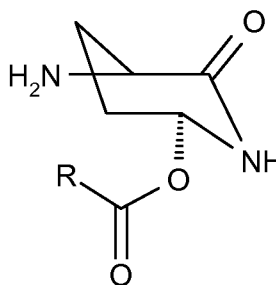
Different members of this family of nonstandard amino acids are:



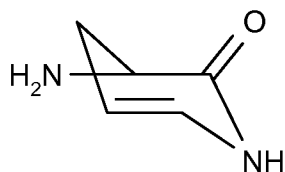
3-amino-6-hydroxy-piperidin-2-one (Ahp)



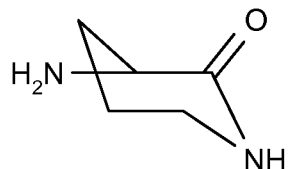
Ahp-I



Ahp-II



3-amino-3,4-dihydro-1H-pyridin-2-one (dehydro-AHP)



3-amino-piperidin-2-one

Proline derivative includes e.g. 5-hydroxyprolin.

“Amino acid derivatives” include, but are not limited to, O-alkyl, O-aryl, O-acyl, S-alkyl, S-aryl, S-S-alkyl, alkoxycarbonyl, O-carbonyl-alkoxy, carbonate, O-carbonyl-aryloxy, O-carbonyl-alkylamino, O-carbonyl-arylamo, N-alkyl, N-dialkyl, N-trialkylammonium, N-acyl, N-carbonyl-alkoxy, N-carbonyl-aryloxy, N-carbonyl-alkylamino, N-carbonyl-arylamo, N-sulfonylalkyl, or N-sulfonylaryl.

“Non-basic standard amino acid derivatives” include, but are not limited to, O-alkyl, O-aryl, O-acyl, S-alkyl, S-aryl, S-S-alkyl, alkoxycarbonyl, O-carbonyl-alkoxy, carbonate, O-carbonyl-aryloxy, O-carbonyl-alkylamino, O-carbonyl-arylamo, N-alkyl, N-dialkyl, N-trialkylammonium, N-acyl, N-

carbonyl-alkoxy, N-carbonyl-aryloxy, N-carbonyl-alkylamino, N-carbonyl-arylamino, N-sulfonylalkyl, or N-sulfonylaryl.

“Tyrosine derivative” include, but are not limited to, -O-alkyl, O-aryl, O-heteroaryl, O-acyl, O-PO₃H and O-SO₃H, as well as halogenation, in ortho or meta position.

The OH group of the tyrosine may be OR, wherein R is selected from the group consisting of hydrogen, (C₁₋₁₂)alkyl, (C₂₋₁₂)alkenyl, (C₂₋₁₂)alkynyl, halo(C₁₋₁₂)alkyl, halo(C₂₋₁₂)alkenyl, halo(C₂₋₁₂)alkynyl, (C₁₋₁₂)alkoxycarbonyl, (C₁₋₁₂)alkoxycarbonyl(C₁₋₁₂)alkyl, (C₁₋₁₂)alkylaminocarbonyl, unsubstituted or further substituted by aryl, arylalkyl, arylalkenyl or arylalkynyl, heterocyclyl and heterocyclylalkyl.

“Depsipeptide derivative” include but are not limited to, depsipeptides modified as described herein and to those specifically described in the examples below. Said derivatives can be prepared using methods well known in the art.

The invention further relates to pharmaceutically acceptable salts and derivatives of the compounds of the present invention and to methods for obtaining such compounds. One method of obtaining the compound is by cultivating a *Chondromyces* strain of the invention, or a mutant or a variant thereof, under suitable conditions, preferably using the fermentation protocol described herein-below.

“Salts” of compounds of the present invention having at least one salt-forming group may be prepared in a manner known per se. For example, salts of compounds of the present invention having acid groups may be formed, for example, by treating the compounds with metal compounds, such as alkali metal salts of suitable organic carboxylic acids, *e.g.*, the sodium salt of 2-ethylhexanoic acid, with organic alkali metal or alkaline earth metal compounds, such as the corresponding hydroxides, carbonates or hydrogen carbonates, such as sodium or potassium hydroxide, carbonate or hydrogen carbonate, with corresponding calcium compounds or with ammonia or a suitable organic amine, stoichiometric amounts or only a small excess of the salt-forming agent preferably being used. Acid addition salts of compounds of the present invention are obtained in customary manner, *e.g.*, by treating the compounds with an acid or a suitable anion exchange reagent. Internal salts of compounds of the present invention containing acid and basic salt-forming groups, *e.g.*, a free carboxy group and a free amino group, may be formed, *e.g.*, by the

neutralisation of salts, such as acid addition salts, to the isoelectric point, *e.g.*, with weak bases, or by treatment with ion exchangers.

Salts can be converted in customary manner into the free compounds; metal and ammonium salts can be converted, for example, by treatment with suitable acids, and acid addition salts, for example, by treatment with a suitable basic agent.

Mixtures of isomers obtainable according to the invention can be separated in a manner known per se into the individual isomers; diastereoisomers can be separated, for example, by partitioning between polyphasic solvent mixtures, recrystallisation and/or chromatographic separation, for example over silica gel or by, *e.g.*, medium pressure liquid chromatography over a reversed phase column, and racemates can be separated, for example, by the formation of salts with optically pure salt-forming reagents and separation of the mixture of diastereoisomers so obtainable, for example by means of fractional crystallisation, or by chromatography over optically active column materials.

Intermediates and final products can be worked up and/or purified according to standard methods, *e.g.*, using chromatographic methods, distribution methods, (re-) crystallization, and the like.

The cyclic depsipeptides of the invention can inhibit of chymotrypsin-like proteases. Examples of chymotrypsin-like proteases are elastases and kallikrein 7. In particular, the cyclic depsipeptides of the invention are excellent inhibitors of kallikrein 7.

An "inhibitor" is a cyclic depsipeptide that inhibits an enzymatic reaction with a measure IC_{50} of less than 100 μM , for instance 50 μM , 30 μM , 20 μM or 10 μM . Particularly preferred are cyclic depsipeptides with an IC_{50} of less than 30 μM for human kallikrein 7, for instance cyclic depsipeptides with an IC_{50} of less than 10 μM , 1 μM , 100 nM, 50 nM, 40 nM, 30 nM, 20 nM, 10 nM, or less. *E.g.* compounds of examples 5, 19 and 33 show IC_{50} values of 0.009 μM , 0.007 μM , 0.005 μM , respectively. IC_{50} for human kallikrein can be measured using the fluorescence-quenched substrate Ac-Glu-Asp(EDANS)-Lys-Pro-Ile-Leu-Phe[^]Arg-Leu-Gly-Lys(DABCYL)-Glu-NH₂ (where [^] indicates the scissile bond, identified by MS analysis) which can be purchased from Biosyntan (Berlin, Germany). Enzymatic reactions are conducted in 50 mM sodium citrate buffer at pH 5.6 containing 150 mM NaCl and 0.05 % (w/v) CHAPS. For the determination of IC_{50} values the assay is performed at room temperature in 384-well plates. All final assay volumes are 30 μl .

Test compounds are dissolved in 90 % (v/v) DMSO/water and diluted in water (containing 0.05 % (w/v) CHAPS) to 3-times the desired assay concentration. The 11 final compound concentrations are: 0.3 nM, 1 nM, 3 nM, 10 nM, 30 nM, 100 nM, 300 nM, 1 μ M, 3 μ M, 10 μ M and 30 μ M. For each assay, 10 μ l water/CHAPS ($\pm$ test compound) are added per well, followed by 10 μ l protease solution (diluted with 1.5x assay buffer). The protease concentration in final assay solution is 0.2 nM (according to the enzyme concentrations determined by the Bradford method). After 1 hour of incubation at room temperature, the reaction is started by addition of 10 μ l substrate solution (substrate dissolved in 1.5x assay buffer, final concentration is 2 μ M). The effect of the compound on the enzymatic activity is obtained from the linear progress curves and determined from two readings, the first one taken directly after the addition of substrate ($t = 0$ min) and the second one after 1 hour ($t = 60$ min). The IC_{50} value is calculated from the plot of percentage of inhibition vs. inhibitor concentration using non-linear regression analysis software (XLfit, Vers. 4.0; ID Business Solution Ltd., Guildford, Surrey, UK).

“Diseases” and “disorders” which may hence be treated or prevented using the cyclic depsipeptides, are diseases known to be related with chymotrypsin-like proteases. More preferred are diseases known to be related to elastases or kallikrein 7 activity. Equally preferred are diseases known to be related to human neutrophil elastase. Diseases and disorders which may hence be treated or prevented using the cyclic depsipeptides of the invention include pain, acute inflammation, chronic inflammation, arthritis, inflamed joints, bursitis, osteoarthritis, rheumatoid arthritis, juvenile rheumatoid arthritis, septic arthritis, fibromyalgia, systemic lupus erythematosus, phlebitis, tendinitis, rash, psoriasis, acne, eczema, facial seborrheic eczema, eczema of the hands, face or neck, foreskin infections, athlete's foot, fistulae infections, infected topical ulcers, navel infections in newborns, wrinkles, scars, keloids, boils, warts and allergic itch, hemorrhoids, wounds, wound infections, wounds from burns, a fungal infection and an immunological disorder including an autoimmune disease. Preferred diseases which may be treated or prevented using the cyclic depsipeptides of the invention include chronic obstructive pulmonary disease (including pulmonary emphysema and chronic bronchitis), chronic and acute interstitial pneumonia, idiopathic interstitial pneumonia (IIP), diffuse panbronchiolitis, cystic lung fibrosis, acute lung injury (ALI)/acute respiratory distress syndrome (ARDS), bronchiectasis, asthma, pancreatitis, nephritis, hepatitis (hepatic failure), chronic rheumatoid arthritis, arthrosclerosis, osteoarthritis, psoriasis, periodontal disease, atherosclerosis, organ transplant rejection, tissue injury caused by ischemia/reperfusion, shock, septicemia, blood coagulopathy including disseminated intravascular coagulation (DIC) and deep vein-thrombosis, conjunctivitis, keratitis, corneal ulcer, Crohn's disease, systemic lupus

erythematosus. More preferred diseases and disorders which may be treated or prevented using the cyclic depsipeptides of the invention are “epithelial dysfunction” or “epithelial disease” including, but are not limited to, inflammatory and/or hyperproliferative and pruritic skin diseases such as keloids, hypertrophic scars, acne, atopic dermatitis, psoriasis, Netherton’s syndrome or other pruritic dermatoses such as prurigo nodularis, unspecified itch of the elderly as well as other diseases with epithelial barrier dysfunction such as inflammatory bowel disease and Crohn’s disease, cystic fibrosis (CF), chronic obstructive pulmonary disease (COPD), pulmonary fibrosis, adult respiratory distress syndrome, chronic bronchitis, hereditary emphysema, rheumatoid arthritis, IBD, psoriasis, asthma. In another preferred embodiment, the cyclic depsipeptides of the invention can be used to treat cancer, in particular ovarian cancer.

Diseases and disorders which may hence be preferably treated or prevented using the cyclic depsipeptides of the invention include inflammatory and/or hyperproliferative and pruritic skin diseases such as keloids, hypertrophic scars, acne, atopic dermatitis, psoriasis, pustular psoriasis, rosacea, Netherton’s syndrome or other pruritic dermatoses such as prurigo nodularis, unspecified itch of the elderly as well as other diseases with epithelial barrier dysfunction such as aged skin, inflammatory bowel disease and Crohn’s disease, as well as pancreatitis, or of cancer, in particular ovarian cancer, cystic fibrosis (CF), chronic obstructive pulmonary disease (COPD), pulmonary fibrosis, adult respiratory distress syndrome, chronic bronchitis, hereditary emphysema, rheumatoid arthritis, IBD, psoriasis, and asthma.

Diseases and disorders which may hence be more preferably treated or prevented using the cyclic depsipeptides of the invention include keloids, hypertrophic scars, acne, atopic dermatitis, psoriasis, pustular psoriasis, rosacea, Netherton’s syndrome or other pruritic dermatoses such as prurigo nodularis, unspecified itch of the elderly as well as other diseases with epithelial barrier dysfunction such as aged skin, inflammatory bowel disease and Crohn’s disease, as well as pancreatitis, or of cancer, in particular ovarian cancer.

Diseases and disorders which may hence be equally preferably treated or prevented using the cyclic depsipeptides of the invention include cystic fibrosis (CF), chronic obstructive pulmonary disease (COPD), pulmonary fibrosis, adult respiratory distress syndrome, chronic bronchitis, hereditary emphysema, rheumatoid arthritis, IBD, psoriasis, asthma.

Diseases and disorders which may be even more preferably treated or prevented using the cyclic depsipeptides of the invention include keloids, hypertrophic scars, acne, atopic dermatitis, psoriasis, pustular psoriasis, rosacea, Netherton's syndrome or other pruritic dermatoses such as prurigo nodularis, unspecified itch of the elderly, as well as other diseases with epithelial barrier dysfunction such as aged skin.

Human kallikrein 7 (hK7) is an enzyme with serine protease activity located in the human skin. It was first described as stratum corneum chymotryptic enzyme (SCCE) and may play a role in desquamation of stratum corneum by cleaving proteins of the stratum corneum (e.g., corneodesmosin and plakoglobin). The stratum corneum is the barrier-forming outermost layer of the epidermis and consists of cornified epithelial cells surrounded by highly organized lipids. It is continuously being formed by epidermal differentiation and in normal epidermis the constant thickness of the stratum corneum is maintained by a balance between the proliferation of the keratinocytes and desquamation. Enhanced expression of SCCE in inflammatory skin disease may be of etiological significance (Hansson, et al. (2002)). Transgenic mice expressing human kallikrein 7 in epidermal keratinocytes were found to develop pathologic skin changes with increased epidermal thickness, hyperkeratosis, dermal inflammation, and severe pruritis. A genetic association between a 4 bp (AACC) insertion in the 3'UTR of the stratum corneum chymotryptic enzyme gene and atopic dermatitis has been reported (Vasilopoulos, et al. (2004)), suggesting that the enzyme could have an important role in the development of atopic dermatitis. Atopic dermatitis is a disease with an impaired skin barrier that affects 15%-20% of children.

Kallikrein 7 is a S1 serine protease of the kallikrein gene family displaying a chymotrypsin like activity. Human kallikrein 7 (hK7, KLK7 or stratum corneum chymotryptic enzyme (SCCE), Swissprot P49862) plays an important role in skin physiology (1, 2, 3). It is mainly expressed in the skin and has been reported to play an important role in skin physiology. hK7 is involved in the degradation of the intercellular cohesive structures in cornified squamous epithelia in the process of desquamation. The desquamation process is well regulated and delicately balanced with the *de novo* production of corneocytes to maintain a constant thickness of the stratum corneum, the outermost layer of the skin critically involved in skin barrier function. In this regard, hK7 is reported to be able to cleave the corneodesmosomal proteins corneodesmosin and desmocollin 1 (4, 5, 6). The degradation of both corneodesmosomes is required for desquamation. In addition, very recently it has been shown that the two lipid processing enzymes β -glucocerebrosidase and acidic sphingomyelinase can be degraded by hK7 (7). Both lipid processing enzymes are co-secreted with their substrates glucosylceramides and sphingomyelin and process these polar lipid precursors into

their more non-polar products e.g. ceramides, which are subsequently incorporated into the extracellular lamellar membranes. The lamellar membrane architecture is critical for a functional skin barrier. Finally, hK7 has been shown to activate Interleukin-1 β (IL-1 β) precursor to its active form in vitro (8). Since keratinocytes express IL-1 β but not the active form of the specific IL-1 β converting enzyme (ICE or caspase 1), it is proposed that IL-1 β activation in human epidermis occurs via another protease, a potential candidate being hK7.

Recent studies link an increased activity of hK7 to inflammatory skin diseases like atopic dermatitis, psoriasis or Netherton's syndrome. This might lead to an uncontrolled degradation of corneodesmosomes resulting in a miss-regulated desquamation, an enhanced degradation of lipid processing enzymes resulting in a disturbed lamellar membrane architecture or an uncontrolled activation of the proinflammatory cytokine IL-1 β . The net result would be an impaired skin barrier function and inflammation (see also WO-A-2004/108139).

Due to the fact that the hK7 activity is controlled at several levels, various factors might be responsible for an increased hK7 activity in inflammatory skin diseases. Firstly, the amount of protease being expressed might be influenced by genetic factors. Such a genetic link, a polymorphism in the 3'-UTR in the hK7 gene, was recently described (9). The authors hypothesise that the described 4 base pair insertion in the 3'-UTR of the kallikrein 7 gene stabilizes the hK7 mRNA and results in an overexpression of hK7. Secondly, since hK7 is secreted via lamellar bodies to the stratum corneum extracellular space as zymogen and it is not able to autoactivate, it needs to be activated by another protease e.g. hK5 (5). Uncontrolled activity of such an activating enzyme might result in an overactivation of hK7. Thirdly, activated hK7 can be inhibited by natural inhibitors like LEKTI, ALP or elafin (10, 11). The decreased expression or the lack of such inhibitors might result in an enhanced activity of hK7. Recently it was found, that mutations in the *spink5* gene, coding for LEKTI, are causative for Netherton's syndrome (12) and a single point mutation in the gene is linked to atopic dermatitis (13, 14). Finally, another level of controlling the activity of hK7 is the pH. hK7 has a neutral to slightly alkaline pH optimum (2) and there is a pH gradient from neutral to acidic from the innermost to the outermost layers in the skin.

Environmental factors like soap might result in a pH increase in the outermost layers of the stratum corneum towards the pH optimum of hK7 thereby increasing the hK7 activity.

An increased activity of hK7 is linked to skin diseases with an impaired skin barrier including inflammatory and hyperproliferative skin diseases. Firstly, Netherton's syndrome patients show a phenotype dependent increase in serine protease activity, a decrease in corneodesmosomes, a decrease in the lipid processing enzymes β -glucocerebrosidase and acidic sphingomyelinase, and an

impaired barrier function (15, 16). Secondly, a transgenic mice overexpressing human kallikrein 7 shows a skin phenotype similar to that found in patients with atopic dermatitis (17, 18, 19). Thirdly, in the skin of atopic dermatitis and psoriasis patients elevated levels of hK7 were described (17, 20). Furthermore, increased activity of K7 and thus epithelial barrier dysfunction may also play an important role in the pathology of other epithelial diseases such as inflammatory bowel disease and Crohn's disease.

Therefore, hK7 is considered to be a potential target for the treatment of diseases involved with epithelial dysfunction such as inflammatory and/or hyperproliferative and pruritic skin diseases such as keloids, hypertrophic scars, acne, atopic dermatitis, psoriasis, pustular psoriasis, rosacea, Netherton's syndrome or other pruritic dermatoses such as prurigo nodularis, unspecified itch of the elderly as well as other diseases with epithelial barrier dysfunction such as aged skin, inflammatory bowel disease and Crohn's disease, as well as pancreatitis, or of cancer, in particular ovarian cancer, and there is a need for specific modulators (agonists or inhibitors) thereof.

Human neutrophil elastase (HNE, also known as human leukocyte elastase, HLE) belongs to the chymotrypsin family of serine proteinases. Its catalytic activity is optimal around pH 7, and the catalytic site is composed of three hydrogenbonded amino acid residues: His57, Asp102, and Ser195 (in chymotrypsin numbering), which form the so-called catalytic triad. The enzyme is composed of a single peptide chain of 218 amino acid residues and four disulfide bridges. It shows 30 to 40% sequence identity with other elastolytic or nonelastolytic serine proteinases. HNE preferentially cleaves the oxidized insulin B chain with Val at the P1 position, but it also hydrolyzes bonds with Ala, Ser, or Cys in the P1 position.

HNE is located in the azurophilic granules of polymorphonuclear leukocytes (PMNLs), where the HNE concentration is rather high (3 µg of enzyme/10⁶ cells). The major physiological function is to digest bacteria and immune complexes and to take part in the host defense process. HNE aids in the migration of neutrophils from blood to various tissues such as the airways in response to chemotactic factors. HNE also takes part in wound healing, tissue repair, and in the apoptosis of PMNLs.

In addition to elastin (highly flexible and highly hydrophobic component of lung connective tissue, arteries, skin, and ligaments), HNE cleaves many proteins with important biological functions, including different types of collagens, membrane proteins, and cartilage proteoglycans. HNE also

indirectly favours the breakdown of extracellular matrix proteins by activating procollagenase, prostromelysin, and progelatinase. HNE inactivates a number of endogenous proteinase inhibitors such as α_2 -antiplasmin, α_1 -antichymotrypsin, antithrombin, and tissue inhibitor of metalloproteinases.

Extracellular elastase activity is tightly controlled in the pulmonary system by α_1 -protease inhibitor (α_1 PI), responsible for protection of the lower airways from elastolytic damage, whereas the secretory leukocyte proteinase inhibitor protects mainly the upper airways. In a number of pulmonary pathophysiological states, e.g., pulmonary emphysema, chronic bronchitis, and cystic fibrosis, endogenous elastase inhibitors are inefficient in regulating HNE activity.

HNE is considered to be the primary source of tissue damage associated with inflammatory diseases such as pulmonary emphysema, adult respiratory distress syndrome (ARDS), chronic bronchitis, chronic obstructive pulmonary disease (COPD), pulmonary hypertension, and other inflammatory diseases as well as bronchopulmonary dysplasia in premature neonates. HNE is involved in the pathogenesis of increased and abnormal airway secretions commonly associated with airway inflammatory diseases. Thus, bronchoalveolar lavage (BAL) fluid from patients with chronic bronchitis and cystic fibrosis has increased HNE activity. Furthermore, excessive elastase has been proposed to contribute not only to these chronic inflammatory diseases but also to acute inflammatory diseases such as ARDS and septic shock.

Therefore, HNE is considered to be a potential target for the treatment of diseases involved with HNE activity such as inflammatory diseases such as pulmonary emphysema, adult respiratory distress syndrome (ARDS), chronic bronchitis, chronic obstructive pulmonary disease (COPD), pulmonary hypertension, and other inflammatory diseases as well as bronchopulmonary dysplasia in premature neonates, and diseases involved with increased and abnormal airway secretions as well as acute inflammatory diseases. Thus there is a need for specific modulators (agonists or inhibitors) of HNE.

Treatment can be by local or systemic application such as creams, ointments and suppositories or by oral or sc or iv application or by inhalation, respectively, in a manner well known in the art.

In one aspect the depsipeptides according to the invention are obtained by cultivating a *Chondromyces crocatus* strain which was deposited on 24th April 2007 with the DSMZ (DSM 19329) or are obtained by cultivating a *Chondromyces robustus* strain which was deposited on 24th

April 2007 with the DSMZ (DSM 19330) or are obtained by cultivating a *Chondromyces apiculatus* strain which was deposited on 23rd June 2008 with the DSMZ (DSM 21595).

The deposit of the strains was made under the terms of the Budapest Treaty on the International Recognition of the Deposit of Microorganisms for Purposes of Patent Procedure. The deposited strains will be irrevocably and without restriction or condition released to the public upon the issuance of a patent. The deposited strains are provided merely as convenience to those skilled in the art and are not an admission that a deposit is required for enablement.

It is to be understood that the present invention is not limited to cultivation of the particular strains *Chondromyces crocatus* and *Chondromyces robustus* and *Chondromyces apiculatus*. Rather, the present invention contemplates the cultivation of other organisms capable of producing depsipeptides, such as mutants or variants of the strains that can be derived from this organism by known means such as X-ray irradiation, ultraviolet irradiation, treatment with chemical mutagens, phage exposure, antibiotic selection and the like.

The depsipeptides of the present invention may be biosynthesized by various microorganisms. Microorganisms that may synthesize the compounds of the present invention include but are not limited to bacteria of the order *Myxococcales*, also referred to as myxobacteria. Non-limiting examples of members belonging to the genera of myxobacteria include *Chondromyces*, *Sorangium*, *Polyangium*, *Byssophaga*, *Haploangium*, *Jahnia*, *Nannocystis*, *Koffleria*, *Myxococcus*, *Corallococcus*, *Cystobacter*, *Archangium*, *Stigmatella*, *Hyalangium*, *Melittangium*, *Pyxiccoccus*, . The taxonomy of myxobacteria is complex and reference is made to Garrity GM, Bell JY, Lilburn TG (2004) Taxonomic outline of the prokaryotes, Bergey's manual of systematic bacteriology, 2nd edition, release 5.0 May 2004. (<http://141.150.157.80/bergeysoutline/main.htm>).

The compounds of structural formulas (I-XVII) are produced by the aerobic fermentation of a suitable medium under controlled conditions via inoculation with a culture of *Chondromyces crocatus* or *Chondromyces robustus* or *Chondromyces apiculatus*. The suitable medium is preferably aqueous and contains sources of assimilable carbon, nitrogen, and inorganic salts.

Suitable media include, without limitation, the growth media mentioned below in examples 1 and 2. The fermentation is conducted for about 3 to about 20 days at temperatures ranging from about 10°C to about 40°C; however for optimum results it is preferred to conduct the fermentation at about 30°C. The pH of the nutrient medium during the fermentation can be about 6.0 to about 9.0.

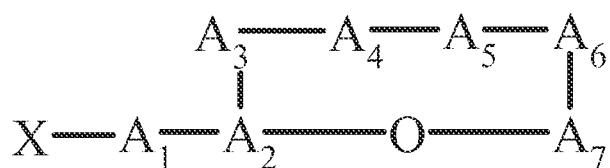
The culture media inoculated with the depsipeptides producing microorganisms may be incubated under aerobic conditions using, for example, a rotary shaker or a stirred tank fermentor. Aeration may be achieved by the injection of air, oxygen or an appropriate gaseous mixture to the inoculated culture media during incubation. As soon as a sufficient amount of the depsipeptide compounds have accumulated, they may be concentrated and isolated from the culture in conventional and usual manner, for example by extraction- and chromatographic methods, precipitation or crystallization, and/or in a manner disclosed herein. As an example for extraction, the culture can be mixed and stirred with a suitable organic solvent such as n-butanol, ethyl acetate, cyclohexane, n-hexane, toluene, n-butyl acetate or 4-methyl-2-pentanone, the depsipeptide compounds in the organic layer can be recovered by removal of the solvent under reduced pressure. The resulting residue can optionally be reconstituted with for example water, ethanol, methanol or a mixture thereof, and re-extracted with a suitable organic solvent such as hexane, carbon tetrachloride, dichloromethane or a mixture thereof. Following removal of the solvent, the compounds may be further purified for example by chromatographic methods. As an example for chromatography, stationary phases such as silica gel or alumina oxide can be applied, with organic eluting solvents or mixtures thereof, including ethers, ketones, esters, halogenated hydrocarbons or alcohols, or reversed-phase chromatography on modified silica gel having various functional groups and eluting with organic solvents or aqueous mixtures thereof, like acetonitrile, methanol or tetrahydrofuran at different pH. Another example is partition-chromatography, for example in the solid-liquid or in the liquid-liquid mode. Also size exclusion chromatography may be applied, for example using Sephadex LH-20 (Sigma-Aldrich) and eluting with different solvents, preferably with alcohols.

As it is usual in this field, the production as well as the recovery and purification process may be monitored by a variety of analytical methods, including bioassays, TLC, HPLC or a combination thereof, and applying different detection methods, for TLC typically UV light, iodine vapour or spraying colouring reagents, for HPLC typically UV light, mass sensitive or light scattering methods. For example a HPLC technique is represented by using a reversed-phase column with a functionalized silica gel and applying an eluent which is a linear gradient mixture of a polar water miscible solvent and water at a specific pH, and a detection method with UV light at different wavelengths and a mass sensitive detector.

The depsipeptides biosynthesized by microorganisms may optionally be subjected to random and/or directed chemical modifications to form compounds that are derivatives or structural analogs. Such

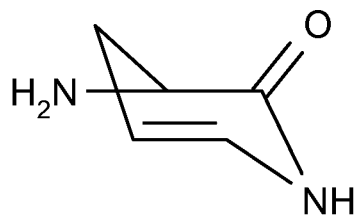
derivatives or structural analogs having similar functional activities are within the scope of the present invention. Depsipeptides may optionally be modified using methods well-known in the art and described herein.

For instance, derivatives of the depsipeptides of the invention may be prepared by derivatization of cyclic depsipeptides of formula

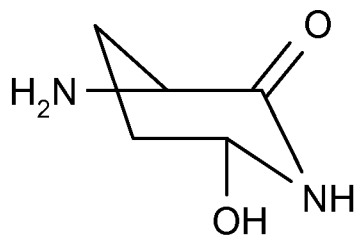


which comprises

a) - the preparation of compounds wherein A4 is

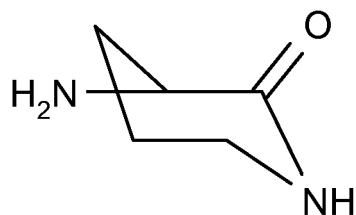


by treatment of a compound wherein A4 is

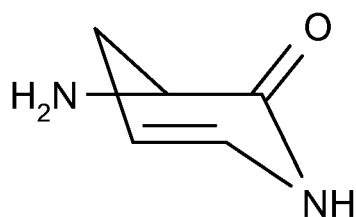


with an organic or inorganic acid, e.g. trifluoro acetic acid, sulphuric acid, hydrochloric acid, or a Lewis acid, e.g. borontrifluoride etherate in a solvent, e.g. dichloromethane, THF, or without a solvent at a temperature between -78 °C and 150 °C, preferentially between -30°C and room temperature.

b) - the preparation of compounds wherein A4 is

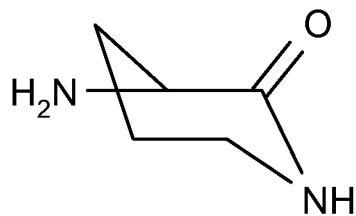


by treatment of a compound wherein A4 is

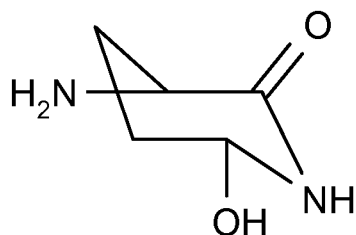


with molecular hydrogen or source thereof, e.g. cyclohexene, ammonium formate, in presence of a catalyst e.g. palladium in a solvent e.g. 2-propanol at a temperature between -50 and 100 °C, preferentially at room temperature.

c) - the preparation of compounds wherein A4 is

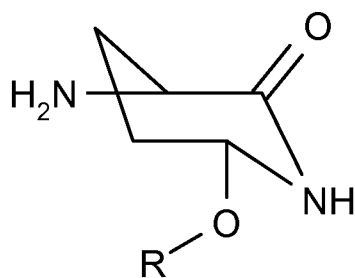


by treatment of a compound wherein A4 is

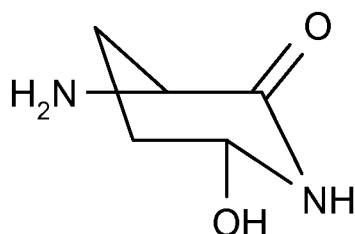


with an organic or inorganic acid, e.g. sulphuric acid, hydrochloric acid or a Lewis acid, e.g. borontrifluoride etherate in presence of an reducing agent, e.g. triethylsilane, a solvent, e.g. dichloromethane, THF, or without a solvent at a temperature between -78 °C and 150 °C, preferentially between -50°C and room temperature.

d) - the preparation of compounds wherein A4 is

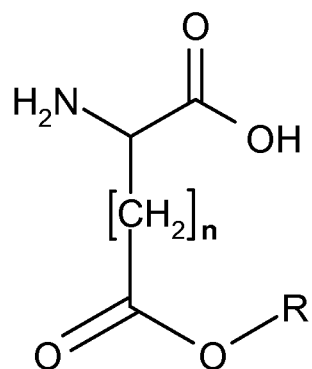


by treatment of a compound wherein A4 is

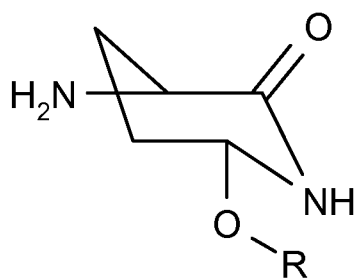


with an substituted or unsubstituted alkanol and an organic or inorganic acid, e.g. trifluoroacetic acid, sulphuric acid, hydrochloric acid, or a Lewis acid, e.g. metal salts in a solvent, e.g. substituted and unsubstituted alkanols, THF, dichloromethane, preferentially substituted and unsubstituted alkanols, or without a solvent at a temperature between -78°C and 150°C , preferentially between -30°C and 50°C .

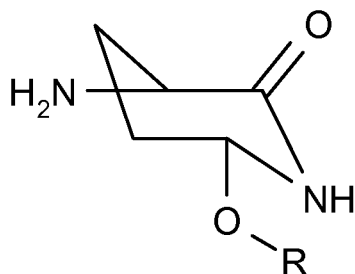
e) - the preparation of compounds wherein A1 is



wherein $n = 1, 2$ and A4 is

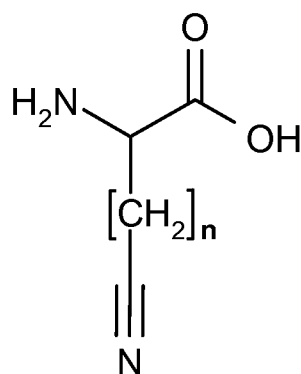


wherein R preferably is H, alkyl, substituted alkyl, by treatment of a compound wherein A1 is Gln or Asn and A4 is

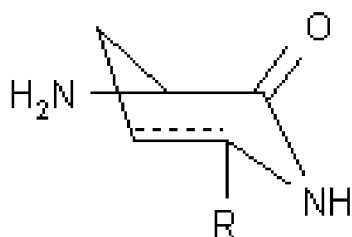


wherein R preferably is H, alkyl, substituted alkyl, with an substituted or unsubstituted alkanol and an organic or inorganic acid, e.g. trifluoroacetic acid, sulphuric acid, hydrochloric acid, or a Lewis acid, e.g. borontrifluoride etherate in a solvent, e.g. substituted and unsubstituted alkanols, THF, dichloromethane, preferentially substituted and unsubstituted alkanols, or without a solvent at a temperature between -78 °C and 150 °C, preferentially between -30°C and room temperature.

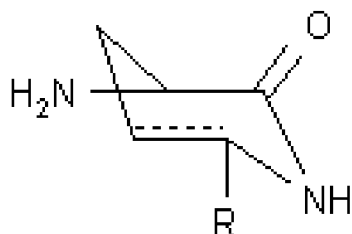
f) - the preparation of compounds wherein A1 is



wherein $n = 1, 2$ and A4 is

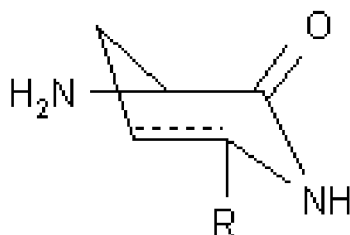


wherein R preferentially is H, OH, O-alkyl, substituted O-alkyl, O-acyl, by treatment of a compound wherein A1 is Gln or Asn and A4 is



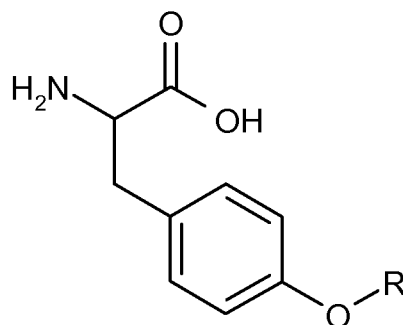
with an dehydrating agent e.g. trifluoroacetic acid anhydride in presence of a base e.g. diisopropylethylamine (DIPEA), in a solvent e.g. dichloromethane or without a solvent at a temperature between -78 °C and 150 °C, preferably between -30°C and room temperature.

g) - the preparation of compounds wherein A4 is

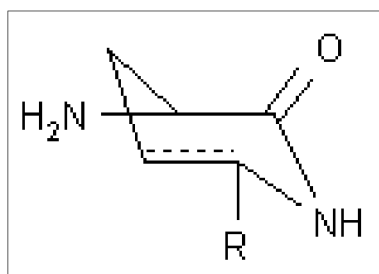


and A6 is

53



wherein R preferably is alkyl, substituted alkyl, acyl, alkoxycarbonyl by treatment of a compound wherein A4 is



and A6 is Tyr

with an alkylating agent e.g. methyl iodide, benzyl bromide, proargyl bromide or an acylating agent e.g. ethyl chloroformate or an alkyl or aryl isocyanate in presence of a base e.g. sodium carbonate in a solvent e.g. DMF or without a solvent at a temperature between -78 °C and 150 °C, preferentially between -30°C and room temperature, preferably promoted by ultrasound.

Unless otherwise indicated, all numbers expressing quantities of ingredients, properties such as molecular weight, reaction conditions, IC₅₀ and so forth used in the specification and claims are to be understood as being modified in all instances by the term "about". Accordingly, unless indicated to the contrary, the numerical parameters set forth in the present specification and attached claims are approximations. At the very least, and not as an attempt to limit the application of the doctrine of equivalents to the scope of the claims, each numerical parameter should at least be construed in light of the number of significant figures and by applying ordinary rounding techniques.

Notwithstanding that the numerical ranges and parameters setting forth the broad scope of the invention are approximations, the numerical values set in the examples, Tables and Figures are reported as precisely as possible. Any numerical values may inherently contain certain errors resulting from variations in experiments, testing measurements, statistical analyses and such.

Unless otherwise defined, all technical and scientific terms used herein have the same meaning as commonly understood by one of ordinary skill in the art to which this invention belongs. Although methods and materials similar or equivalent to those described herein can be used in the practice or testing of the present invention, suitable methods and materials are described below. All publications, patent applications, patents, and other references mentioned herein are incorporated by reference in their entirety. In case of conflict, the present specification, including definitions, will control. In addition, the materials, methods, and examples are illustrative only and not intended to be limiting.

Examples

Example 1

Production of the compounds

Example 1.1 Production of the compounds of formula (II)-(VII), (XI)-(XIV) and (XVII)

Strain: The *Chondromyces crocatus* strain was isolated from an environmental sample, rotten wood of a walnut tree, in our laboratories.

The strain has been unambiguously identified as a *Chondromyces crocatus* based on the morphology of the fruiting bodies as well as on the partial sequence of the 16S-RNA gene. *C. crocatus* was assigned to biological risk group 1 by the DSMZ (DSMZ (2007)). *Chondromyces* is a genus in the family Polyangiaceae, which belongs to the order Myxococcales within the Delta-proteobacteria. Bacteria of the order Myxococcales, also called myxobacteria, are gram-negative rod-shaped bacteria with two characteristics distinguishing them from most other bacteria. They swarm on solid surfaces using an active gliding mechanism and aggregate to form fruiting bodies upon starvation (Kaiser (2003)).

The *Chondromyces crocatus* strain of the invention has been deposited at the DSMZ under the accession number 19329.

The *Chondromyces crocatus* strain of the invention is not viable as a pure culture and cannot be maintained without a companion strain. The companion strain can be obtained and maintained as a pure culture by streaking an aliquot of a fermentation co-culture on agar plates (LB medium). A similar observation was made by the Reichenbach group (Jacobi, et al. (1996), Jacobi, et al. (1997)). Based on a partial DNA sequence of the 16S-rRNA gene of the companion strain of *Chondromyces crocatus* of this invention, the closest match is *Bosea thiooxidans* from the order Rhizobiales within the Alpha-proteobacteria. The 424 bp sequence fragment 16S-rRNA investigated has about 98% identity (at least 8 nucleotide exchanges) to sequence AF508112 (*B. thiooxidans*) from genebank. *B. thiooxidans* was isolated from soil samples collected from different agricultural fields around Calcutta, India. It is capable to oxidate reduced inorganic sulfur compounds in the presence of some

organic substrates and was described as a novel species and a novel genus in 1996 (Das, et al. (1996)). A phylogenetic tree derived from the partial 16S-RNA sequences of all 5 described *Bosea* species indicates a separate position for the *Bosea* companion strain isolated from *C. crocatus*.

Cultivation: 100L fermentor cultures were performed according to the following protocol:

Precultures were started by inoculation of 5 ml (=10%) from a liquid culture of *Chondromyces crocatus* strain of the invention into 50 ml of medium MD1 (adapted after Bode et al. 2003, see table 6) in a 200-ml baffled shake flask. After 11 days incubation at 30°C and 120 rpm on a rotary shaker a 1st intermediate culture was started by inoculation of 10 ml each (=10%) from the preculture into 5x 100 ml of medium MD1 in 500-ml baffled shake flasks. After 7 days incubation at 30°C and 120 rpm on a rotary shaker a 2nd intermediate culture was started by inoculation of 25 ml each (=5%) from the 1st intermediate culture into 19x 500 ml of medium MD1 in 2-L nonbaffled shake flasks. After 6 days of incubation at 30°C and 150 rpm on a rotary shaker the whole 2nd intermediate culture (9.5 liters = 9.5%) was used to inoculate 100 liters of production medium POL1 (adapted after Kunze et al. 1995, see table 7)

This 100-L main culture was performed in a 100-L scale steel tank fermentor. Temperature was controlled at 30°C, aeration was 20 l/min (= 0.2 vvm) and agitation speed was 50 rpm. A slight overpressure of 0.5 bar was maintained inside of the fermentor vessel. Culture pH was maintained at 6.9-7.1 by controlled addition of 3N H₂SO₄ or 3N NaOH. After a lag-phase of about 1 day oxygen consumption accelerated for about 4 days indicating exponential growth of the culture. During the last 2 days oxygen consumption was slightly reduced indicating a stationary phase of the culture. After 7 days the culture was harvested with a titer of 5.3 mg/l of a cyclic depsipetide according to Formula II.

Extraction: The whole fermentation broth was transferred into a 1600 l steel vessel and decanted for 1 hour. The wet cell pellet (200 g) was harvested from the bottom fraction by filtration through a paper filter. The cell pellet was extracted 3 times by turaxing it 30 minutes each with 10 l ethyl acetate. Then the residual water was separated from the solvent phase. The solvent phase was washed with 5 l water and then evaporated to obtain a dry extract referred to as 'cell extract'. The culture filtrate was extracted with 200 l ethyl acetate. After 2 hours contact time, including 1 hour of turaxing, the organic phase was separated, washed with 20 l water and finally evaporated to obtain a dry extract referred to as 'culture filtrate extract'.

Compound isolation: The culture filtrate extract (4.4 g) was dissolved in 80 mL Methanol. The insoluble ingredients were removed by centrifugation and the supernatant was evaporated to dryness yielding in 3.3 g extract. The extract was dissolved in 7.5 mL MeOH, 3 mL DMSO and 0.5 mL dichloromethane and purified by reversed phase chromatography (Waters Sunfire RP18 10 μ m, 30x150 mm) using 0.01% formic acid (solvent A), and acetonitrile containing 0.1% formic acid (solvent B) as solvents. The flow rate was 50 mL/min. The gradient is shown in Table 1. The material was purified in 7 chromatographic runs. From each run the collected fractions were analyzed by HPLC, fractions containing the cyclic depsipeptide according to the invention were combined and evaporated in vacuum to dryness. The chromatography yielded in 134 mg cyclic depsipeptide according to formula (II) with a purity of >97% and 80 mg with a purity of 90%.

Table 1

HPLC gradient used for purification of the cyclic depsipeptide according to formula (II)

time (min)	solvent A (%)	solvent B (%)
0.0	90	10
1.0	90	10
23.0	50	50
23.1	0	100
27.0	0	100
27.1	90	10
30.0	90	10

Table 2

Gradient used for normal phase separation

time (min)	cyclohexane (%)	ethyl acetate (%)	methanol (%)
0	75	25	0
10	75	25	0
33	25	75	0
56	20	70	10
79	0	50	50
93	0	50	50

The cell extract (6.67 g) was dissolved in dichloromethane/methanol 4:1. The solution was filtered and the filtrate was adsorbed on diatom (2g diatom / 1 g extract, Isolute®, International Sorbent Technology Ltd., Hengoed Mid Glam, UK) followed by evaporation. The solid residue was loaded on a pre-packed silica gel column (4x18cm, 90 g silica gel 40-63) and eluted with a gradient of cyclohexane, ethyl acetate and methanol. The gradient is shown in Table 2, the flow rate was 28 ml/min. Fractions volumes of 28 ml were collected. The fractions were combined according to the peaks visible in the UV-trace yielding in 12 pooled fractions (A-L). Fractions containing the depsipeptides (H-J) were further purified using reversed-phase chromatography. The chromatographic method and work up procedure is identical to the purification method described for the culture filtrate. In total 46.1 mg cyclic depsipeptide according to formula (II), 17.9 mg cyclic depsipeptide according to formula (III) and 6.1 mg of a 1:1 mixture of the depsipeptides according to formula (VI) and (VII) have been isolated. The assignment of the structures of compound (VI) and (VII) is based on high resolution MS and the comparison of the ^1H -NMR data of the mixture of compound (VI) and (VII) with the ^1H -NMR data of compound (II). Other cyclic depsipeptide according to formula (II) have also been found at a lesser concentration in the cell extract. Among these other cyclic depsipeptides were those according to formula (IV), (V) and (XI)-(XV) and (XVII).

Characterization of compounds:

Physical data of compound of formula (II)

IR (KBr pellet): 3337, 3297, 3062, 2966, 2936, 2877, 1736, 1659, 1533, 1519, 1464, 1445, 1410, 1385, 1368, 1249, 1232, 1205, 989, 832 cm^{-1}

FT-MS (9.4 T APEX-III): 951.5165; calc. for $\text{C}_{46}\text{H}_{72}\text{N}_8\text{O}_{12}+\text{Na}$: 951.5162

^1H NMR (600 MHz, d_6 -DMSO) δ_{H} : -0.10 (3H, d, $J=7.0$ Hz), 0.65 (4H, m), 0.78 (3H, d, $J=7.0$ Hz), 0.82 (3H, t, $J=7.2$ Hz), 0.85 (3H, d, $J=7.0$ Hz), 0.89 (3H, d, $J=7.0$ Hz), 1.02 (1H, m), 1.03 (6H, 2 x d, $J=7.0$ Hz), 1.10 (1H, m), 1.21 (3H, d, $J=7.0$ Hz), 1.25 (1H, m), 1.40 (1H, m), 1.52 (1H, m), 1.76 (6H, m), 1.84 (1H, m), 1.93 (1H, m), 2.15 (2H, m), 2.48 (1H, m), 2.59 (1H, m), 2.69 (1H, m), 2.72 (3H, s), 3.17 (1H, m), 4.32 (2H, m), 4.44 (2H, m), 4.64 (1H, d, $J=9.5$ Hz), 4.71 (1H, m), 4.94 (1H, s), 5.06 (1H, m), 5.49 (1H, m), 6.08 (1H, d, $J=2.2$ Hz), 6.65 (2H, d, $J=8.4$), 6.74 (1H, s), 7.00 (2H, d, $J=8.4$ Hz), 7.27 (1H, s), 7.36 (1H, d, $J=9.5$ Hz), 7.66 (1H, d, $J=10.2$ Hz), 7.74 (1H, d, $J=8.8$ Hz), 8.02 (1H, d, $J=8.1$ Hz), 8.43 (1H, d, $J=8.1$ Hz), 9.19 (1H, s).

^{13}C NMR (150 MHz) $\text{d}_6\text{-DMSO}$ δ_{C} : 10.35, CH_3 ; 11.22, CH_3 ; 13.79, CH_3 ; 16.00, CH_3 ; 17.63, CH_3 ; 19.49, 2 x CH_3 ; 20.83, CH_3 ; 21.72, CH_2 ; 23.30, CH_3 ; 23.70, CH_2 ; 24.16, CH ; 24.41, CH_2 ; 27.35, CH_2 ; 29.74, CH_2 ; 30.07, CH_3 ; 31.44, CH_2 ; 33.13, CH ; 33.19, CH_2 ; 33.68, CH ; 37.39, CH ; 39.05, CH_2 ; 48.75, CH ; 50.59, CH ; 52.01, CH ; 54.11, CH ; 54.65, CH ; 55.24, CH ; 60.60, CH ; 71.86 CH ; 73.89, CH ; 115.28, 2 x CH ; 127.31, Cq ; 130.35, 2 x CH ; 156.25, Cq ; 169.09, Cq ; 169.25, Cq ; 169.34, Cq ; 169.74, Cq ; 170.60, Cq ; 172.41, Cq ; 172.52, Cq ; 173.78, Cq ; 176.32, Cq

Physical data of compound of formula (III)

FT-MS (9.4 T APEX-III): Found: 965.5318; calc. for $\text{C}_{47}\text{H}_{74}\text{N}_8\text{O}_{12}+\text{Na}$: 965.5318

^1H NMR (600 MHz) $\text{d}_6\text{-DMSO}$ δ_{H} : -0.10 (3H, d, $J = 7.0$ Hz), 0.64 (4H, m), 0.78 (3H, d, $J = 7.0$ Hz), 0.82 (3H, t, $J = 7.0$ Hz), 0.83 (3H, t, $J = 7.3$ Hz), 0.85 (3H, d, $J = 7.0$ Hz), 0.89 (3H, d, $J = 7.0$ Hz), 1.01 (3H, d, $J = 7.1$ Hz), 1.04 (1H, m), 1.10 (1H, m), 1.21 (3H, d, $J = 7.0$ Hz), 1.25 (1H, m), 1.32 (1H, m), 1.40 (1H, m), 1.53 (2H, m), 1.77 (6H, m), 1.84 (1H, m), 1.92 (1H, m), 2.12 (1H, m), 2.16 (1H, m), 2.28 (1H, m), 2.59 (1H, m), 2.68 (1H, m), 2.72 (3H, s), 3.17 (1H, m), 4.32 (1H, m), 4.38 (1H, m), 4.43 (1H, d, $J = 10.2$ Hz), 4.46 (1H, m), 4.63 (1H, d, $J = 9.5$ Hz), 4.71 (1H, m), 4.94 (1H, m), 5.06 (1H, m), 5.49 (1H, m), 6.11 (1H, s, broad), 6.65 (2H, d, $J = 8.8$ Hz), 6.73 (1H, s), 7.00 (2H, d, $J = 8.8$ Hz), 7.27 (1H, s), 7.37 (1H, d, $J = 9.5$ Hz), 7.66 (1H, d, $J = 10.2$ Hz), 7.75 (1H, d, $J = 9.7$ Hz), 8.07 (1H, d, $J = 8.1$ Hz), 8.45 (1H, d, $J = 8.8$ Hz), 9.24 (1H, broad)

Physical data of compound of formula (IV)

FT-MS (9.4 T APEX-III): Found: 947.5196; calc. for $\text{C}_{47}\text{H}_{72}\text{N}_8\text{O}_{11}+\text{Na}$: 947.5213

^1H NMR (600 MHz) $\text{d}_6\text{-DMSO}$ δ_{H} : 0.08 (3H, d, $J = 7.0$ Hz), 0.68 (3H, t, $J = 7.2$ Hz), 0.71 (3H, d, $J = 7.0$ Hz), 0.78 (3H, d, $J = 7.0$ Hz), 0.83 (3H, t, $J = 7.3$ Hz), 0.84 (1H, m), 0.87 (3H, t, $J = 7.2$ Hz), 0.88 (3H, d, $J = 7.0$ Hz), 0.99 (3H, d, $J = 7.1$ Hz), 1.08 (1H, m), 1.17 (3H, d, $J = 6.7$ Hz), 1.18 (1H, m), 1.31 (2H, m), 1.43 (1H, m), 1.51 (1H, m), 1.54 (1H, m), 1.76 (2H, m), 1.90 (1H, m), 1.94 (1H, m), 2.01 (1H, m), 2.10 (1H, m), 2.16 (1H, m), 2.26 (1H, m), 2.46 (2H, m), 2.73 (1H, m), 2.74 (3H, s), 3.19 (1H, m), 4.34 (1H, m), 4.36 (1H, m), 4.51 (1H, m), 4.55 (1H, m), 4.66 (1H, d, $J = 10.0$ Hz), 4.79 (1H, d, $J = 11.0$ Hz), 5.19 (1H, m), 5.28 (1H, m), 5.44 (1H, m), 6.25 (1H, d, $J = 7.3$ Hz), 6.33 (1H, d, $J = 8.8$ Hz), 6.68 (2H, d, $J = 8.8$ Hz), 6.75 (1H, s), 7.04 (2H, d, $J = 8.8$ Hz), 7.28 (1H, s), 7.32 (1H, d, $J = 8.8$ Hz), 7.91 (1H, d, $J = 9.5$ Hz), 8.05 (1H, d, $J = 8.1$ Hz), 8.57 (1H, d, $J = 8.9$ Hz), 9.38 (1H, broad)

Physical data of compound of formula (V)

FT-MS (9.4 T APEX-III): Found: 933.5053; calc. for $C_{46}H_{70}N_8O_{11}+Na$: 953.5056

1H NMR (600 MHz) d_6 -DMSO δ_H : 0.08 (3H, d, $J = 7.0$ Hz), 0.68 (3H, t, $J = 7.2$ Hz), 0.71 (3H, d, $J = 7.0$ Hz), 0.79 (3H, d, $J = 7.0$ Hz), 0.83 (1H, m), 0.88 (3H, t, $J = 7.2$ Hz), 0.89 (3H, d, $J = 7.0$ Hz), 1.01 (3H, d, $J = 7.0$ Hz), 1.03 (3H, d, $J = 7.0$ Hz), 1.08 (1H, m), 1.17 (3H, d, $J = 6.7$ Hz), 1.20 (1H, m), 1.31 (1H, m), 1.42 (1H, m), 1.54 (1H, m), 1.74 (2H, m), 1.91 (2H, m), 2.02 (1H, m), 2.10 (1H, m), 2.15 (1H, m), 2.46 (3H, m), 2.75 (3H, s), 2.76 (1H, m), 3.19 (1H, m), 4.32 (1H, m), 4.34 (1H, m), 4.51 (1H, m), 4.55 (1H, m), 4.66 (1H, d, $J = 9.5$ Hz), 4.79 (1H, d, $J = 11.0$ Hz), 5.19 (1H, m), 5.28 (1H, m), 5.43 (1H, m), 6.25 (1H, d, $J = 7.0$ Hz), 6.33 (1H, d, $J = 8.5$ Hz), 6.68 (2H, d, $J = 8.8$ Hz), 6.75 (1H, s), 7.04 (2H, d, $J = 8.8$ Hz), 7.28 (1H, s), 7.31 (1H, d, $J = 8.8$ Hz), 7.90 (1H, d, $J = 9.5$ Hz), 7.99 (1H, d, $J = 8.1$ Hz), 8.52 (1H, d, $J = 8.8$ Hz), 9.30 (1H, broad)

Physical data of compound of formula (XI)

ESI-MS: pos. mode: $m/z = 951.5$ ($M+Na$), neg. Mode: $m/z = 927.5$ ($M-H$); monoisotopic MW 928.5, $C_{46}H_{72}N_8O_{12}$

1H NMR (600 MHz) d_6 -DMSO δ_H : -0.11 (3H, d, $J = 6.6$ Hz), 0.64 (4H, m), 0.77 (3H, d, $J = 6.6$ Hz), 0.83 (3H, m), 0.85 (3H, m), 0.87 (3H, m), 0.89 (3H, m), 1.01 (3H, m), 1.10 (1H, m), 1.21 (3H, d, $J = 5.9$ Hz), 1.32 (1H, m), 1.40 (1H, m), 1.52 (2H, m), 1.75 (5H, m), 1.84 (1H, m), 1.91 (1H, m), 2.05 (1H, m), 2.15 (2H, m), 2.27 (1H, m), 2.59 (1H, m), 2.68 (1H, m), 2.73 (3H, s), 3.16 (1H, m), 4.31 (1H, m), 4.37 (1H, m), 4.43 (1H, m), 4.45 (1H, m), 4.63 (1H, d, $J = 8.8$ Hz), 4.69 (1H, m), 4.94 (1H, m), 5.05 (1H, m), 5.50 (1H, m), 6.15 (1H, s, broad), 6.65 (2H, d, $J = 8.1$ Hz), 6.75 (1H, s), 7.00 (2H, d, $J = 8.1$ Hz), 7.29 (1H, s), 7.37 (1H, d, $J = 9.5$ Hz), 7.64 (1H, d, $J = 9.5$ Hz), 7.78 (1H, d, $J = 8.8$ Hz), 8.09 (1H, d, $J = 8.1$ Hz), 8.49 (1H, d, $J = 9.5$ Hz), (OH of tyrosine not visible)

Physical data of compound of formula (XII)

ESI-MS: pos. mode: $m/z = 923.5$ ($M+Na$), neg. Mode: $m/z = 899.5$ ($M-H$); monoisotopic MW 900.5, $C_{44}H_{68}N_8O_{12}$

1H NMR (500 MHz) d_6 -DMSO δ_H : -0.11 (3H, d, $J = 6.4$ Hz), 0.63 (4H, m), 0.75 (3H, d, $J = 6.4$ Hz), 0.83 (6H, d, $J = 7.0$ Hz), 0.87 (3H, d, $J = 6.4$ Hz), 1.03 (1H, m), 1.10 (1H, m), 1.20 (3H, d, $J = 6.4$ Hz), 1.25 (1H, m), 1.38 (1H, m), 1.50 (1H, m), 1.73 (1H, m), 1.75 (2H, m), 1.77 (1H, m), 1.79 (3H, m), 1.85 (3H, s), 1.85 (1H, m), 2.12 (1H, m), 2.16 (1H, m), 2.55 (1H, m), 2.67 (1H, m), 2.70 (3H, s), 3.13 (1H, m), 4.30 (1H, m), 4.40 (1H, m), 4.43 (2H, m), 4.59 (1H, d, $J = 9.5$ Hz), 4.71 (1H, m),

4.92 (1H, m), 5.02 (1H, m), 5.46 (1H, m), 6.08 (1H, s, broad), 6.62 (2H, d, J = 8.5 Hz), 6.71 (1H, s), 6.97 (2H, d, J = 8.5 Hz), 7.22 (1H, s), 7.34 (1H, d, J = 9.2 Hz), 7.64 (1H, d, J = 9.5 Hz), 7.93 (1H, d, J = 9.2 Hz), 8.06 (1H, d, J = 7.6 Hz), 8.39 (1H, d, J = 8.5 Hz), 9.06 (1H, s, broad)

Physical data of compound of formula (XIII)

FT-MS (9.4 T APEX-III): Found: 961.5039; calc. for $C_{49}H_{70}N_8O_{12}+Na$: 985.5005

1H NMR (500 MHz) d_6 -DMSO δ_H : -0.12 (3H, d, J = 6.4 Hz), 0.62 (4H, m), 0.75 (3H, d, J = 6.4 Hz), 0.81 (4H, m), 0.87 (3H, d, J = 6.4 Hz), 1.08 (1H, m), 1.20 (3H, m), 1.22 (3H, m), 1.38 (1H, m), 1.46 (1H, m), 1.50 (1H, m), 1.71 (1H, m), 1.73 (2H, m), 1.76 (2H, m), 1.82 (1H, m), 1.94 (1H, m), 2.01 (1H, m), 2.23 (2H, m), 2.56 (1H, m), 2.66 (1H, m), 2.69 (3H, s), 3.13 (1H, m), 4.30 (1H, m), 4.41 (2H, m), 4.55 (1H, m), 4.65 (1H, d, J = 9.5 Hz), 4.70 (1H, m), 4.92 (1H, m), 5.04 (1H, m), 5.48 (1H, m), 6.09 (1H, s, broad), 6.64 (2H, d, J = 8.5 Hz), 6.81 (1H, s), 6.97 (2H, d, J = 8.5 Hz), 7.33 (1H, s), 7.35 (1H, d, J = 9.2 Hz), 7.46 (2H, t, J = 7.3 Hz), 7.53 (1H, t, J = 7.3 Hz), 7.66 (1H, d, J = 9.5 Hz), 7.88 (2H, d, J = 7.3 Hz), 7.95 (1H, d, J = 9.5 Hz), 8.46 (1H, d, J = 8.5 Hz), 8.71 (1H, d, J = 7.3 Hz); (OH of tyrosine not visible)

Physical data of compound of formula (XIV)

ESI-MS: pos. mode: m/z = 927.5 (M+H), neg. Mode: m/z = 925.5 (M-H); monoisotopic MW 926.5, $C_{47}H_{74}N_8O_{11}$

1H NMR (500 MHz) d_6 -DMSO δ_H : 0.00 (1H, m), 0.48 (3H, t, J = 7.5 Hz), 0.70 (3H, d, J = 7.0 Hz), 0.73 (3H, t, J = 7.0 Hz), 0.76 (3H, d, J = 7.3 Hz), 0.79 (3H, t, J = 7.3 Hz), 0.83 (6H, d, J = 6.4 Hz), 0.89 (1H, m), 0.95 (1H, m), 0.98 (3H, d, J = 7.0 Hz), 1.04 (3H, d, J = 6.1 Hz), 1.09 (1H, m), 1.17 (1H, m), 1.28 (1H, m), 1.31 (1H, m), 1.36 (1H, m), 1.38 (1H, m), 1.55 (1H, m), 1.61 (1H, m), 1.68 (1H, m), 1.79 (1H, m), 1.82 (1H, m), 1.95 (2H, m), 2.15 (3H, m), 2.25 (1H, m), 2.66 (3H, s), 2.76 (1H, m), 3.14 (1H, m), 3.40 (1H, m), 3.42 (1H, m), 4.33 (1H, m), 4.36 (1H, m), 4.45 (2H, m), 4.55 (2H, m), 4.69 (1H, m), 5.06 (1H, m), 6.63 (2H, d, J = 8.2 Hz), 6.71 (1H, s, broad), 7.01 (2H, d, J = 8.2 Hz), 7.27 (1H, s, broad), 7.36 (1H, d, J = 9.5 Hz), 8.00 (1H, d, J = 9.5 Hz), 8.17 (1H, d, J = 4.00 Hz), 8.22 (1H, d, J = 7.3 Hz), 8.53 (1H, d, J = 9.5 Hz), 9.14 (1H, s, broad)

Physical data of compound of formula (XVII)

ESI-MS: pos. mode: $m/z = 985.4$ (M+Na), neg. Mode: $m/z = 961.5$ (M-H); monoisotopic MW 962.5, $C_{45}H_{70}N_8O_{13}S$

1H NMR (600 MHz) d_6 -DMSO δ_H : δ_H : no assignment of chemical shifts (mixture of two diastereomers, structure assignment through comparison with other related compounds, e.g. compound (II))

Example 1.2: Production of compound of formula (VIII, IX, X)

Strain: The *Chondromyces robustus* strain was isolated from a dung sample. The *Chondromyces robustus* strain of the invention has been identified as a *Chondromyces robustus* based on the morphology of the fruiting bodies as well as on the partial sequence of the 16S-RNA gene. *C. robustus* was assigned to biological risk group 1 by the DSMZ (DSMZ (2007)). *Chondromyces* is a genus in the family Polyangiaceae, which belongs to the order Myxococcales within the Delta-proteobacteria. Bacteria of the order Myxococcales, also called myxobacteria, are gram-negative rod-shaped bacteria with two characteristics distinguishing them from most other bacteria. They swarm on solid surfaces using an active gliding mechanism and aggregate to form fruiting bodies upon starvation (Kaiser (2003)).

The *Chondromyces robustus* strain of the invention has been deposited at the DSMZ under the accession number 19330.

Cultivation: 100L fermentor cultures were performed according to the following protocol:

Precultures were started by inoculation of 20 ml each (=20%) from a liquid culture of the *Chondromyces robustus* strain of the invention into 6x 100 ml of medium MD1 (adapted after Bode et al. 2003) in 500-ml baffled shake flasks. After 1 day of incubation at 30°C and 120 rpm on a rotary shaker a 1st intermediate culture was started by inoculation of 100 ml each (=25%) from the preculture into 6x 400 ml of medium MD1 in 2-L baffled shake flasks. After 3 days incubation at 30°C and 120 rpm on a rotary shaker a 2nd intermediate culture was started by inoculation of 3 liters (=20%) from the 1st intermediate culture into a 20-L steel tank fermentor containing 15 liters of medium MD1. Temperature was controlled at 30°C, aeration was 20 l/min (= 1.0 vvm) and agitation speed was 80 rpm. A slight overpressure of 0.5 bar was maintained inside of the fermentor vessel. Although there was no pH control the pH of the culture decreased only slightly from pH

6.95 at start to pH 6.88 on day 7. After 7 days the whole 2nd intermediate culture (18 liters = 20%) was used to inoculate 90 liters of production medium POL1 (adapted after Kunze et al. 1995) (starting volume = 108 liters). The main culture was performed in a 100-L scale steel tank fermentor. Temperature was controlled at 30°C, aeration was 30 l/min (= 0.3 vvm) and agitation speed was in the beginning 50 rpm and after 4 days 80 rpm. A slight overpressure of 0.5 bar was maintained inside of the fermentor vessel. Culture pH was maintained at 6.8-7.2 by controlled addition of 2N H₂SO₄ or 1.5N NaOH. After 14 days the culture was harvested with a titer of 3 mg/l.

Extraction: The whole fermentation broth was transferred into a 1600 l steel vessel and decanted for 1 hour. The wet cell pellet (about 200 g) was harvested from the bottom fraction by filtration through a paper filter. The cell pellet was extracted 3 times by turaxing it 30 minutes each with 10 l ethyl acetate. Then the residual water was separated from the solvent phase. The solvent phase was washed with 5 l water and then evaporated to obtain 11.9 g dry extract referred to as 'cell extract'.

The culture filtrate was extracted with 200 l ethyl acetate. After 2 hours contact time, including 1 hour of turaxing, the organic phase was separated, washed with 20 l water and finally evaporated to obtain 12.5 g of dry extract referred to as 'culture filtrate extract'.

Compound isolation: Each extract (from mycelium and culture filtrate) was dissolved in dichloromethane/methanol 4:1. The solution was filtered and the filtrate was adsorbed on diatom (2g diatom / 1 g extract, Isolute[®], International Sorbent Technology Ltd., Hengoed Mid Glam, UK) followed by evaporation. The solid residue was loaded on a pre-packed silica gel column (4x18cm, 100 g silica gel 40-63) and eluted with a gradient of cyclohexane, ethyl acetate and methanol. The gradient is shown in Table 4, the flow rate was 28 ml/min. Fractions volumes of 28 ml were collected. The fractions were combined according to the peaks visible in the UV-trace. The fraction containing the cyclic depsipeptide of the invention was further purified using reversed-phase chromatography (Waters Sunfire RP18 10µm, 30x150 mm) using 0.01% formic acid (solvent A), and acetonitrile containing 0.1% formic acid (solvent B) as solvents. The flow rate was 50 mL/min. The gradient is shown in Table 5. For injection the material was dissolved in MeOH/DMSO 1:1 (concentration 200mg/mL). The collected fractions were analyzed by HPLC, fractions containing the cyclic depsipeptide of the invention were combined and evaporated in vacuum to dryness. The chromatography of the extract yielded in 52 mg pure (>97%) cyclic depsipeptide according to formula (VIII) A total of 85 mg pure cyclic depsipeptide according to formula (VIII) could be isolated from the combined extracts.

Other cyclic depsipeptide according to formula (VIII) have also been found at a lesser concentration in the cell extract. Among these other cyclic depsipeptides were those according to formula (IX) and (X).

Table 4**Gradient used for normal phase separation**

time (min)	cyclohexane (%)	ethyl acetate (%)	methanol (%)
0	75	25	0
10	75	25	0
33	25	75	0
56	20	70	10
79	0	50	50
93	0	50	50

Table 5**HPLC gradient used for purification of cyclic depsipeptide according to formula (VIII)**

time (min)	solvent A (%)	solvent B (%)
0.0	75	25
1.0	75	25
23.0	55	45
23.1	0	100
27.0	0	100
27.1	75	25
30.0	75	25

Media (Adjusted to pH 7.0 with 50mM HEPES)

Table 6**MD1 (pre-culture medium)**

Substance	Concentration [g/L]
Casitone	3
CaCl ₂ x 2 H ₂ O	0.5
MgSO ₄ x 7 H ₂ O	2

D(+)-Glucose water free	1
Cyanocobalamine	0.5 mg
Antifoam B	0.2 mL
Ferrioxamine solution [100ng/mL]	1 mL

Table 7

POL1 (production medium)

Substance	Concentration [g/L]
Potato protein	4
Soluble starch	3
CaCl ₂ x 2 H ₂ O	0.5
MgSO ₄ x 7 H ₂ O	2
Cyanocobalamine	0.25 mg
HEPES	12
Standard Trace Element Solution 1901	1 mL
XAD16	35

Characterization of compounds:

Physical data of compound of formula (VIII)

FT-MS (9.4 T APEX-III): Found: 985.5007; calc. for C₄₉H₇₀N₈O₁₂+Na: 985.5005.

¹H NMR (600 MHz) d₆-DMSO δ_H: 0.74 (6H, d, J = 7.0 Hz), 0.85 (3H, d, J = 7.0 Hz), 0.88 (3H, d, J = 7.0 Hz), 0.89 (6H, d, J = 7.0 Hz), 1.18 (3H, d, J = 6.7 Hz), 1.32 (1H, m), 1.46 (1H, m), 1.57 (2H, m), 1.72 (3H, m), 1.81 (1H, m), 1.88 (1H, m), 1.98 (1H, m), 2.02 (2H, m), 2.11 (3H, m), 2.42 (1H, m), 2.73 (1H, m), 2.77 (3H, s), 2.87 (1H, m), 3.12 (1H, m), 3.64 (1H, m), 4.23 (1H, m), 4.40 (1H, m), 4.58 (1H, d, J = 9.5 Hz), 4.75 (2H, m), 4.93 (1H, m), 5.07 (1H, s), 5.40 (1H, m), 6.03 (1H, s),

6.74 (1H, s), 6.79 (2H, d, J = 8.4 Hz), 6.84 (2H, d, J = 7.8 Hz), 7.02 (2H, d, J = 8.4 Hz), 7.10 (1H, d, J = 9.3 Hz), 7.14 (1H, t, J = 7.8 Hz), 7.19 (2H, t, J = 7.8 Hz), 7.26 (1H, s), 7.42 (1H, d, J = 9.8 Hz), 7.89 (1H, d, J = 9.2 Hz), 8.03 (1H, d, J = 7.9 Hz), 8.38 (1H, d, J = 8.9 Hz), 9.40 (1H, s)

^{13}C NMR (150 MHz) $\text{d}_6\text{-DMSO}$ δ_{C} : 17.13, CH_3 ; 17.63, CH_3 ; 19.32, CH_3 ; 20.90, CH_3 ; 21.64, CH_2 ; 22.34, CH_3 ; 22.34, CH_3 ; 23.32, CH_3 ; 24.10, CH ; 25.63, CH ; 27.63, CH_2 ; 29.30, CH_2 ; 30.37, CH_3 ; 30.86, CH ; 31.52, CH_2 ; 32.83, CH_2 ; 35.33, CH_2 ; 38.98, CH_2 ; 44.42, CH_2 ; 48.52, CH ; 50.19, CH ; 50.24, CH ; 51.99, CH ; 54.62, CH ; 55.63, CH ; 60.90, CH ; 71.86 CH ; 73.70, CH ; 115.32, 2 x CH ; 126.21, CH ; 127.50, Cq ; 127.74, 2 x CH ; 129.42, 2 x CH ; 130.43, 2 x CH ; 136.72, Cq ; 156.23, Cq ; 168.93, Cq ; 169.18, Cq ; 169.18, Cq ; 170.18, Cq ; 170.39, Cq ; 171.72, Cq ; 171.96, Cq ; 172.50, Cq ; 173.82, Cq

Physical data of compound of formula (IX)

FT-MS (9.4 T APEX-III): Found: 969.5058; calc. for $\text{C}_{49}\text{H}_{70}\text{N}_8\text{O}_{11}+\text{Na}$; 969.5056.

^1H NMR (600 MHz) $\text{d}_6\text{-DMSO}$ δ_{H} : 0.53 (3H, d, J = 6.6 Hz), 0.73 (3H, d, J = 6.6 Hz), 0.74 (3H, d, J = 6.6 Hz), 0.81 (3H, d, J = 6.6 Hz), 0.86 (6H, d, J = 6.6 Hz), 1.08 (3H, d, J = 6.5 Hz), 1.20 (1H, m), 1.33 (3H, m), 1.52 (1H, m), 1.64 (1H, m), 1.80 (2H, m), 2.01 (1H, m), 2.04 (2H, m), 2.15 (4H, m), 2.25 (1H, m), 2.30 (1H, m), 2.74 (3H, s), 2.83 (1H, m), 3.12 (1H, m), 3.32 (1H, m), 3.38 (1H, m), 4.14 (1H, m), 4.27 (1H, m), 4.40 (1H, m), 4.59 (1H, m), 4.61 (1H, m), 4.94 (1H, m), 4.99 (1H, m), 5.10 (1H, m), 6.42 (2H, d, J = 8.8 Hz), 6.75 (1H, s), 7.04 (2H, d, J = 8.8 Hz), 7.10 (1H, t, J = 7.3 Hz), 7.15 (2H, t, J = 7.3 Hz), 7.23 (2H, d, J = 7.3 Hz), 7.30 (1H, s), 7.41 (1H, d, J = 9.5 Hz), 8.05 (1H, d, J = 9.5 Hz), 8.23 (1H, d, J = 8.1 Hz), 8.47 (1H, d, J = 4.4 Hz), 8.71 (1H, d, J = 10.2 Hz).
(signal of proton of hydroxy group of tyrosine not visible)

Physical data of compound of formula (X)

FT-MS (9.4 T APEX-III): Found: 955.4896; calc. for $\text{C}_{48}\text{H}_{68}\text{N}_8\text{O}_{11}+\text{Na}$; 955.4900.

^1H NMR (600 MHz) $\text{d}_6\text{-DMSO}$ δ_{H} : $\square_{\text{H}}$: no assignment of chemical shifts (mixture of rotameres, assignment of structure based on comparison of NMR data (missing N-methyl group) with NMR data of compound (IX).

Example 1.3: Production of compounds of formula (XV-XVI)

Strain: The *Chondromyces apiculatus* strain was isolated from a soil sample. The *Chondromyces* strain of the invention has been identified as a *Chondromyces apiculatus* based on the partial sequence of the 16S-RNA gene. *C. apiculatus* was assigned to biological risk group 1 by the DSMZ (DSMZ (2007)). *Chondromyces* is a genus in the family Polyangiaceae, which belongs to the order Myxococcales within the Delta-proteobacteria. Bacteria of the order Myxococcales, also called myxobacteria, are gram-negative rod-shaped bacteria with two characteristics distinguishing them from most other bacteria. They swarm on solid surfaces using an active gliding mechanism and aggregate to form fruiting bodies upon starvation (Kaiser (2003)).

The *Chondromyces robustus* strain of the invention has been deposited at the DSMZ under the accession number DSM 21595.

Cultivation:

Precultures were started by inoculation of 20 ml each (=20%) from a liquid culture of the *Chondromyces apiculatus* strain of the invention into 10x 100 ml of medium MD1 (adapted after Bode et al. 2003) in 500-ml baffled shake flasks. After 6 days of incubation at 30°C and 120 rpm on a rotary shaker the cultures with total volume of 1 L were transferred into a 50L Wave[®] bag together with 5 L of medium MD1. After 7 days of incubation in a BioWave 200 SPS reactor (Wave Biotec AG, Switzerland) 40 L of medium M7/14 were added to the bag to start the production. The culture was harvested after 19 days.

Extraction:

For harvesting the air in the headspace of the wave bag was removed with vacuum and the bag was hang up to allow sedimentation of the resin and the cells. After 1 hour of sedimentation 43 l of supernatant were removed and discarded. The residual 7 l containing the cells and the resin were frozen overnight. After thawing, cells and resin were gained by filtration through a paper filter. The filtrate was discarded. The cell/resin pellet (wet weight approximately 3 kg) was transferred into a metal vessel and extracted two times with 15 l ethyl acetate, with 5 minutes turaxing during the first extraction. The mixtures of both batches were separated through a paper filtration and the filtrates then unified. After separating the organic solvent phase from the water phase the solvent phase was washed with 2 l of pure water and then evaporated until dry. The water phases were discarded.

Compound isolation: The extract (5g) was dissolved in dichloromethane/methanol 4:1. The solution was filtered and the filtrate was adsorbed on diatom (2g diatom / 1 g extract, Isolute[®], International Sorbent Technology Ltd., Hengoed Mid Glam, UK) followed by evaporation. The solid residue was loaded on a pre-packed silica gel column (4x18cm, 100 g silica gel 40-63) and eluted with a gradient of cyclohexane, ethyl acetate and methanol. The gradient is shown in Table 2, the flow rate was 28 ml/min. Fractions volumes of 28 ml were collected. The fractions were combined according to the peaks visible in the UV-trace. The fraction containing the cyclic depsipeptides of the invention were further purified using reversed-phase chromatography (Waters Sunfire RP18 10 μ m, 30x150 mm) using 0.01% formic acid (solvent A), and acetonitrile containing 0.1% formic acid (solvent B) as solvents. The flow rate was 50 mL/min. The gradient is shown in Table 1. For injection the material was dissolved in 1.6 mL MeOH/DMSO 1:1. The collected fractions were analyzed by HPLC, fractions containing the cyclic depsipeptides of the invention were combined and evaporated in vacuum to dryness. The chromatography of the extract yielded in 7 mg pure cyclic depsipeptide according to formula (XV) and 1.2 g pure cyclic depsipeptide according to formula (XVI)

Media

Table 8

MD1 (pre-culture medium)

Substance	Concentration [g/L]
Casitone	3
CaCl ₂ x 2 H ₂ O	0.5
MgSO ₄ x 7 H ₂ O	2
D(+)-Glucose water free	1
Cyanocobalamine	0.5 mg
Antifoam B	0.2 mL
Ferrioxamine solution [100ng/mL]	1 mL

(Adjusted to pH 7.0 with 50mM HEPES)

Table 9**M7/14 (production medium)**

Substance	Concentration [g/L]
Yeast extract	1
CaCl ₂ x 2 H ₂ O	1
MgSO ₄ x 7 H ₂ O	1
Potato starch	5
HEPES	12
Potato protein	5
D(+)-Glucose water free	2
Cyanocobalamine	0.1 mg
Antifoam B	0.2 mL
Ferrioxamine solution [100ng/mL]	3 mL
XAD-16 resin	35

(Adjusted to pH 7.4)

Characterization of compounds:

Physical data of compound of formula (XV)

FT-MS (9.4 T APEX-III): Found: 1014.5272; calc. for C₅₀H₇₃N₉O₁₂+Na:1014.5276.

¹H NMR (600 MHz) d₆-DMSO δ_H: 0.72 (3H, d, J = 6.6 Hz), 0.82 (3H, d, J = 6.6 Hz), 0.85 (6H, d, J = 6.6 Hz), 1.01 (1H, m), 1.02 (6H, d, J = 6.6 Hz), 1.17 (3H, d, J = 6.6 Hz), 1.21 (1H, m), 1.31 (1H, m), 1.36 (2H, m), 1.42 (1H, m), 1.49 (1H, m), 1.54 (1H, m), 1.56 (1H, m), 1.69 (3H, m), 1.79 (1H, m), 1.81 (1H, m), 2.40 (1H, m), 2.48 (1H, m), 2.73 (1H, m), 2.76 (3H, s), 2.87 (1H, m), 2.91 (1H, m), 2.98 (1H, m), 3.10 (1H, m), 3.63 (1H, m), 4.22 (1H, m), 4.42 (1H, td, J = 8.1, 5.1 Hz), 4.58 (1H, m), 4.75 (2H, m), 4.90 (1H, m), 5.06 (1H, m), 5.38 (1H, m), 5.42 (2H, broad), 5.96 (1H, t, J = 5.5

Hz), 6.06 (1H, s, broad), 6.78 (2H, d, J = 8.1 Hz), 6.83 (2H, d, J = 7.3 Hz), 7.00 (2H, d, J = 8.1 Hz), 7.10 (1H, d, J = 9.5 Hz), 7.14 (1H, t, J = 7.3 Hz), 7.19 (2H, t, J = 7.3 Hz), 7.46 (1H, d, J = 9.5 Hz), 7.77 (1H, d, J = 9.5 Hz), 7.97 (1H, d, J = 8.1 Hz), 8.37 (1H, d, J = 8.8 Hz), 9.50 (1H, s, broad)

Physical data of compound of formula (XVI)

ESI-MS: pos. mode: m/z = 1004.4 (M+Na), neg. Mode: m/z = 976.5 (M-H); monoisotopic MW 977.5, C₄₉H₇₁N₉O₁₂

¹H NMR (600 MHz) d₆-DMSO δ_H: 0.72 (6H, d, J = 6.6 Hz), 0.85 (3H, d, J = 6.6 Hz), 0.87 (3H, d, J = 6.6 Hz), 1.01 (6H, d, J = 6.6 Hz), 1.17 (3H, d, J = 6.6 Hz), 1.30 (1H, m), 1.35 (2H, m), 1.43 (1H, m), 1.48 (1H, m), 1.56 (1H, m), 1.57 (1H, m), 1.69 (1H, m), 1.71 (2H, m), 1.79 (1H, m), 2.08 (1H, m), 2.41 (1H, m), 2.48 (1H, m), 2.77 (3H, s), 2.87 (1H, m), 2.92 (1H, m), 2.98 (1H, m), 3.09 (1H, m), 3.63 (1H, m), 4.22 (1H, m), 4.42 (1H, td, J = 8.1, 5.1 Hz), 4.57 (1H, m), 4.74 (1H, m), 4.76 (1H, m), 4.91 (1H, m), 5.06 (1H, s), 5.39 (1H, m), 5.43 (2H, s, broad), 5.96 (1H, t, J = 5.5 Hz), 6.07 (1H, s, broad), 6.78 (2H, d, J = 8.1 Hz), 6.84 (2H, d, J = 7.3 Hz), 7.00 (2H, d, J = 8.1 Hz), 7.11 (1H, d, J = 9.5 Hz), 7.15 (1H, t, J = 7.3 Hz), 7.19 (2H, t, J = 7.3 Hz), 7.42 (1H, d, J = 9.5 Hz), 7.78 (1H, d, J = 9.5 Hz), 7.98 (1H, d, J = 8.1 Hz), 8.39 (1H, d, J = 8.8 Hz), 9.52 (1H, s, broad)

Example 2: Determination of Biological Activity in vitro

The compounds of the present invention, e.g. including a compound of formula II-X, exhibit pharmacological activity and are therefore useful as pharmaceuticals. E.g., the compounds of the present invention are found to inhibit Kallikrein-7 activity and HNE activity.

Compounds of the present invention have IC₅₀ values between 1 nM and 10 μM as determined in the following assay:

Example 2.1: Kallikrein-7 inhibitory activity in vitro

Materials and buffers

The fluorescence-quenched substrate Ac-Glu-Asp(EDANS)-Lys-Pro-Ile-Leu-Phe[^]Arg-Leu-Gly-Lys(DABCYL)-Glu-NH₂ (where [^] indicates the scissile bond, identified by MS analysis) is purchased from Biosyntan (Berlin, Germany) and kept as a 5 mM stock solution in DMSO at -20°C. All other chemicals are of analytical grade.

Enzymatic reactions are conducted in 50 mM sodium citrate buffer at pH 5.6 containing 150 mM NaCl and 0.05 % (w/v) CHAPS.

All protein and peptide containing solutions are handled in siliconized tubes (Life Systems Design, Merenschwand, Switzerland). The compound solutions as well as the enzyme and the substrate solutions are transferred to the 384-well plates (black Cliniplate; cat. no. 95040020 Labsystems Oy, Finland) by means of a CyBi-Well 96-channel pipettor (CyBio AG, Jena, Germany).

Instrumentation for FI measurements

For fluorescence intensity (FI) measurements an Ultra Evolution reader (TECAN, Maennedorf, Switzerland) is used. The instrument is equipped with a combination of a 350 nm (20 nm bandwidth) and a 500 nm (25 nm bandwidth) bandpass filter for fluorescence excitation and emission acquisition, respectively. To increase the signal:background ratio, an appropriate dichroic mirror is employed. The optical filters and the dichroic mirror are purchased from TECAN. The fluorophores in each well are excited by three flashes per measurement.

Determination of IC₅₀ values

For the determination of IC₅₀ values the assay is performed at room temperature in 384-well plates. All final assay volumes were 30 µl. Test compounds are dissolved in 90 % (v/v) DMSO/water and diluted in water (containing 0.05 % (w/v) CHAPS) to 3-times the desired assay concentration. The 11 final compound concentrations are: 0.3 nM, 1 nM, 3 nM, 10 nM, 30 nM, 100 nM, 300 nM, 1 µM, 3 µM, 10 µM and 30 µM. For each assay, 10 µl water/CHAPS (± test compound) are added per well, followed by 10 µl protease solution (diluted with 1.5x assay buffer). The protease concentration in final assay solution is 0.2 nM (according to the enzyme concentrations determined by the Bradford method). After 1 hour of incubation at room temperature, the reaction is started by addition of 10 µl substrate solution (substrate dissolved in 1.5x assay buffer, final concentration was 2 µM). The effect of the compound on the enzymatic activity is obtained from the linear progress curves and determined from two readings, the first one taken directly after the addition of substrate and the second one after 1 hour. The IC₅₀ value is calculated from the plot of percentage of inhibition vs. inhibitor concentration using non-linear regression analysis software (XLfit, Vers. 4.0; ID Business Solution Ltd., Guildford, Surrey, UK).

The cyclic depsipeptides inhibited hKallikrein7 with IC₅₀ values as indicated in table 11.

Table 10

	Cyclic depsipeptide according to formula (II)	Cyclic depsipeptide according to formula (III)
Enzyme	IC ₅₀ μ M	IC ₅₀ μ M
hKallikrein7	0.001	0.0004

Table 11

Cyclic depsipeptide according to formula:	human neutrophile elastase IC 50 [μ M]	hKallikrein7 IC 50 [μ M]
formula II	0.01	0.001
formula III	0.01	0.0004
formula IV	0.07	0.005
formula V	0.06	0.006
formula IX	0.01	0.001
formula X	0.2	0.02
formula XII	0.05	0.004
formula XIII	0.03	0.0007
formula XIV	2.7	0.2
formula XV	0.08	0.004
example 4	0.055	0.006
example 5	0.005	0.008
example 6	0.055	0.095
example 7	0.006	0.050
example 9	0.003	0.002
example 10	0.009	0.0035
example 11	0.012	0.006
example 12	0.006	0.0085
example 13	0.004	0.006
example 14	0.005	0.01
example 15	0.005	0.015

example 16	0.005	0.015
example 17	0.0075	0.003
example 18	0.0025	0.005
example 19	0.0135	0.0065
example 20	0.008	0.0015
example 21	0.009	0.0025
example 22	0.04	0.006
example 23	0.003	0.005
example 24	0.004	0.007
example 25	0.0025	0.00375
example 26	0.0045	0.00085
example 27	0.02	0.003
example 28	0.03	0.0025
example 29	0.025	0.003
example 30	4.55	1.05
example 31	0.3	0.2
example 32	0.03	0.1
example 33	0.035	0.0045
example 34	0.005	0.004
example 35	0.003	0.0085
example 36	0.0035	0.0085
example 37	0.0025	0.0045
example 38	0.0015	0.004
example 39	0.0035	0.0085
example 40	0.0025	0.0065
example 41	0.001	0.002
example 42	0.001	0.001
example 43	0.001	0.0002
example 44	0.009	0.0035
example 45	0.003	0.002
example 46	0.1	0.01
example 47	0.01	0.1

Example 2.2: HNE inhibitory activity in vitro**Materials and buffers**

Human neutrophil elastase (cat. no. SE563) is purchased from Elastin Products Company, Inc. (EPC, Owensville, USA). The dry powder (purity > 95 % stated by the supplier) was dissolved in 20 mM sodium acetate buffer, pH 5.0, 50 % (v/v) glycerol, and frozen at – 80 °C in aliquots.

The fluorescence-quenched substrate (DABCYL-Ser-Glu-Val[^]Asn-Leu-Asp-Ala-Glu-Phe-EDANS, where [^] indicates the scissile bond, identified by MS analysis) was purchased from Bachem AG (Bubendorf, Switzerland), and kept as a 5 mM stock solution in DMSO at - 20 °C.

All other chemicals were of analytical grade.

Enzymatic reactions were conducted in 100 mM Tris/HCl buffer at pH 7.5, containing 500 mM NaCl, and 0.05 % (w/v) CHAPS.

All protein and peptide containing solutions are handled in siliconized tubes (Life Systems Design, Merenschwand, Switzerland).

The compound solutions as well as the enzyme and the substrate solutions are transferred to the 384-well plates (black Cliniplate; cat. no. 95040020 Labsystems Oy, Finland) by means of a CyBio-Well 96-channel pipettor (CyBio AG, Jena, Germany).

Instrumentation for FI measurements

For fluorescence intensity (FI) measurements an Ultra Evolution reader (TECAN, Maennedorf, Switzerland) is used. The instrument is equipped with a combination of a 350 nm (20 nm bandwidth) and a 500 nm (25 nm bandwidth) bandpass filter for fluorescence excitation and emission acquisition, respectively. To increase the signal:background ratio, an appropriate dichroic mirror is employed. The optical filters and the dichroic mirror are purchased from TECAN. The fluorophores in each well are excited by three flashes per measurement.

The cyclic depsipeptides inhibited human neutrophile elastase with IC₅₀ values as indicated in table 11.

In addition the cyclic depsipeptides inhibited human chymotrypsin with an IC₅₀ ranging from 0.001 μ M to 0.02 μ M.

The biological activity of the cyclic depsipeptide according to formula (VIII) was determined with kallikrein 7. This cyclic depsipeptide of the invention inhibits human kallikrein 7 with an IC₅₀ of less than 3 nM. This cyclic depsipeptide inhibited human chymotrypsin and human neutrophil elastase with an IC₅₀ around 0.004 μ M and around 0.0025 μ M, respectively.

Example 3: Determination of Kallikrein-7 inhibitory activity in vivo

A) Test on recovery of skin barrier disruption in mice

Method: Skin barrier disruption was achieved in groups of hairless SKH1 mice with repeated stripping of the skin with S-Sqame[®] skin sampling disks. The procedure was completed when transepidermal water loss (TEWL) achieved ≥ 40 mg/cm²/h. TEWL was assessed with a Tewameter TM210 (Courage Khazaka, Cologne, DE). Immediately after barrier disruption 30 μ l the test compound was applied at 10 mM concentration. Control animals were treated similarly with the solvent (ethanol / propylene glycol, 3/7 (v/v)) alone. TEWL was measured before, immediately after, and at 3 hrs after barrier disruption. In each animal, the percentage recovery was calculated using the formula: $(1 - [\text{TEWL at 3 hrs} - \text{base line TEWL}] / [\text{TEWL immediately after stripping} - \text{base line TEWL}]) \times 100\%$.

Results:

A single application of the test compound (the Cyclic depsipeptide according to formula II) accelerated barrier repair by 57% compared to repair in mice treated with the solvent alone ($p < 0.05$), Table 12.

Table 12

Animals	% Recovery in barrier disruption
	Mean (SD values), n: 4 animals per group
Treated with test compound (the Cyclic	72.0 (9.1)

depsipeptide according to formula II) at 10 mM	
Treated with solvent alone	45.8 (8.0)

B) Test on anti-inflammatory activity in murine model of allergic contact dermatitis (ACD)

Method: Crl:NMRI mice were sensitized on the shaved abdomen with 50 µl of 2% oxazolone on day 1 and challenged with 10 µl oxazolone on the inner surface of the right ear on day 8. The unchallenged left ears served as normal controls and dermatitis was evaluated from the difference in auricular weight (taken as a measure of inflammatory swelling) on day 9. The animals were treated topically with 10 µl test compound or the solvent only 30 min after the challenge. The efficacy of the treatment was calculated as the percentage inhibition of inflammatory auricular swelling relative to animals treated with the vehicle alone.

Results: A single application of the test compound (the Cyclic depsipeptide according to formula II) inhibited inflammatory swelling in ACD by 40% at 10 mM) and by 46% at 30 mM concentration ($p < 0.001$ vs solvent-treated animals (Table 13/14).

Table 13

Animals	Δ Auricular weights Mean (SD), n: 8 animals per group	% Inhibition of inflammatory swelling Mean ± SE
Treated with test compound (the Cyclic depsipeptide according to formula II) at 30 mM	15.3 (5.4)	46 ± 7.5
Treated with test compound (the Cyclic depsipeptide according to formula II) at 10 mM	17.0 (4.8)	40 ± 6.9
Treated with solvent ⁺ alone	28.1 (4.6)	-

+: mixture of dimethylacetamide/ethanol/acetone (1/2/2)

Table 14

	% Inhibition of inflammatory swelling	% Inhibition of inflammatory swelling
	concentration of test compound	concentration of test compound
Compound according to formula	30 mM	10 mM
example 9	38	42
example 10	25	22
example 23	40	48
example 25	38	39
example 43	55	42

C) Test on anti-inflammatory activity in swine model of allergic contact dermatitis (ACD)

Eight days before the elicitation of the ACD, 500 μ l of 10% 2, 4-dinitrofluorobenzene (DNFB, dissolved in DMSO / acetone / olive oil [1/5/3, v/v/v]) were applied epicutaneously in divided volumes onto the basis of both ears and onto both groins (100 μ l / site) for sensitization. The challenge reactions were elicited with 15 μ l of DNFB (1.0%) on contralateral test sites (each 7 cm² in size) of the shaved dorsolateral back. For treatment, the test compound and the placebo (solvent only) were applied contralaterally to 2 test sites in each animal 0.5 and 6 hrs after the challenge. The test sites were clinically examined 24 hrs after the challenge when inflammation peaked. The changes were scored on a scale from 0 to 4 (Table 15), allowing a combined maximal score of 12 per designated site. Skin reddening was measured reflectometrically using a* values.

Table 15 Scoring of clinical signs of test sites affected with ACD

Score	Erythema/Intensity	Erythema / Extent	Induration
0	absent	absent	absent
1	scarcely visible	small spotted	scarcely palpable
2	mild	large spotted	mild hardening
3	pronounced	confluent	pronounced hardening
4	severe (or livid discoloring)	homogenous redness	pronounced and elevated hardening

Results: Treatment of test sites affected with ACD twice with a 1% solution of the test compound (the Cyclic depsipeptide according to formula II) inhibited clinical inflammatory changes by 30% ($p < 0.01$) and measured skin redness by 27% ($p < 0.05$) (Table 16)

Table 16

Test sites	Clinical score (Mean, SD, n: 8+)	A* value (Mean, SD, n: 8+)
Treated with 1% test compound (the Cyclic depsipeptide according to formula II)	5.1 (1.7)	8.6 (1.4)
Treated with placebo (solvent)	7.2 (1.9)	12.0 (2.5)
Inhibition vs placebo-treated sites	29.9 (11.7)	27.0 (2.5)

+: 2 test sites each in 4 animals

Example 4: Derivatisation of a cyclic depsipeptide of the invention

a) One-step procedure: To a solution of 20 mg of cyclic depsipeptide according to formula (II) and 0.027 mL triethylsilane in 2 mL of dichloromethane/acetonitrile (1:1) at -50 °C 0.014 mL of boron trifluoride etherate were slowly added. The reaction mixture was allowed to warm up to -5 °C and kept at this temperature for additional 30 minutes, poured into a saturated NaHCO₃ solution, and was extracted with EtOAc. The organic layer was dried over sodium sulfate and the solvent was removed in vacuo. Purification of the residue obtained by HPLC (XTerra [5cm]; acetonitrile/ammonium carbonate buffer pH10 gradient) provided 9.8 mg of a derivative of the cyclic depsipeptide according to formula (II) wherein the Ahp has been converted into 3-amino-piperidin-2-one. ESI MS: 935.36 [M+Na]⁺.

b) Two-step procedure: To a solution of 1 g of cyclic depsipeptide according to formula (II) in 300 mL of dichloromethane/acetonitrile (1:1) at -50 °C 0.68 mL of boron trifluoride etherate were slowly added. The reaction mixture was allowed to warm up to -20 °C. Then additional 0.68 mL of boron trifluoride etherate were slowly added the reaction mixture kept at this temperature until no more starting material could be observed (HPLC). Then the reaction mixture was poured into a saturated NaHCO₃ solution, and was extracted with EtOAc. The organic layer was dried over

sodium sulfate and the solvent was removed in vacuo providing a derivative of the cyclic depsipeptide according to formula (II) wherein the Ahp has been converted into 3-amino-3,4-dihydro-1H-pyridin-2-one. ESI MS: 933.28 $[M+Na]^+$.

The crude material was dissolved in 400 mL of 2-propanol, 115 mg of Pd/C (10%) were added and the mixture was hydrogenated under atmospheric pressure until the starting material was consumed (HPLC). The residue obtained was purified by chromatography (SiO_2 ; cHex/EtOAc (1:1) + 10% MeOH) providing 684 mg of the cyclic depsipeptide according to formula (II) wherein the Ahp has been converted into 3-amino-piperidine-2-one.

Example 5: Derivatisation of a cyclic depsipeptide of the invention

To a solution of 75 mg (0.081 mmol) of cyclic depsipeptide according to formula (II) in 5 mL of 1-PrOH 30 μ L of sulfuric acid were added and the reaction mixture was stirred at r.t. for 48 hours. For workup the reaction mixture was diluted with dichloromethane and washed with sat. bicarbonate solution. After drying of the organic layer over sodium sulfate the solvent was removed and the residue obtained purified by chromatography on silica gel (cHex/EtOAc (1:1) + 10% MeOH). Yield: 65 mg (83%) of a derivative of the cyclic depsipeptide according to formula (II) wherein the Ahp has been converted into 3-amino-6-propoxy-piperidin-2-one. ESI MS: 993.37 $[M+Na]^+$.

Similarly, treatment with the corresponding alcohol provided the following compounds:

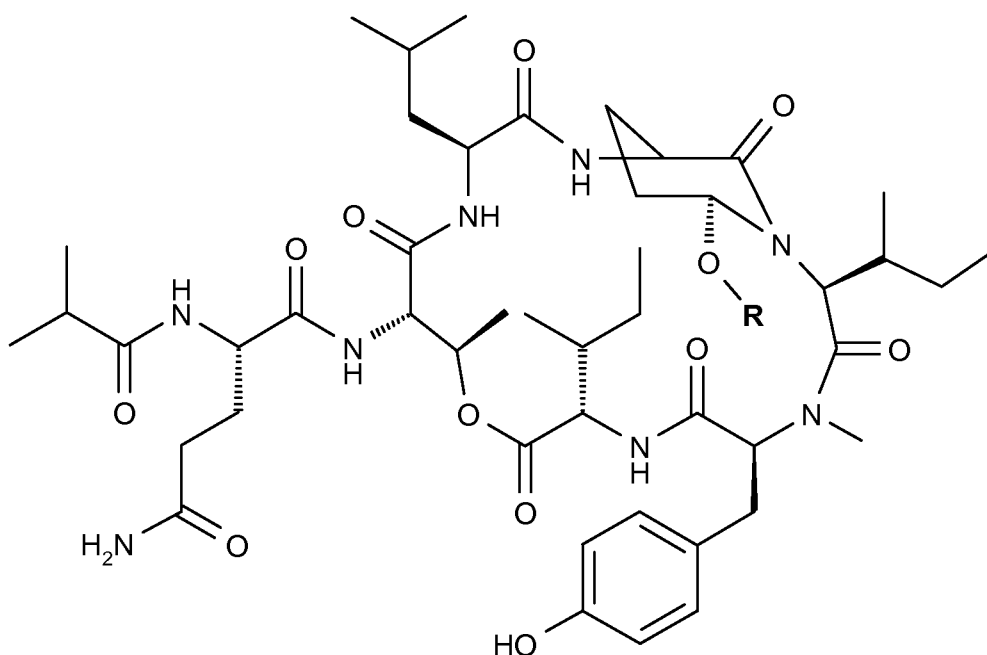


Table 17

Example	R	ESI MS [M+Na] ⁺
6	1-octyl	1063.41
7	2,2,2-trifluoroethyl	1033.30
8	2-propyl	993.43
9	benzyl	1041.16
10	ethyl	979.22
11	1-butyl	1007.29
12	isobutyl	1007.35
13	2-methoxyethyl	1009.31
14	2-hydroxyethyl	995.28
15	2-(2-hydroxyethoxy)ethyl	1039.31
16	2-(2-methoxyethoxy)ethyl	1053.33
17	methyl	965.27
18	propargyl	989.21

Simultaneously, compounds of the following type were obtained under the same conditions:

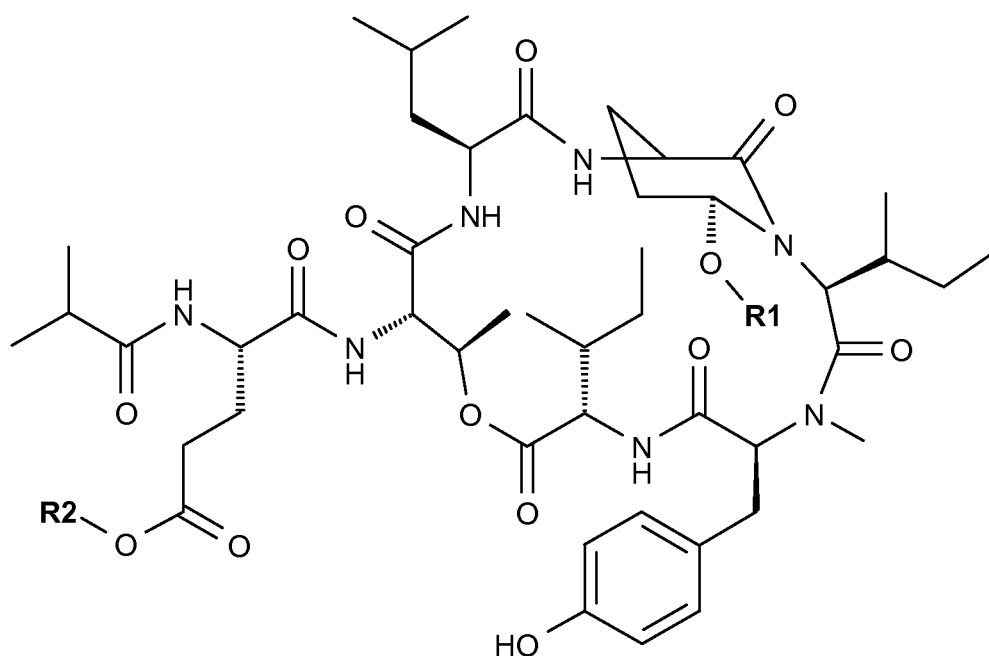


Table 18

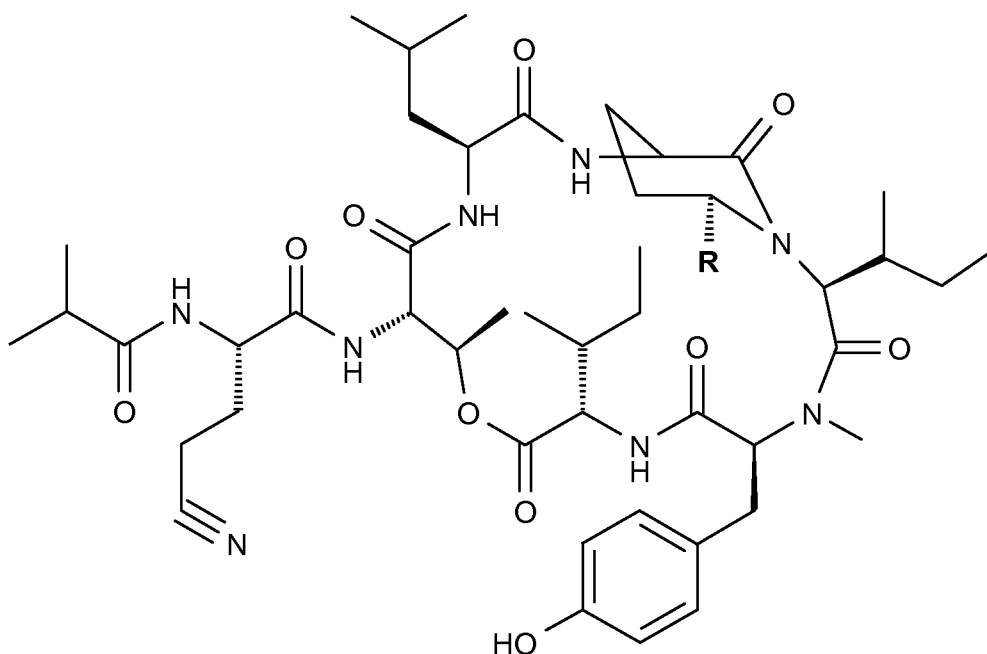
Example	R1, R2	ESI MS [M+Na] ⁺
19	1-propyl	1136.33

20	methyl	980.21
----	--------	--------

Example 21: Derivatisation of a cyclic depsipeptide of the invention

A solution of 25 mg (0.027 mmol) of cyclic depsipeptide according to formula (II) in 2 mL of dichloromethane was cooled to 0 °C. Then DIPEA and trifluoroacetic acid anhydride (TFAA) was added. The reaction mixture was slowly warmed up to room temperature and stirred for additional 4 hours. For workup the reaction mixture was diluted with dichloromethane and washed with hydrochloric acid and sat. bicarbonate solution. After drying over sodium sulfate the solvent was removed and the residue obtained purified by chromatography on silica gel (cHex/EtOAc (1:1) + 10% MeOH). Yield: 14 mg (57%) of a derivative of the cyclic depsipeptide according to formula (II) wherein the amide in the sidechain of A1 has been converted into a nitrile. ESI MS: 933.30 $[M+Na]^+$.

Similarly, compounds of the following type was obtained:

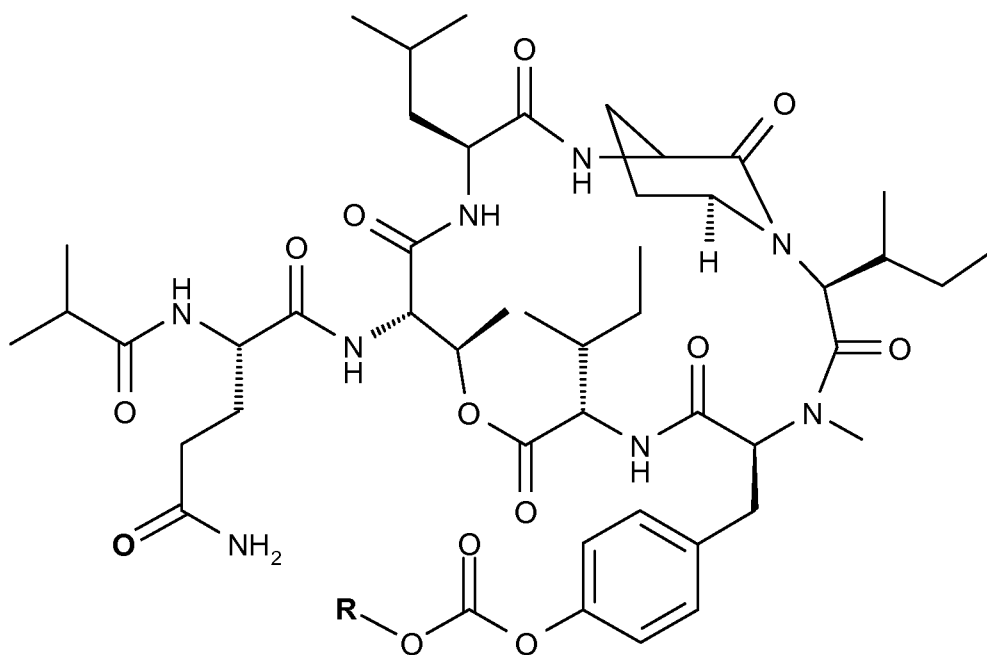
**Table 19**

Example	R	ESI MS $[M+Na]^+$
22	H	917.30
23	ethyl	961.20
24	1-propyl	975.29
25	benzyl	1023.14

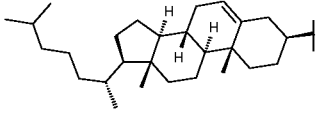
Example 26: Derivatisation of a cyclic depsipeptide of the invention

A solution of 25 mg (0.027 mmol) of a cyclic depsipeptide according to formula (II) in 2 mL of dichloromethane (MC) was cooled to 0 °C. Then 24 µL of DIPEA and 14 µL of hexyl chloroformate was slowly added. The reaction mixture was allowed to warm up to rt and stirred for additional 4 hours. For workup the reaction mixture was diluted with dichloromethane and washed with hydrochloric acid and sat. bicarbonate solution, and brine. After drying over sodium sulfate the solvent was removed and the residue obtained purified by chromatography on silica gel (cHex/EtOAc (1:1) + 10% MeOH). Yield: 20 mg (70%) of a derivative of the cyclic depsipeptide according to formula (II) wherein the phenol moiety of A6 has been transformed into the corresponding carbonic acid hexyl ester. ESI MS: 1079.41 [M+Na]⁺.

Analogously, using a compound described in Example 4 as starting material the following compounds were obtained:

**Table 20**

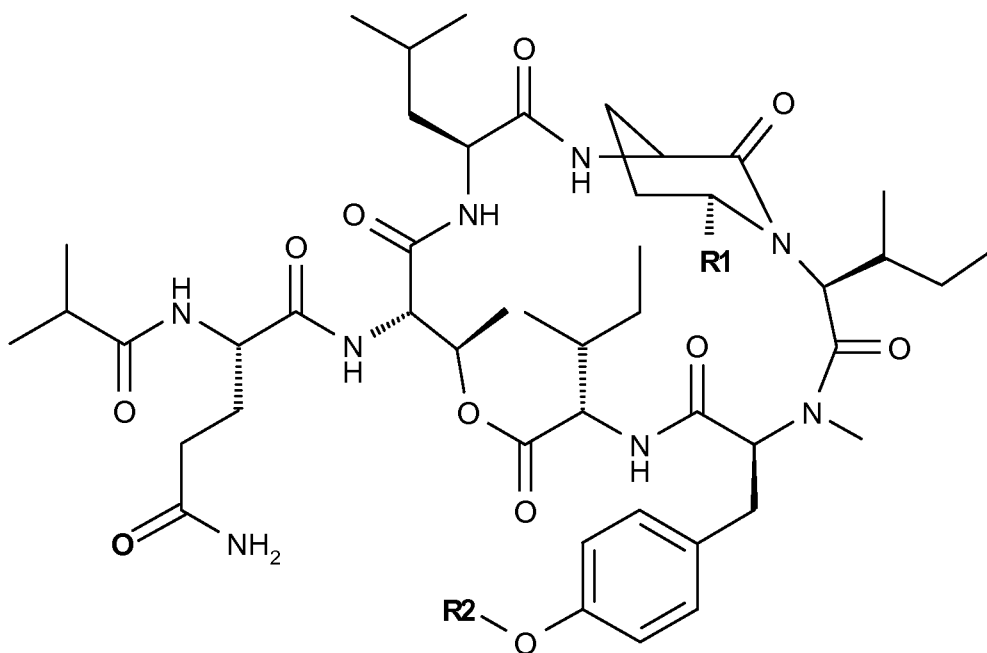
Example	R	ESI MS [M+Na] ⁺
27	isobutyl	1035.38
28	2-methoxyethyl	1037.36

29	ethyl	1007.35
30		1347.63
31	1-octyl	1091.42

Example 32: Derivatisation of a cyclic depsipeptide of the invention

To a mixture of 200 mg (0.21 mmol) of cyclic depsipeptide according Example 5, 57.5 mg (0.41 mmol) of K_2CO_3 in 2 mL of dry acetone 60.5 mg (0.31 mmol) of (E)-3-phenyl-2-propenyl bromide was added and treated with ultrasound overnight (temperature raises to about 50 °C). For workup the reaction mixture was diluted with dichloromethane and washed with water. After drying of the organic layer over sodium sulfate the solvent was removed and the residue obtained purified by HPLC (15 cm Zorbax; acetonitrile/aqu. NH_4OAc buffer: 20→95%). Yield: 100 mg (45%) of a derivative of cyclic depsipeptide according Example 5 featuring O-((E)-3-phenyl-2-propen-1-yl)-L-tyrosine in A6. ESI MS: 1109.37 $[M+Na]^+$.

Analogously, treatment of cyclic depsipeptides according Example 4 or 5 with the appropriate alkylating agent provide the following compounds:

**Table 21**

Example	R1	R2	ESI MS [M+Na] ⁺
33	H	t-butoxycarbonylmethyl	1049.33
34	propoxy	t-butoxycarbonylmethyl	1107.33
35	propoxy	1-(E)-pent-2-enyl	1061.36
36	propoxy	1-(E)-4,4,4-trifluoro-but-2-enyl	1101.25
37	propoxy	methyl	1007.29
38	propoxy	3-methyl-but-2-enyl	1061.36
39	propoxy	benzyl	1083.38
40	propoxy	allyl	1033.37
41	propoxy	propargyl	1031.25

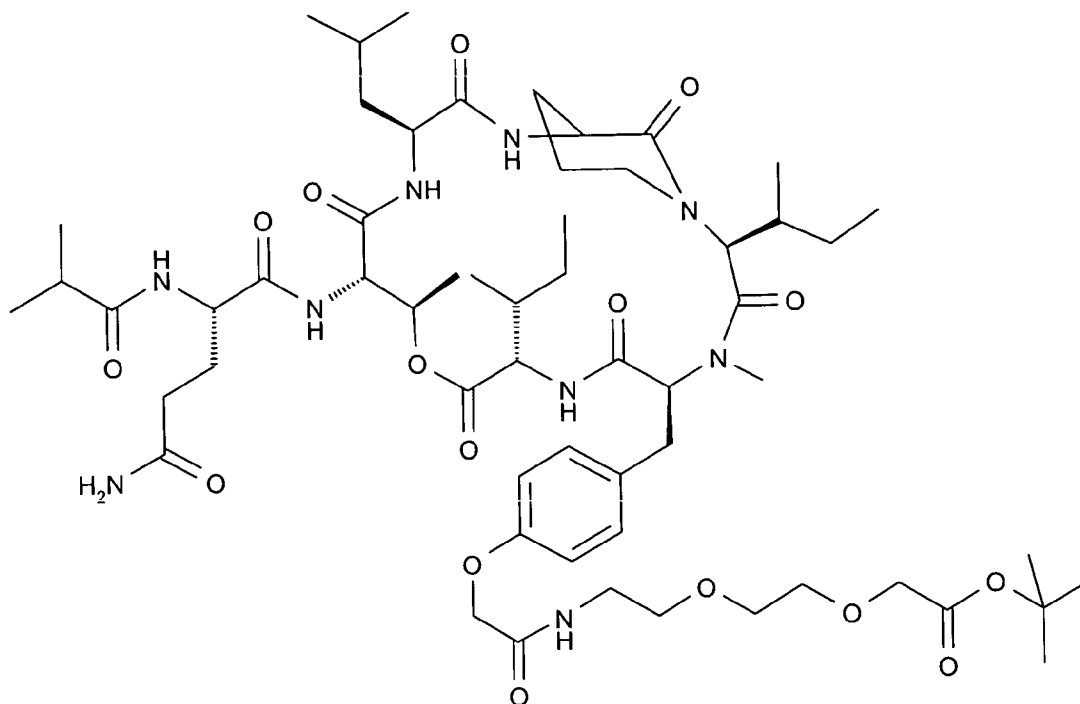
Example 42: Derivatisation of a cyclic depsipeptide of the invention

To a mixture of 200 mg (0.21 mmol) of cyclic depsipeptide according Example 5, 46.5 mg (0.31 mmol) of sodium iodide, and 57.5 mg (0.41 mmol) of K₂CO₃ in 2 mL of dry acetone 44 mg (0.31 mmol) of 3-(chloromethyl)-1,5-dimethyl-1H-pyrazole was added and treated with ultrasound overnight (temperature raises to about 50 °C). For workup the reaction mixture was diluted with dichloromethane and washed with water. After drying of the organic layer over sodium sulfate the solvent was removed and the residue obtained purified by HPLC (15 cm Zorbax; acetonitrile/aqu. NH₄OAc buffer: 20→95%). Yield: 90 mg (40.5%) of a derivative of cyclic depsipeptide according Example 5 featuring O-(1,5-dimethyl-1H-pyrazol-3-yl)methyl-L-tyrosine in A6. ESI MS: 1101.39 [M+Na]⁺.

Example 43:

Analogously, treatment of cyclic depsipeptide of cyclic depsipeptide according to formula (II) with 3-(chloromethyl)-1,5-dimethyl-1H-pyrazole provides a compound featuring O-(1,5-dimethyl-1H-pyrazol-3-yl)methyl-L-tyrosine in A6. ESI MS: 1059.19 [M+Na]⁺.

Example 44: Derivatisation of a cyclic depsipeptide of the invention



To a solution of 17 mg (0.0165 mmol) of cyclic depsipeptide according Example 33 in 2 mL of dichloromethane 845 μ L of trifluoroacetic acid was added and stirred at r.t. for 4 hours. The reaction mixture was diluted with toluene and the solvent was removed in vacuo providing 22.5 mg of the corresponding crude acid.

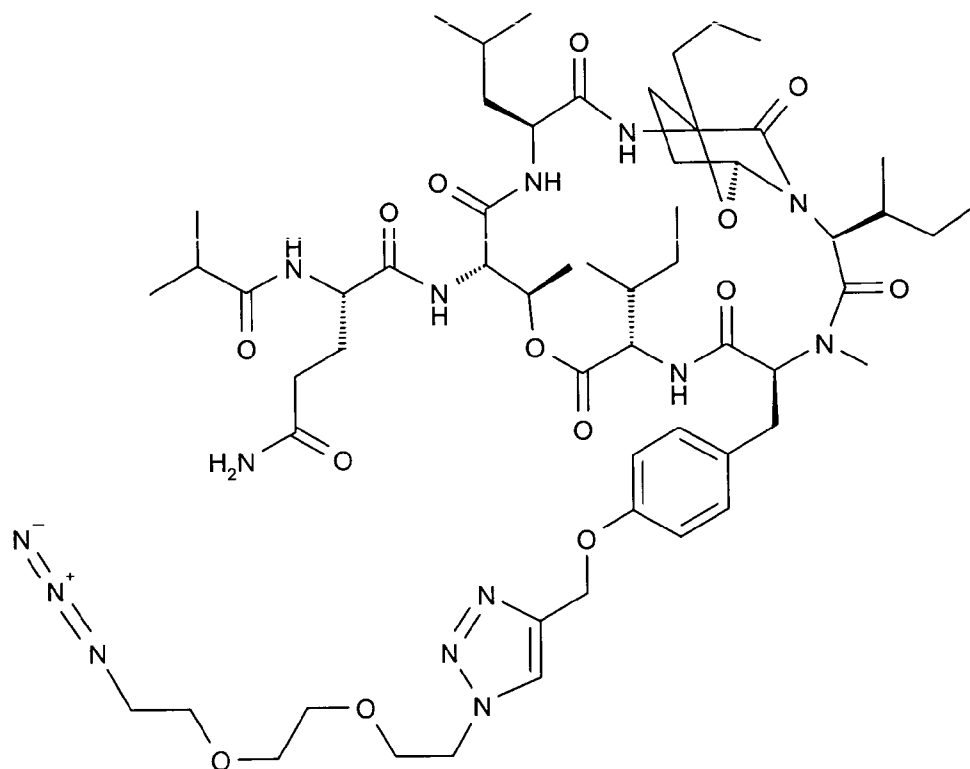
20 mg of the aforementioned acid, 6.81 mg (0.031 mmol) of 8-amino-3,6-dioxaoctanoic acid tert-butylester, and 15.8 mg (0.041 mmol) of HATU were dissolved in 2 mL of dry DMF and 11 μ L of DIEPA were added and stirred at r.t. overnight. For workup, the reaction mixture was diluted with EtOAc and washed with sat. NaHSO₄ and NaHCO₃ solutions and brine. After drying of the organic layer over sodium sulfate the solvent was removed and the residue obtained purified by HPLC (15 cm Zorbax; acetonitrile/aqu. NH₄OAc buffer: 20 $\rightarrow$ 95%). Yield: 7 mg (29%) of the title compound. ESI MS: 1194.32 [M+Na]⁺.

8-Amino-3,6-dioxaoctanoic acid tert-butylester

100 mg (0.226 mmol) of 8-(9-Fluorenylmethoxycarbonylamino)-3,6-dioxaoctanoic acid tert-butylester in 1 mL of dry DMF were treated with piperidine (89.5 μ L; 0.862 mmol) at r.t. for 3 hours. The solvent was evaporated and the residue purified by chromatography on silica gel with a gradient cHex $\rightarrow$ EtOAc $\rightarrow$ EtOAc/MeOH(1:1) + 3% MeOH. Yield: 12 mg (24%) of the title compound. ESI MS: 220.08 [M+H]⁺.

8-(9-Fluorenylmethoxycarbonylamino)-3,6-dioxaoctanoic acid tert-butylester

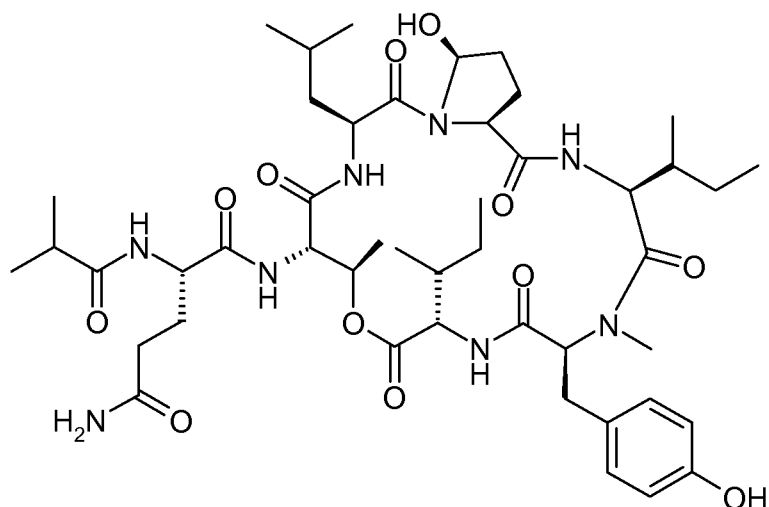
A solution of 150 mg (0.389 mmol) of 8-(9-Fluorenylmethoxycarbonylamino)-3,6-dioxaoctanoic acid, 546 mg (9.73 mmol) isobutylene, and 4.3 μL of 95-98% H_2SO_4 was stirred at r.t. for 3 days. For workup the reaction solution was diluted with dichloromethane and washed with sat. bicarbonate solution. After drying over sodium sulfate the solvent was removed and the residue obtained purified by chromatography on silica gel with a cHex/EtOAc gradient providing 145 mg (84.4%) of the title compound. ESI MS: 464.12 $[\text{M}+\text{Na}]^+$.

Example 45: Derivatisation of a cyclic depsipeptide of the invention

To a mixture of 101 mg (0.1 mmol) of a compound of Example 41 and 40 mg CuI in 11 ml of toluene/DMF (10:1) 50 μL of DIEPA and 1 mL of a 1M solution of 1-azido-2-[2-(2-azido-ethoxy)-ethoxy]-ethane was added and stirred at 45 $^{\circ}\text{C}$ for 6 hours. Then the reaction mixture was washed with a sat. NaH_2PO_4 solution, dried over sodium sulfate, and the solvent was evaporated. The residue obtained was purified by chromatography (SiO_2 ; cHex/EtOAc (1:1) + 20% MeOH) providing 14 mg (11.7%) of the title compound. ESI MS: 1231.34 $[\text{M}+\text{Na}]^+$.

Example 46: Derivatisation of a cyclic depsipeptide of the invention

87



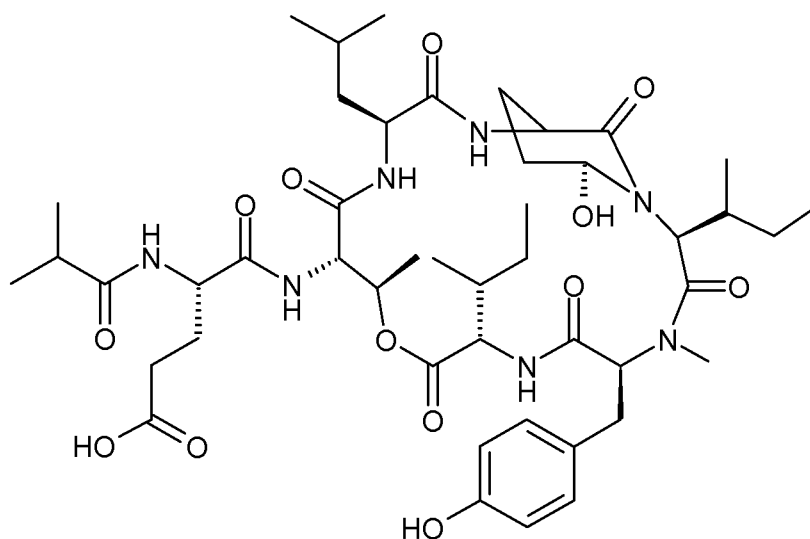
A solution of 25 mg of depsipeptide according to formula (II) in 25 mL water was stirred at room temperature. In this solution an additional peak was observed in HPLC analysis, which forms an equilibrium with the depsipeptide according to formula (II). After 20 days the solution was dried using lyophilization and the additional peak was isolated using reversed phase chromatography as described in example 1. This provided 0.75 mg cyclic depsipeptide according to example 46, wherein Ahp has been converted into 5-hydroxyproline.

ESI-MS: pos. mode: $m/z = 951.5$ ($M+Na$), neg. Mode: $m/z = 927.4$ ($M-H$); monoisotopic MW 928.5, $C_{46}H_{72}N_8O_{12}$

1H NMR (600 MHz) d_6 -DMSO δ_H : 0.00 (1H, m), 0.50 (3H, t, $J = 7.3$ Hz), 0.71 (3H, m), 0.76 (3H, t, $J = 7.0$ Hz), 0.76 (3H, d, $J = 7.3$ Hz), 0.85 (6H, d, $J = 6.6$ Hz), 0.88 (1H, m), 1.00 (1H, m), 1.03 (3H, d, $J = 6.6$ Hz), 1.06 (6H, d, $J = 6.6$ Hz), 1.10 (1H, m), 1.16 (1H, m), 1.26 (1H, m), 1.36 (1H, m), 1.43 (1H, m), 1.51 (2H, m), 1.79 (1H, m), 1.83 (1H, m), 1.97 (1H, m), 1.99 (1H, m), 2.17 (2H, t, $J = 7.7$ Hz), 2.39 (1H, m), 2.48 (1H, m), 2.67 (3H, s), 2.78 (1H, m), 3.43 (1H, m), 4.32 (1H, m), 4.33 (1H, m), 4.45 (1H, m), 4.48 (1H, m), 4.58 (1H, m), 4.61 (1H, m), 4.67 (1H, m), 5.09 (1H, m), 5.47 (1H, m), 6.66 (2H, d, $J = 8.1$ Hz), 6.74 (1H, s, broad), 7.03 (2H, d, $J = 8.1$ Hz), 7.31 (1H, s, broad), 7.33 (1H, d, $J = 9.5$ Hz), 8.04 (1H, d, $J = 9.5$ Hz), 8.17 (1H, d, $J = 8.1$ Hz), 8.23 (1H, d, $J = 2.9$ Hz), 8.43 (1H, d, $J = 9.5$ Hz), 9.25 (1H, s, broad), (OH group of hydroxyproline not visible).

Example 47: Derivatisation of a cyclic depsipeptide of the invention

88



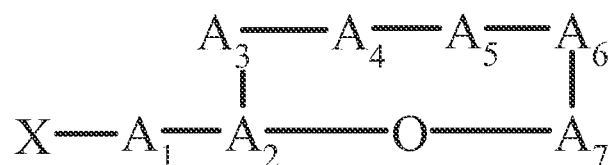
A solution of 100 mg of depsipeptide according to formula (II) in 25 mL 0.5 N HCl was stirred at 50°C for 24 h. For workup the pH of the reaction mixture was adjusted to pH 7 with 5 N NaOH and was extracted with ethyl acetate. The organic layer was dried over sodium sulfate and the solvent was removed in vacuo. The residue obtained was purified by reversed phase chromatography (same conditions as described example 1) providing 17 mg of cyclic depsipeptide according to example 47, wherein glutamine in A1 has been replaced by glutamic acid.

ESI-MS: pos. mode: $m/z = 952.8$ ($M+Na$), neg. Mode: $m/z = 928.5$ ($M-H$); monoisotopic MW 929.5, $C_{46}H_{71}N_7O_{13}$

1H NMR (600 MHz, d_6 -DMSO) δ_H : -0.11 (3H, d, $J = 6.6$ Hz), 0.64 (4H, m), 0.77 (3H, d, $J = 6.6$ Hz), 0.81 (3H, t, $J = 7.3$ Hz), 0.84 (3H, d, $J = 6.6$ Hz), 0.88 (3H, d, $J = 6.6$ Hz), 1.02 (6H, m), 1.05 (1H, m), 1.10 (1H, m), 1.19 (3H, d, $J = 5.9$ Hz), 1.24 (1H, m), 1.40 (1H, m), 1.51 (1H, m), 1.75 (1H, m), 1.78 (5H, m), 1.85 (2H, m), 2.10 (2H, m), 2.45 (1H, m), 2.60 (1H, m), 2.67 (1H, m), 2.71 (3H, s), 3.20 (1H, m), 4.28 (1H, m), 4.29 (1H, m), 4.44 (2H, m), 4.63 (1H, d, $J = 9.5$ Hz), 4.69 (1H, m), 4.93 (1H, m), 5.04 (1H, m), 5.47 (1H, m), 6.24 (1H, s, broad), 6.64 (2H, d, $J = 8.8$), 6.99 (2H, d, $J = 8.8$ Hz), 7.37 (1H, d, $J = 9.5$ Hz), 7.69 (1H, d, $J = 9.5$ Hz), 7.80 (1H, d, $J = 9.5$ Hz), 8.51 (1H, d, $J = 8.8$ Hz), 8.57 (1H, d, $J = 5.1$ Hz), OH group of Tyrosine and glutamic acid not visible)

The present invention also provides:

1. A cyclic depsipeptide, or a derivative thereof, having the structure of formula (I):



wherein the ester bond is found between the carboxy group of A7 and the hydroxy group of A2,

wherein X and A₁ are each independently optional,

and wherein

X is any chemical residue

A₁ is a standard amino acid which is not aspartic acid,

A₂ is threonine or serine,

A₃ is a non-basic standard amino acid or a non-basic derivative thereof,

A₄ is Ahp, dehydro-AHP, proline or a derivative thereof,

A₅ is isoleucine or valine,

A₆ is tyrosine or a derivative thereof

A₇ is leucine, isoleucine or valine,

or a pharmaceutically acceptable salt of cyclic depsipeptide or a derivative thereof.

2. The cyclic depsipeptide, or derivative thereof, of claim 1 wherein the nitrogen atom of the amid bond between A5 and A6 is substituted with a methyl.
3. The cyclic depsipeptide, or derivative thereof, of any of claim 1 or 2 wherein X is H or an acyl residue.
4. The cyclic depsipeptide, or derivative thereof, of any of claim 1-3 wherein X is CH₃CH₂CH(CH₃)CO, (CH₃)₂CHCH₂CO or (CH₃)₂CHCO.
5. The cyclic depsipeptide, or derivative thereof, of any of claim 1-4 wherein A₁ is glutamine.

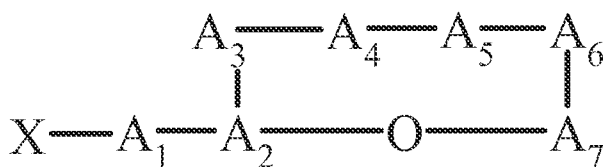
6. The cyclic depsipeptide, or derivative thereof, of any of claim 1-5 wherein A₂ is threonine.
7. The cyclic depsipeptide, or derivative thereof, of any of claim 1-6 wherein A₃ is leucine.
8. The cyclic depsipeptide, or derivative thereof, of any of claim 1-7 wherein A₆ is tyrosine.
9. The cyclic depsipeptide, or derivative thereof, of any of claim 1-8 wherein A₄ is the Ahp derivative 3-amino-2 piperidone.
10. The cyclic depsipeptide, or derivative thereof, of any of claims 1-4 wherein X is
 $(\text{CH}_3)_2\text{CHCO}$
 - A₁ is glutamine,
 - A₂ is threonine,
 - A₃ is leucine,
 - A₄ is AHP or a derivative thereof,
 - A₅ is isoleucine or valine,
 - A₆ is tyrosine or a derivative thereof
 - A₇ is isoleucine or valine.
11. The cyclic depsipeptide, or derivative thereof, of any of claims 1-4 wherein X is
 $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CO}$
 - A₁ is glutamine,
 - A₂ is threonine,
 - A₃ is leucine,
 - A₄ is AHP or a derivative thereof,
 - A₅ is isoleucine,
 - A₆ is tyrosine or a derivative thereof
 - A₇ is isoleucine.
12. The cyclic depsipeptide or derivative thereof, of any of claims 1-4 wherein X is
 $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CO}$
 - A₁ is glutamine,
 - A₂ is threonine,

A_3 is leucine,
 A_4 is dehydro-AHP or a derivative thereof,
 A_5 is isoleucine,
 A_6 is tyrosine or a derivative thereof
 A_7 is isoleucine.

13. The cyclic depsipeptide, or derivative thereof, of any of claims 1-4 wherein X is $(CH_3)_2CHCH_2CO$

A_1 is glutamine,
 A_2 is threonine,
 A_3 is leucine,
 A_4 is dehydro-AHP or a derivative thereof,
 A_5 is isoleucine,
 A_6 is tyrosine or a derivative thereof
 A_7 is isoleucine.

14. A cyclic depsipeptide, or derivative thereof, having the structure of formula (I):



wherein the ester bond is found between the carboxy group of A_7 and the hydroxy group of A_2 ,

and wherein

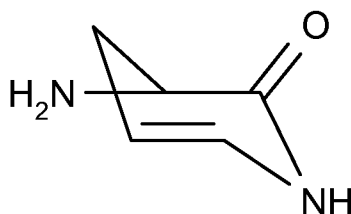
X is $(CH_3)_2CHCH_2CO$
 A_1 is glutamine,
 A_2 is threonine,
 A_3 is leucine,
 A_4 is Ahp or proline, or a derivative thereof,
 A_5 is phenylalanine,
 A_6 is tyrosine or a derivative thereof,
 A_7 is valine,

or a pharmaceutically acceptable salt of cyclic depsipeptide or a derivative thereof.

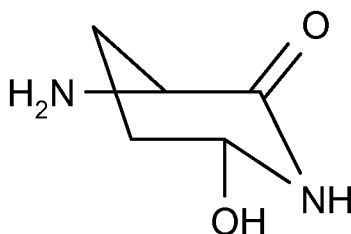
15. The cyclic depsipeptide, or derivative thereof, of claim 14 wherein
X is $(\text{CH}_3)_2\text{CH CH}_2\text{CO}$
A₁ is glutamine,
A₂ is threonine,
A₃ is leucine,
A₄ is Ahp, or a derivative thereof,
A₅ is phenylalanine,
A₆ is tyrosine or a derivative thereof,
A₇ is valine.
16. The cyclic depsipeptide, or derivative thereof, of claim 14 wherein
X is $(\text{CH}_3)_2\text{CH CH}_2\text{CO}$
A₁ is glutamine,
A₂ is threonine,
A₃ is leucine,
A₄ is proline, or a derivative thereof,
A₅ is phenylalanine,
A₆ is tyrosine or a derivative thereof,
A₇ is valine.
17. The cyclic depsipeptide, or derivative thereof, of claim 14 wherein the nitrogen atom of the amid bond between A₅ and A₆ is substituted with a methyl.
18. The cyclic depsipeptide, or derivative thereof, of any of claims 1-17 wherein A₁, A₂, A₃, A₅, A₆ and A₇ are L-amino acids.
19. The cyclic depsipeptide, or derivative thereof, of any of claims 1-18 wherein A₄ is 3S,6R Ahp.
20. The cyclic depsipeptide, or derivative thereof, of any of claims 1-19 for use as a medicament.

21. The cyclic depsipeptide, or derivative thereof, of any of claims 1-21 for use as a medicament for the treatment of cancer, in particular ovarian cancer, or for the treatment of inflammatory and/or hyperproliferative and pruritic skin diseases such as keloids, hypertrophic scars, acne, atopic dermatitis, psoriasis, pustular psoriasis, rosacea, Netherton's syndrome or other pruritic dermatoses such as prurigo nodularis, unspecified itch of the elderly as well as other diseases with epithelial barrier dysfunction such as aged skin, inflammatory bowel disease and Crohn's disease, as well as pancreatitis, or of cancer, in particular ovarian cancer.
22. A pharmaceutical composition comprising a cyclic depsipeptide, or derivative thereof, of any of claims 1-19.
23. A method of treating a subject suffering from inflammatory and/or hyperproliferative and pruritic skin diseases such as keloids, hypertrophic scars, acne, atopic dermatitis, psoriasis, pustular psoriasis, rosacea, Netherton's syndrome or other pruritic dermatoses such as prurigo nodularis, unspecified itch of the elderly as well as other diseases with epithelial barrier dysfunction such as aged skin, inflammatory bowel disease and Crohn's disease, as well as pancreatitis, or of cancer, in particular ovarian cancer, comprising administering to said subject a therapeutically effective amount of a cyclic depsipeptide, or derivative thereof, of any of claims 1-20.
24. A process for producing the cyclic depsipeptide, or derivative thereof, of any of claims 1-19 comprising cultivation of a *Chondromyces* strain, a variant or a mutant thereof, in a suitable medium, and optionally chemical derivation of the so-produced cyclic depsipeptide.
25. A process for producing the cyclic depsipeptide, or derivative thereof, of any of claims 1-19 comprising expressing the biosynthesis genes of a *Chondromyces* strain, a variant or a mutant thereof, in a heterologous microbial host strain, and optionally chemical derivation of the so-produced cyclic depsipeptide.
26. The process of claims 24 or 25 wherein the strain is *Chondromyces crocatus* (DSM 19329) or *Chondromyces robustus* (DSM 19330).

27. An isolated *Chondromyces* microorganism producing the cyclic depsipeptide, or derivative thereof, of any of claims 1-19, deposited under the accession number DSM 19329 or DSM 19330.
28. A cyclic depsipeptide, or derivative thereof, produced by the isolated *Chondromyces* microorganism of claim 27 or obtained by a process according to claims 24-26.
29. A process for the preparation of a derivative of a cyclic depsipeptide, or derivative thereof, according to claim 1 which comprises alternatively
- a) - the preparation of a derivative of a cyclic depsipeptide, or derivative thereof, according to claim 1 wherein A4 is

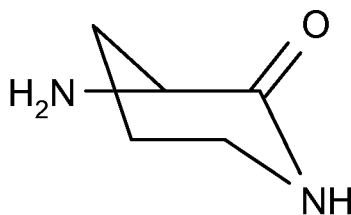


by treatment of a compound wherein A4 is



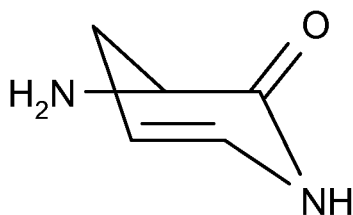
with an organic or inorganic acid, or a Lewis acid at a temperature between -78 °C and 150 °C;

- b) - the preparation of a derivative of a cyclic depsipeptide, or derivative thereof, according to claim 1 wherein A4 is



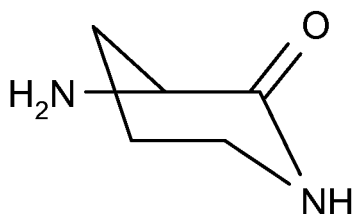
by treatment of a compound wherein A4 is

95

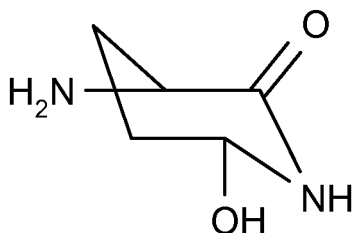


with molecular hydrogen or source thereof in presence of a catalyst in a solvent at a temperature between -50 and 100 °C;

c) - the preparation of a derivative of a cyclic depsipeptide, or derivative thereof, according to claim 1 wherein A4 is

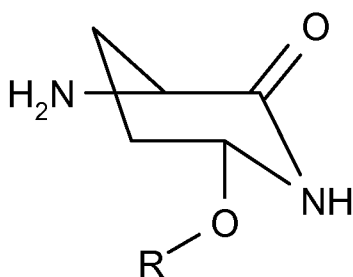


by treatment of a compound wherein A4 is



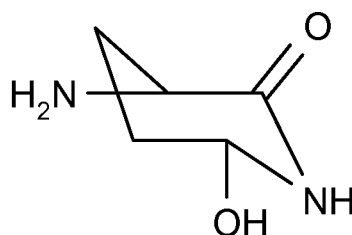
with an organic or inorganic acid or a Lewis acid, in presence of an reducing agent at a temperature between -78 °C and 150 °C; or

d) - the preparation of a derivative of a cyclic depsipeptide, or derivative thereof, according to claim 1 wherein A4 is



by treatment of a compound wherein A4 is

96



with a substituted or unsubstituted alkanol and an organic or inorganic acid, or a Lewis acid, at a temperature between -78 °C and 150 °C.

References

- [Bode HB, Zeggel B, Silakowski B, Wenzel SC, Reichenbach H, Müller R (2003)] Steroid biosynthesis in prokaryotes: identification of myxobacterial steroids and cloning of the first bacterial 2,3(S)-oxidosqualene cyclase from the myxobacterium *Stigmatella aurantiaca*. Mol Microbiol 47:471-481
- [Das SK, Mishra AK, Tindall BJ, Rainey FA, Stackebrandt E (1996)] Oxidation fo thiosulfate by a new bacterium, Bosea thiooxidans (strain BI-42) gen. nov., sp. nov.: Analysis of phylogeny based on chemotaxonomy and 16S ribosomal DNA sequencing. Int J Syst Bacteriol 46:981-987
- [Dictionary of Natural Products (2007)] Dictionary of Natural products on CD-ROM, version 15.2, 2007, Hampen Data services Ltd.
- [DSMZ (2007)] Description of biological risk group fo Chondromyces strains available on the website <http://www.dsmz.de/>
- [Gerth K, Pradell A, Perlova O, et al. (2003)] Myxobacteria: proficient producers fo novel natural products with various biological activities – past and future biotechnological aspects with the focus on the genus *Sorangium*. J Biotechnol 106:233-253
- [Hansson L, Backman A, Ny A, Edlund M, Ekholm E, Ekstrand Hammarstrom B, Tornell J, Wallbrandt P, Wennbo H, Egelrud T (2002)] Epidermal overexpression of stratum corneum chymotryptic enzyme in mice: a model for chronic itchy dermatitis. J Invest Dermatol 118:444-449
- [Ishida K, Matsuda H, Murakami M, Yamaguchi K (1996)] The Absolute Stereochemistry of micropeptin 90. Tetrahedron letters 37:51-52.
- [Jacobi CA, Reichenbach H, Tindall BJ, Stackebrandt E (1996)] “*Candidatus comitans*,” a bacterium living in coculture with *Chondromyces crocatus* (Myxobacteria). Int J Syst Bacteriol 46:119-122

- [Jacobi CA, Assmus B, Reichenbach H, Stackebrandt E (1997)] Molecular evidence for association between the Sphingobacterium-like organism “*Candidatus comitans*” and the myxobacterium *Chondromyces crocatus*. Appl Environ Microbiol 63:719-723
- [Jansen R, Kunze B, Reichenbach H, Höfle G (2002)] The ajudazols A and B, novel isochromanones from *Chondromyces crocatus* (Myxobacteria): Isolation and structure elucidation. Eur J Org Chem 2002:917-921
- [Kaiser D (2003)] Coupling cell movement to multicellular development in myxobacteria. Nature Reviews Microbiol 1:45-54
- [Kunze B, Jansen R, Sasse F, et al. (1995)] Chondramides A ~ D, new antifungal and cytostatic depsipeptides from *Chondromyces crocatus* (Myxobacteria): Production, physicochemical and biological properties. J Antibiotics 48:1262-1266
- [La Scola B, Mallet M-N, Grimont PAD, Raoult D (2003)] *Bosea eneeae* sp. nov., *Bosea massiliensis* sp. nov. and *Bosea vestrisii* sp. nov., isolated from hospital water supplies, and emendation of the genus *Bosea* (Das *et al.* 1996). Int J Syst Evol Microbiol 53:15-20
- [Lee AY, Smitka TA, Bonjouklian R, Clardy J (1994)] Atomic structure of the trypsin- A90720A complex: a unified approach to structure and function. Chemistry & Biology 1:113- 117
- [Matern U, Schleberger C, Jelakovic S, Weckesser J, Schulz GE (2003)] Binding structure of elastase inhibitor scryptolin A. Chemistry & Biology 10:997-1001
- [Rahid S, et al. (2006)] Molecular and biochemical studies of chondramide formation – highly cytotoxic natural products from *Chondromyces crocatus* Cm c5. Chem & Biol 14:667-681
- [Rouhiainen L, Paulin L, Suomalainen S, Hyytiäinen H, Buikema W, Haselkorn R, Sivonen K (2000)] Genes encoding for synthetases of cyclic depsipetides, anabaenopeptilides, in *Anabaena* strain 90. Molecular Microbiology 37:156-167.
- [Vasilopoulos Y, Cork MJ, Murphy R, et al. (2004)] Genetic association between an AACC insertion in the 3'UTR of the stratum corneum chymotryptic enzyme gene and atopic dermatitis. J Invest Dermatol 123:62-66

PCT

Print Out (Original in Electronic Form)

(This sheet is not part of and does not count as a sheet of the international application)

0-1	Form PCT/RO/134 (SAFE) Indications Relating to Deposited Microorganism(s) or Other Biological Material (PCT Rule 13bis)	
0-1-1	Prepared Using	PCT Online Filing Version 3.5.000.193 MT/FOP 20020701/0.20.5.9
0-2	International Application No.	
0-3	Applicant's or agent's file reference	52208-WO-PCT

1	The indications made below relate to the deposited microorganism(s) or other biological material referred to in the description on:	
1-1	paragraph number	
1-3	Identification of deposit	
1-3-1	Name of depositary institution	DSMZ DSMZ-Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen GmbH
1-3-2	Address of depositary institution	Inhoffenstr. 7B, D-38124 Braunschweig, Germany
1-3-3	Date of deposit	24 April 2007 (24.04.2007)
1-3-4	Accession Number	DSMZ DSM 19330
1-5	Designated States for Which Indications are Made	all designations
2	The indications made below relate to the deposited microorganism(s) or other biological material referred to in the description on:	
2-1	paragraph number	
2-3	Identification of deposit	
2-3-1	Name of depositary institution	DSMZ DSMZ-Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen GmbH
2-3-2	Address of depositary institution	Inhoffenstr. 7B, D-38124 Braunschweig, Germany
2-3-3	Date of deposit	23 June 2008 (23.06.2008)
2-3-4	Accession Number	DSMZ DSM 21595
2-5	Designated States for Which Indications are Made	all designations
3	The indications made below relate to the deposited microorganism(s) or other biological material referred to in the description on:	
3-1	paragraph number	
3-3	Identification of deposit	
3-3-1	Name of depositary institution	DSMZ DSMZ-Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen GmbH
3-3-2	Address of depositary institution	Inhoffenstr. 7B, D-38124 Braunschweig, Germany
3-3-3	Date of deposit	24 April 2007 (24.04.2007)
3-3-4	Accession Number	DSMZ DSM 19329
3-5	Designated States for Which Indications are Made	all designations

PCT

Print Out (Original in Electronic Form)

(This sheet is not part of and does not count as a sheet of the international application)

FOR RECEIVING OFFICE USE ONLY

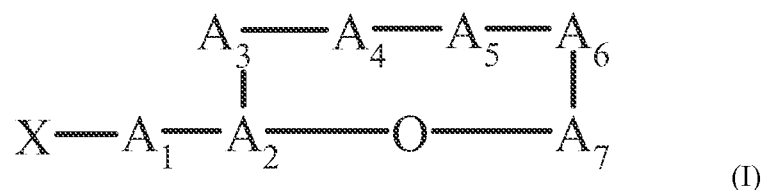
0-4	This form was received with the international application: (yes or no)	
0-4-1	Authorized officer	

FOR INTERNATIONAL BUREAU USE ONLY

0-5	This form was received by the international Bureau on:	15.09.2008
0-5-1	Authorized officer	Peter WIMMER

CLAIMS

1. A cyclic depsipeptide, or a derivative thereof, having the structure of formula (I):



wherein an ester bond is formed between the carboxy group of A7 and the hydroxy group of A2,
 wherein X and A₁ are each independently optional,

and wherein

X is H or an amino group modifying moiety and may be typically selected from an aryl carbonyl residue or from an acyl residue,

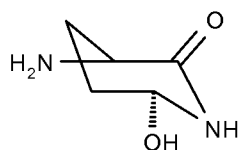
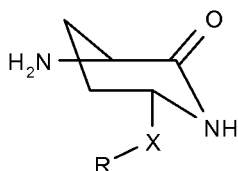
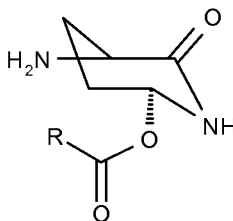
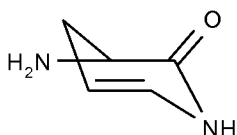
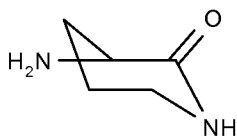
A₁ is glutamine, ornithine, glutamic acid or a derivative thereof;

A₂ is threonine or serine,

A₃ is leucine,

A₄ is Ahp, 3-amino-piperidine-2-one, dehydro-AHP, Ahp-I, Ahp-II, proline, 5-hydroxy-proline or a derivative thereof, wherein the point of fusion (with A₃ and A₅) are at the nitrogen atom and the carboxyl oxygen (by virtue of the replacement of a hydrogen atom by a bond) of the proline, and 5-hydroxyproline,

wherein Ahp, 3-amino-piperidine-2-one, dehydro-AHP, Ahp-I, and Ahp-II, are as defined below,
 and wherein the point of fusion (with A₃ and A₅) are at the nitrogen atoms of the said compounds (by virtue of the replacement of a hydrogen atom by a bond):

**3-amino-6-hydroxy-piperidin-2-one (Ahp)****Ahp-I****X = O or bond****Ahp-II****3-amino-3,4-dihydro-1H-pyridin-2-one (dehydro-AHP)****3-amino-piperidin-2-one**

wherein X is O or a bond, and R is an organic moiety or is a radical as defined in claim 3,

A₅ is isoleucine, phenylalanine or valine,

A₆ is tyrosine, N-Me-tyrosine or a derivative thereof,

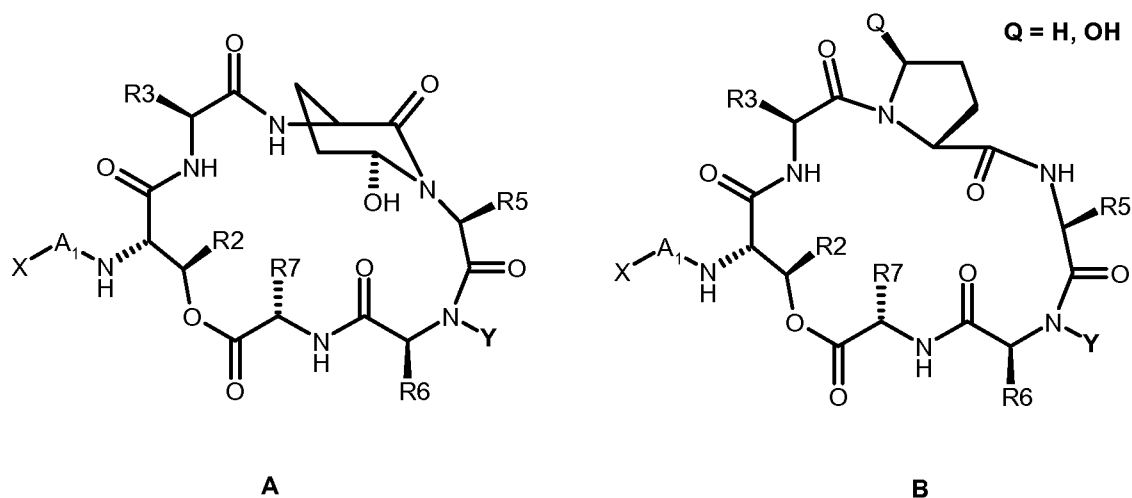
A₇ is leucine, isoleucine or valine,

or a pharmaceutically acceptable salt thereof.

2. The depsipeptide of claim 1 wherein X is CH₃CH₂CH(CH₃)CO, (CH₃)₂CHCH₂CO, (CH₃)₂CHCO, CH₃CO or Phenyl-CO.

3. The depsipeptide of claim 1 wherein the nitrogen atom of the amid bond between A₅ and A₆ is substituted with a methyl and the OH group of the tyrosine is OR, wherein R is selected from the group consisting of hydrogen, (C₁₋₁₂)alkyl, (C₂₋₁₂)alkenyl, (C₂₋₁₂)alkynyl, halo(C₁₋₁₂)alkyl, halo(C₂₋₁₂)alkenyl, halo(C₂₋₁₂)alkynyl, (C₁₋₁₂)alkoxycarbonyl, (C₁₋₁₂)alkoxy-carbonyl(C₁₋₁₂)alkyl, (C₁₋₁₂)alkylaminocarbonyl, unsubstituted or further substituted by aryl, arylalkyl, arylalkenyl or arylalkynyl, heterocyclyl and heterocyclylalkyl.

4. The depsipeptide of claim 1 wherein A₄ is the Ahp derivative 3-amino-piperidin-2-one, Ahp-I or Ahp-II, wherein R is selected from the group consisting of (C₁₋₁₂)alkyl, (C₂₋₁₂)alkenyl, (C₂₋₁₂)alkynyl, halo(C₁₋₁₂)alkyl, (C₁₋₁₂)alkoxy(C₁₋₁₂)alkyl, (C₁₋₁₂)alkoxy(C₁₋₁₂)alkoxy(C₁₋₁₂)alkyl, hydroxy(C₁₋₁₂)alkyl, phenyl and phenyl(C₁₋₆)alkyl.
5. The depsipeptide of claim 1 wherein the acyl residue X is CH₃CH₂CH(CH₃)CO or (CH₃)₂CHCO,
 A₁ is glutamine, glutamic acid, or a derivative thereof,
 A₂ is threonine,
 A₃ is leucine,
 A₄ is Ahp, 3-amino-piperidine-2-one, proline, 5-hydroxy-proline or a derivative thereof,
 A₅ is isoleucine,
 A₆ is tyrosine, N-Me-tyrosine or a derivative thereof,
 A₇ is isoleucine or valine, preferably isoleucine.
6. The depsipeptide of any of the previous claims wherein A₄ is Ahp, Ahp-I, 3-amino-piperidine-2-one, proline, or 5-hydroxy-proline, preferably Ahp, Ahp-I, 3-amino-piperidine-2-one, or 5-hydroxy-proline, also preferably Ahp, Ahp-I or 5-hydroxy-proline, more preferably Ahp.
7. A depsipeptide of claim 1, which is a compound in accordance to formulae A or B,



wherein X and A₁ are as defined in claim 1, and wherein

R2 the side chain of the amino acid threonine or serine,

R3 the side chain of leucine,

R5 is the side chain of the amino acid isoleucine or valine, in particular R5 stands for isoleucine,

R6 is the side chain of tyrosine optionally derivatized, in particular optionally derivatized on its hydroxyl group as defined in claim 3,

R7 is the side chain of the amino acid leucine, isoleucine or valine, in particular R7 stands for isoleucine,

Y is either hydrogen or a methyl, and Y is in particular methyl.

8. The cyclic depsipeptide of any of the previous claims wherein A1, A2, A3, A5, A6 and A7 are L-amino acids.

9. The cyclic depsipeptide of any of the previous claims wherein A4 is 3S,6R Ahp.

10. The cyclic depsipeptide of any of the previous claims wherein A1 is a glutamine, ornithine, or a glutamine derivative as described in any of the examples of the description, and is for example selected from glutamic nitrile, glutamic acid ester such as C₁₋₁₂alkyl ester (e.g. glutamic acid methyl ester) or such as C₆₋₂₄aryl ester (e.g. glutamic acid phenyl or benzyl ester).

11. A pharmaceutical composition comprising a cyclic depsipeptide of any of the previous claims in conjunction with a pharmaceutical acceptable carrier and/or ingredient.

12. The cyclic depsipeptide of any of the previous claims for use as a medicament, in particular for use as described in the methods for treating a patient, such as claims 13 - 15, and the use of the said depsipeptides in the manufacture of a medicament for the treatment in a disease or disorder as described in the said method claims.

13. A method of treating a subject suffering from inflammatory and/or hyperproliferative and pruritic skin diseases such as keloids, hypertrophic scars, acne, atopic dermatitis, psoriasis, pustular psoriasis, rosacea, Netherton's syndrome or other pruritic dermatoses such as prurigo nodularis, unspecified itch of the elderly as well as other diseases with epithelial barrier dysfunction such as aged skin, inflammatory bowel disease and Crohn's disease, as well as pancreatitis, or of cancer, in particular ovarian cancer, cystic fibrosis (CF), chronic obstructive pulmonary disease (COPD), pulmonary fibrosis, adult respiratory distress syndrome, chronic bronchitis, hereditary emphysema,

rheumatoid arthritis, IBD, psoriasis, asthma, comprising administering to said subject a therapeutically effective amount of a cyclic depsipeptide, or derivative thereof, of any of claims 1 - 10.

14. A method of treating a subject according to claim 13, wherein the subject suffers from keloids, hypertrophic scars, acne, atopic dermatitis, psoriasis, pustular psoriasis, rosacea, Netherton's syndrome or other pruritic dermatoses such as prurigo nodularis, unspecified itch of the elderly as well as other diseases with epithelial barrier dysfunction such as aged skin, inflammatory bowel disease and Crohn's disease, as well as pancreatitis, or of cancer, in particular ovarian cancer.

15. A method of treating a subject according to claim 14, wherein the subject suffers from keloids, hypertrophic scars, acne, atopic dermatitis, psoriasis, pustular psoriasis, rosacea, Netherton's syndrome or other pruritic dermatoses such as prurigo nodularis, unspecified itch of the elderly as well as other diseases with epithelial barrier dysfunction such as aged skin.

16. A method of treating a subject according to claim 13, wherein the subject suffers from cystic fibrosis (CF), chronic obstructive pulmonary disease (COPD), pulmonary fibrosis, adult respiratory distress syndrome, chronic bronchitis, hereditary emphysema, rheumatoid arthritis, IBD, psoriasis, asthma.

17. A process for producing the cyclic depsipeptide, or derivative thereof, of any of claims 1-10 comprising cultivation of a *Chondromyces* strain, a variant or a mutant thereof, in a suitable medium, and optionally chemical derivation of the so-produced cyclic depsipeptide.

18. A process for producing the cyclic depsipeptide, or derivative thereof, of any of claims 1-10 comprising expressing the biosynthesis genes of a *Chondromyces* strain, a variant or a mutant thereof, in a heterologous microbial host strain, and optionally chemical derivation of the so-produced cyclic depsipeptide.

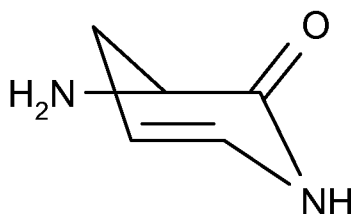
19. The process of claims 17 or 18 wherein the strain is *Chondromyces crocatus* (DSM 19329) or *Chondromyces robustus* (DSM 19330) or *Chondromyces apiculatus* (DSM 21595).

20. An isolated *Chondromyces* microorganism producing the cyclic depsipeptide, or derivative thereof, of any of claims 1-10, deposited under the accession number DSM 19329 or DSM 19330 or DSM 21595.

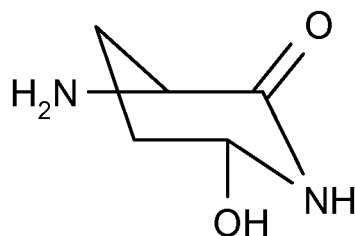
21. A cyclic depsipeptide, or derivative thereof, produced by the isolated *Chondromyces* microorganism of claim 20 or obtained by a process according to claims 17-18.

22. A process for the preparation of a derivative of a cyclic depsipeptide, or derivative thereof, according to claim 1 which comprises alternatively

a) - the preparation of a derivative of a cyclic depsipeptide, or derivative thereof, according to claim 1 wherein A4 is

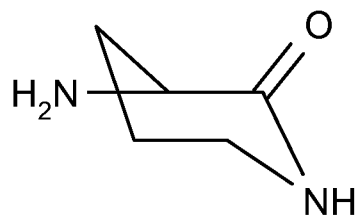


by treatment of a compound wherein A4 is



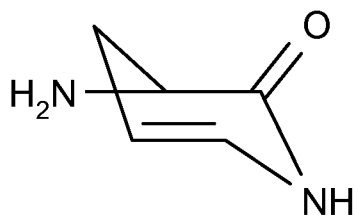
with an organic or inorganic acid, or a Lewis acid at a temperature between -78 °C and 150 °C;

b) - the preparation of a derivative of a cyclic depsipeptide, or derivative thereof, according to claim 1 wherein A4 is



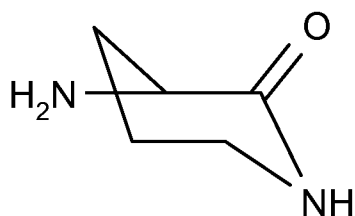
by treatment of a compound wherein A4 is

104

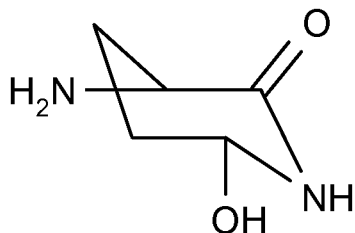


with molecular hydrogen or source thereof in presence of a catalyst in a solvent at a temperature between -50 and 100 °C;

c) - the preparation of a derivative of a cyclic depsipeptide, or derivative thereof, according to claim 1 wherein A4 is

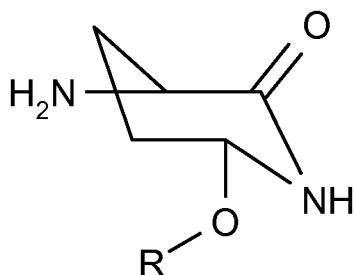


by treatment of a compound wherein A4 is



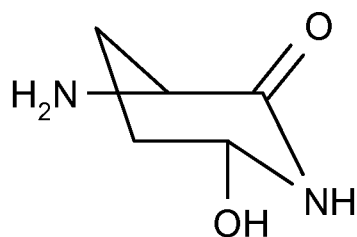
with an organic or inorganic acid or a Lewis acid, in presence of an reducing agent at a temperature between -78 °C and 150 °C; or

d) - the preparation of a derivative of a cyclic depsipeptide, or derivative thereof, according to claim 1 wherein A4 is



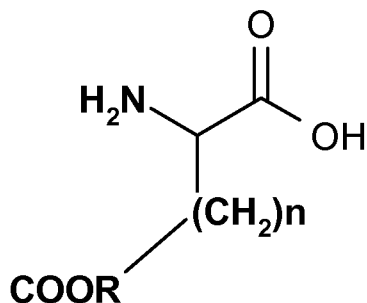
by treatment of a compound wherein A4 is

105

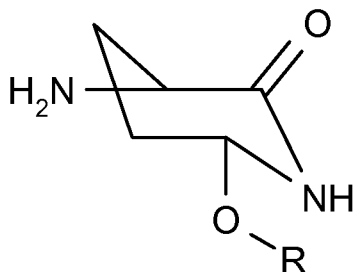


with a substituted or unsubstituted alkanol and an organic or inorganic acid, or a Lewis acid, at a temperature between -78 °C and 150 °C;

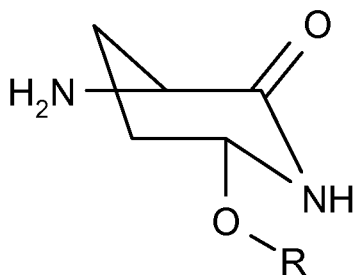
e) - the preparation of compounds wherein A1 is



wherein n = 1,2 and A4 is

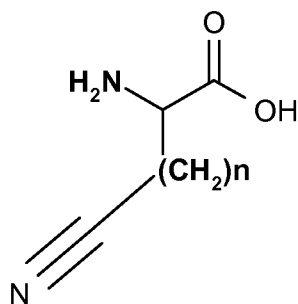


wherein R preferentially is H, alkyl, substituted alkyl, by treatment of a compound wherein A1 is Gln or Asn and A4 is

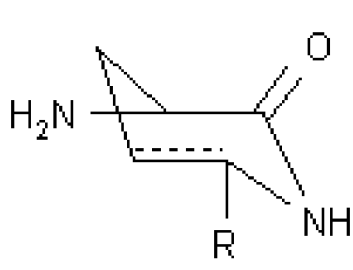


wherein R preferably is H, alkyl, substituted alkyl, with an substituted or unsubstituted alkanol and an organic or inorganic acid or a Lewis acid in a solvent or without a solvent at a temperature between -78 °C and 150 °C;

f) - the preparation of compounds wherein A1 is

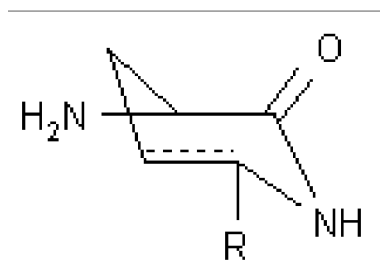


wherein R preferably is H, OH, O-alkyl, substituted O-alkyl, O-acyl, by treatment of a compound wherein A1 is Gln or Asn and A4 is



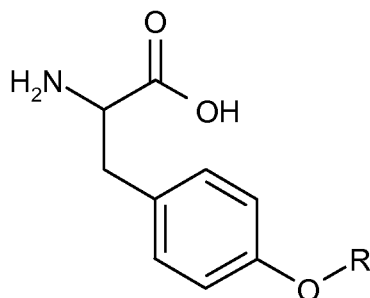
with an dehydrating agent in a solvent or without a solvent at a temperature between -78 °C and 150 °C;

g) - the preparation of compounds wherein A4 is

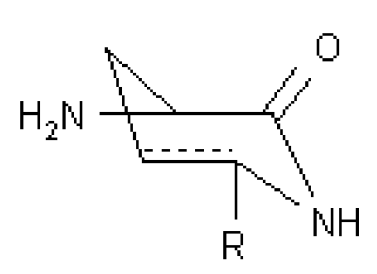


and A6 is

107



wherein R preferably is alkyl, substituted alkyl, acyl, alkoxycarbonyl by treatment of a compound wherein A4 is



and A6 is Tyr, with an alkylating agent or an acylating agent in a solvent or without a solvent at a temperature between -78 °C and 150°C.

23. A cyclic depsipeptide, or a derivative thereof, or a pharmaceutically acceptable salt thereof, in particular and essentially as described in the description and/or the working examples.

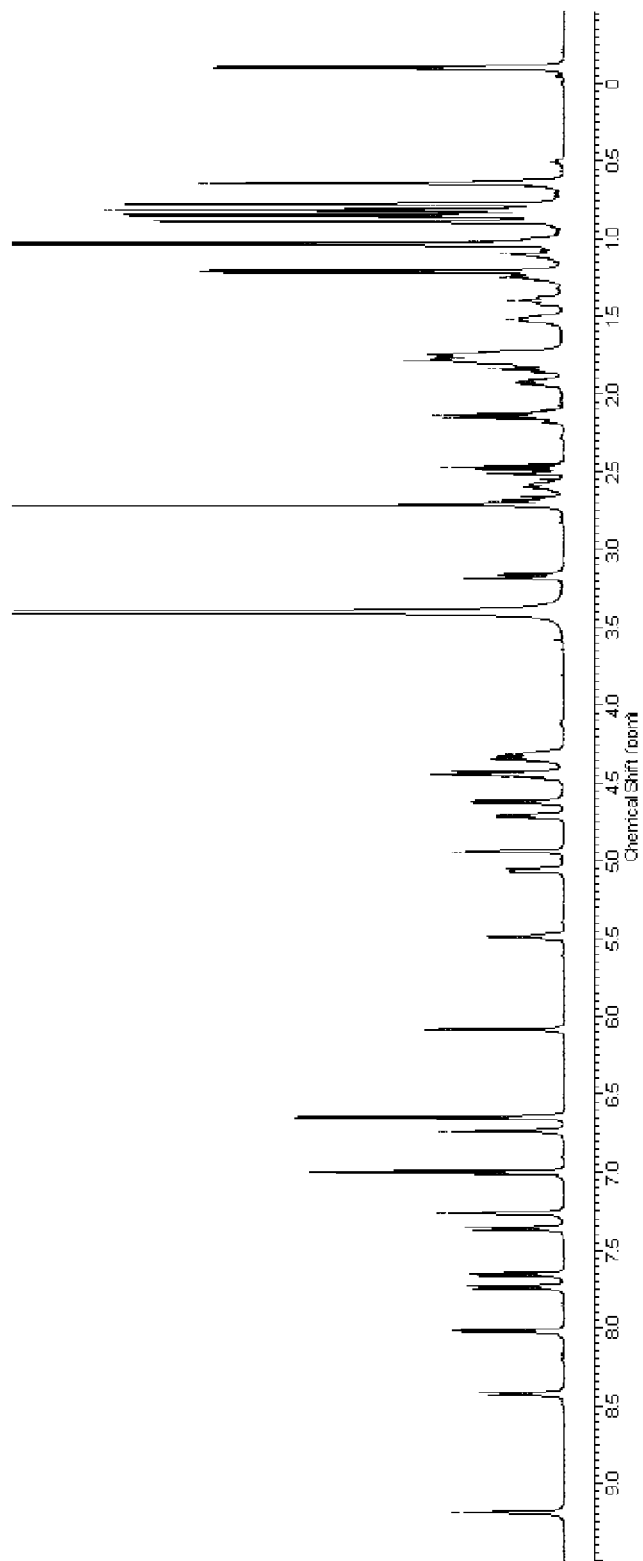
Figure 1

Figure 2

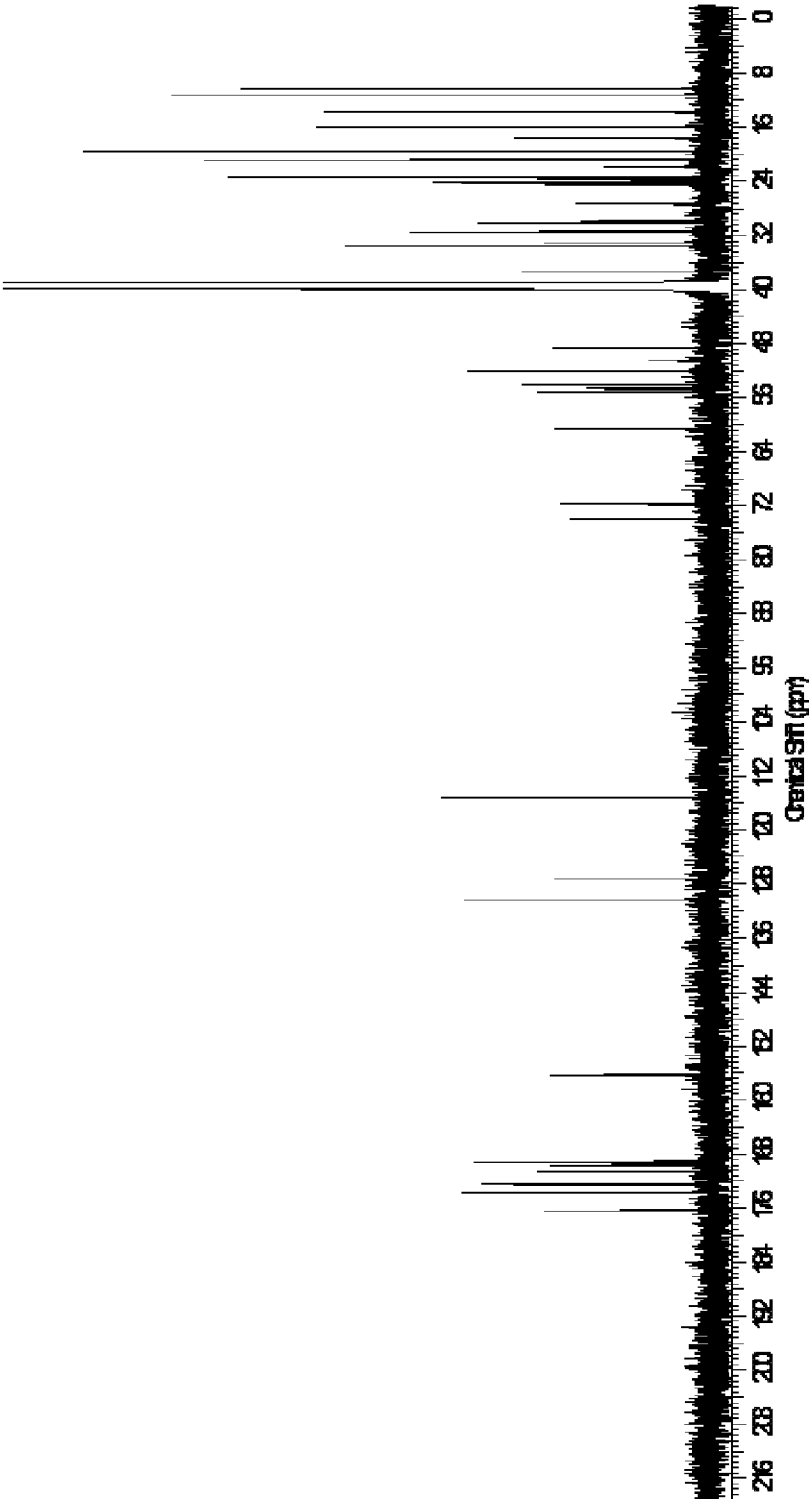


Figure 3

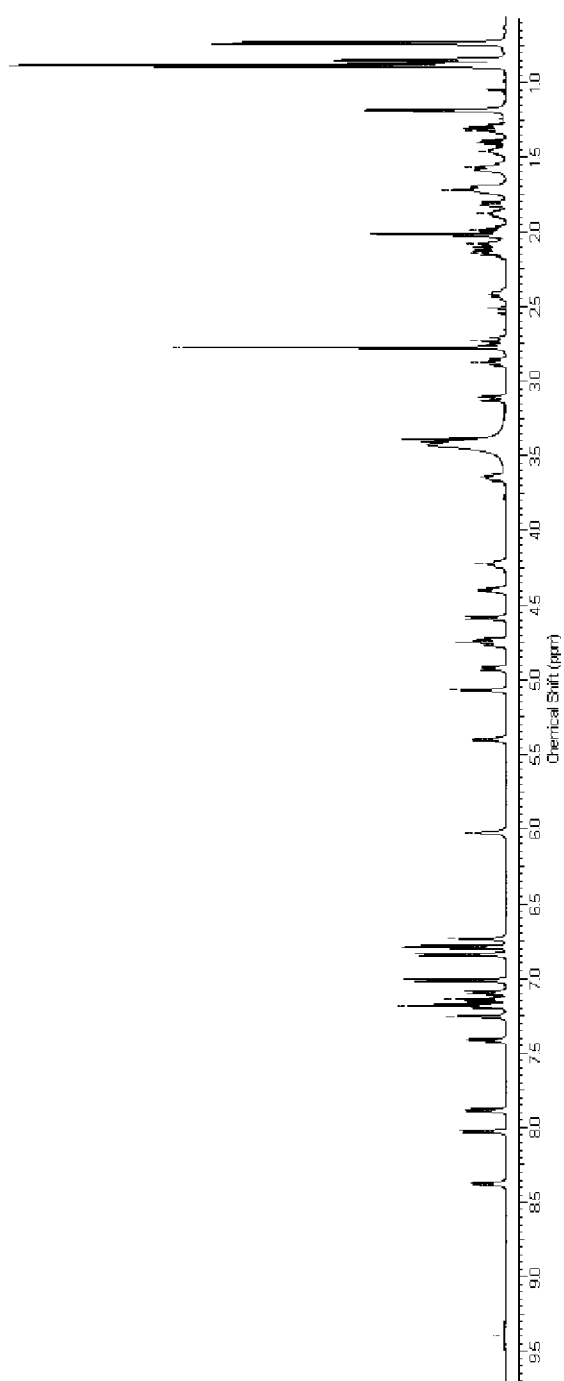


Figure 4

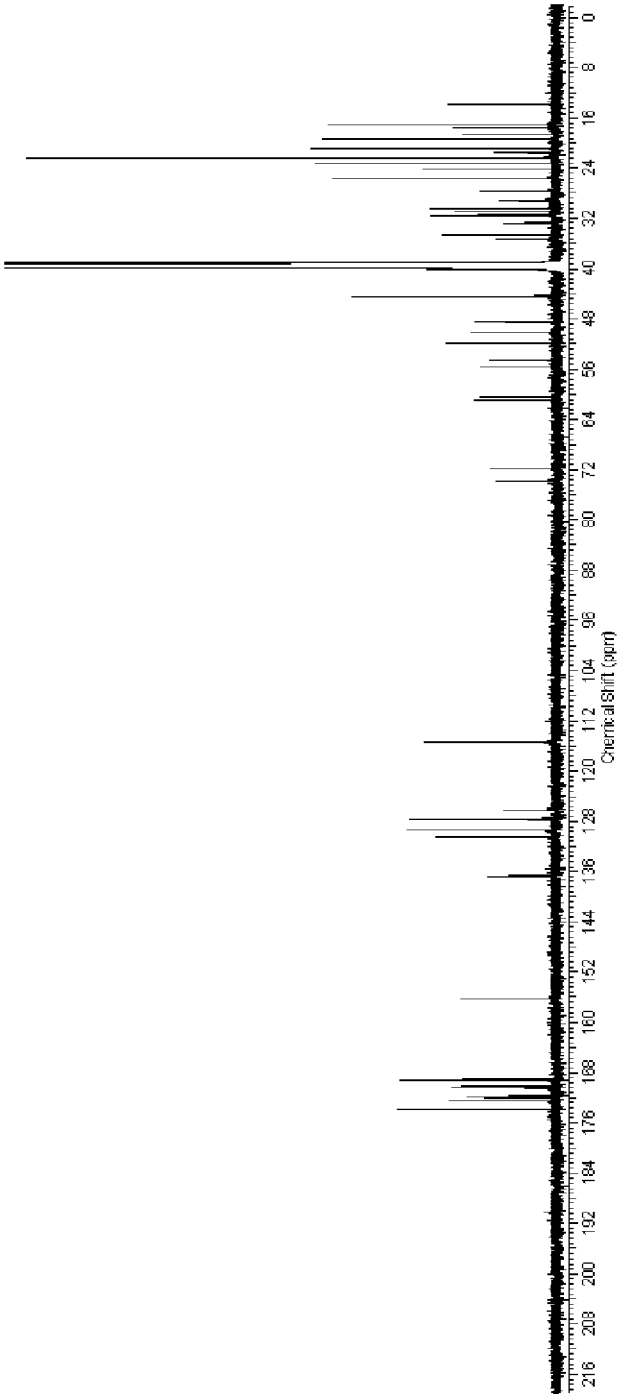


Figure 5

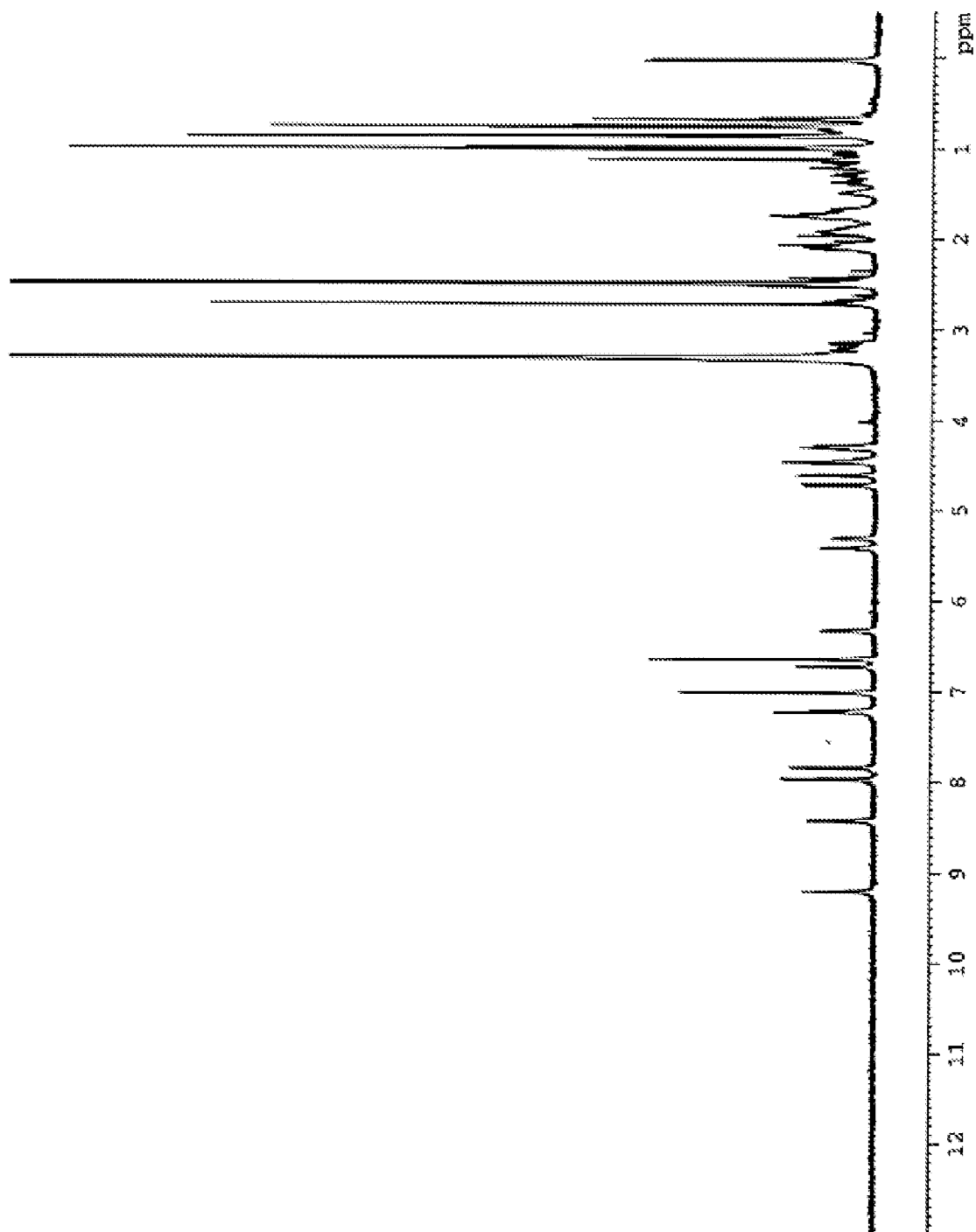


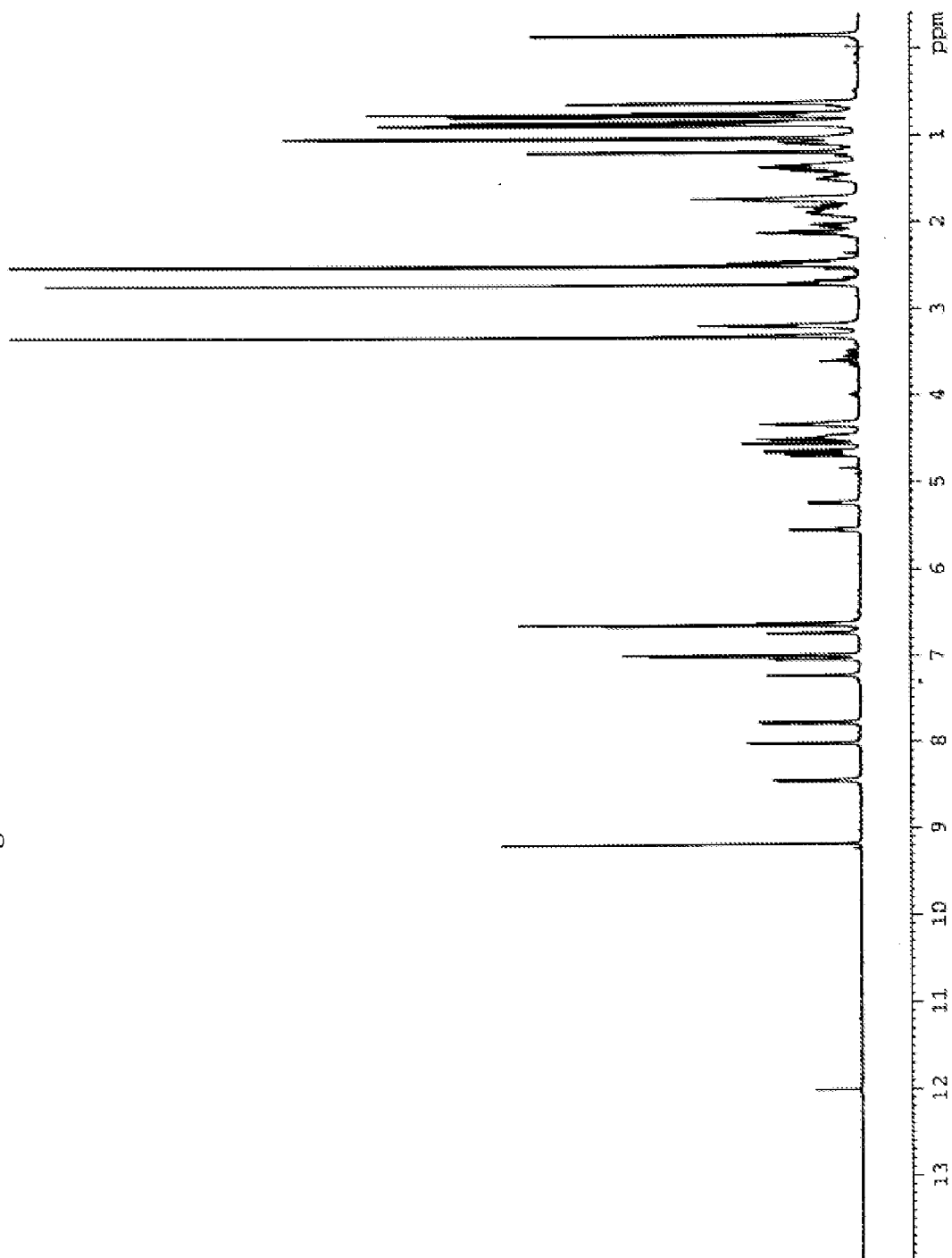
Figure 6

Figure 7

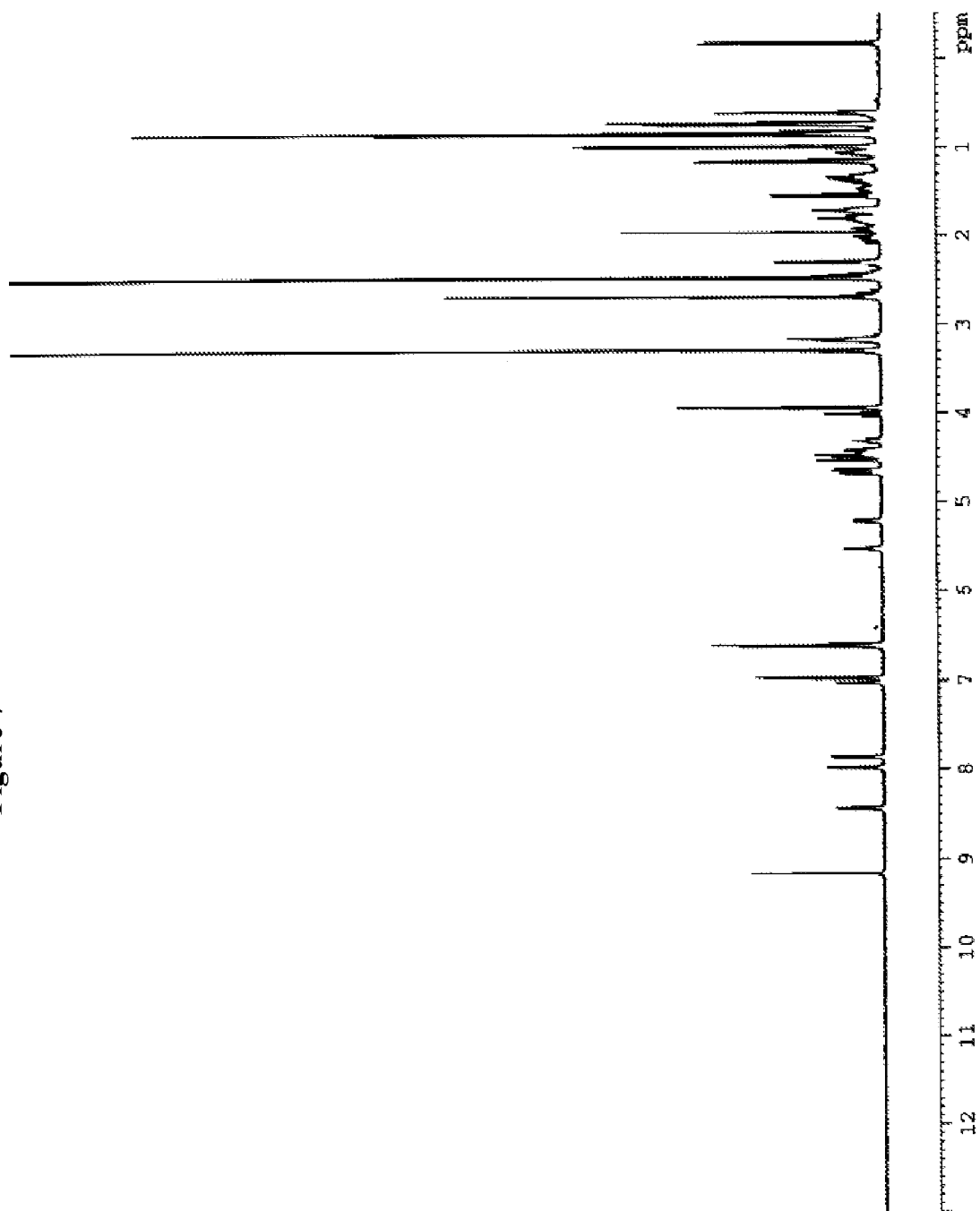


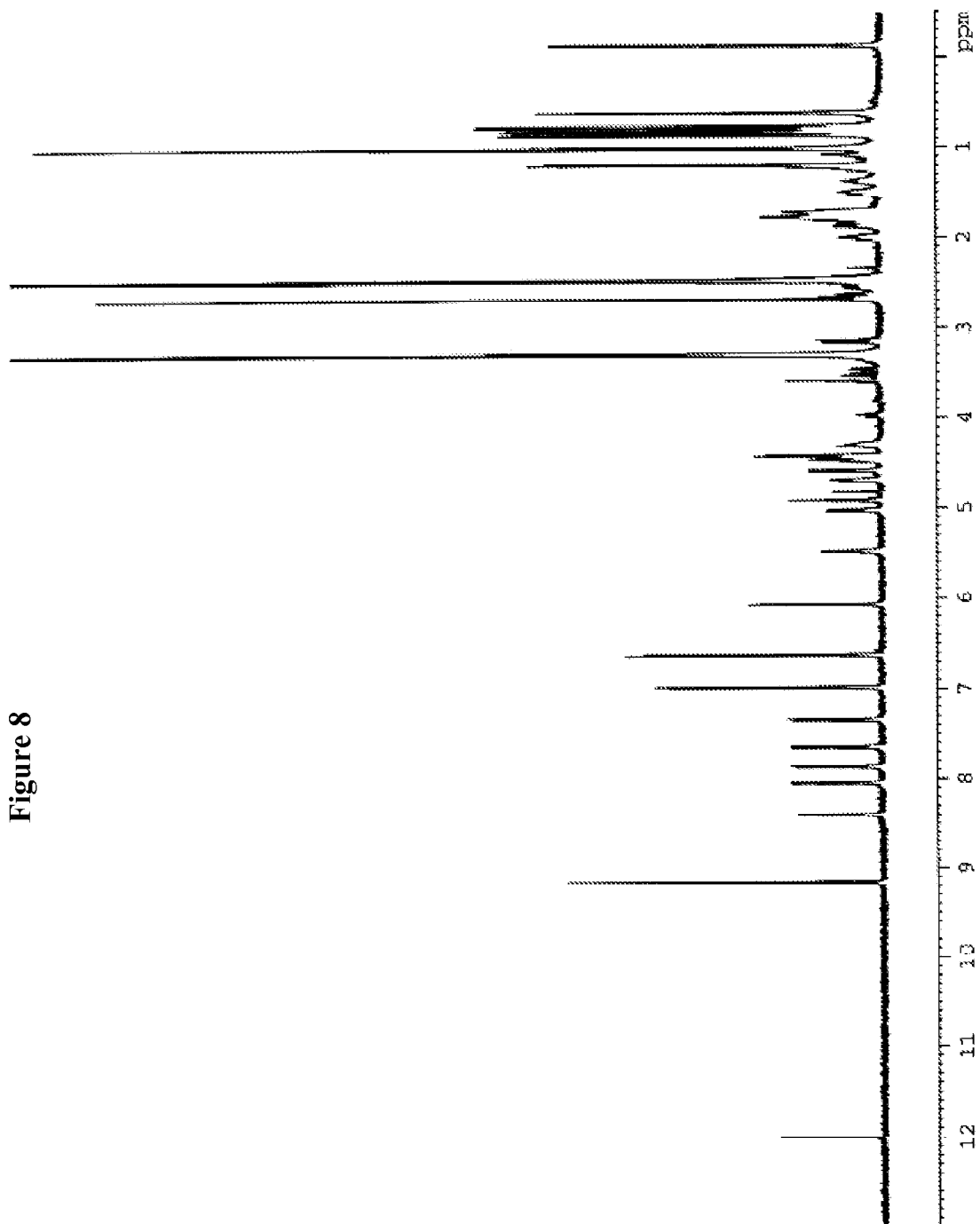
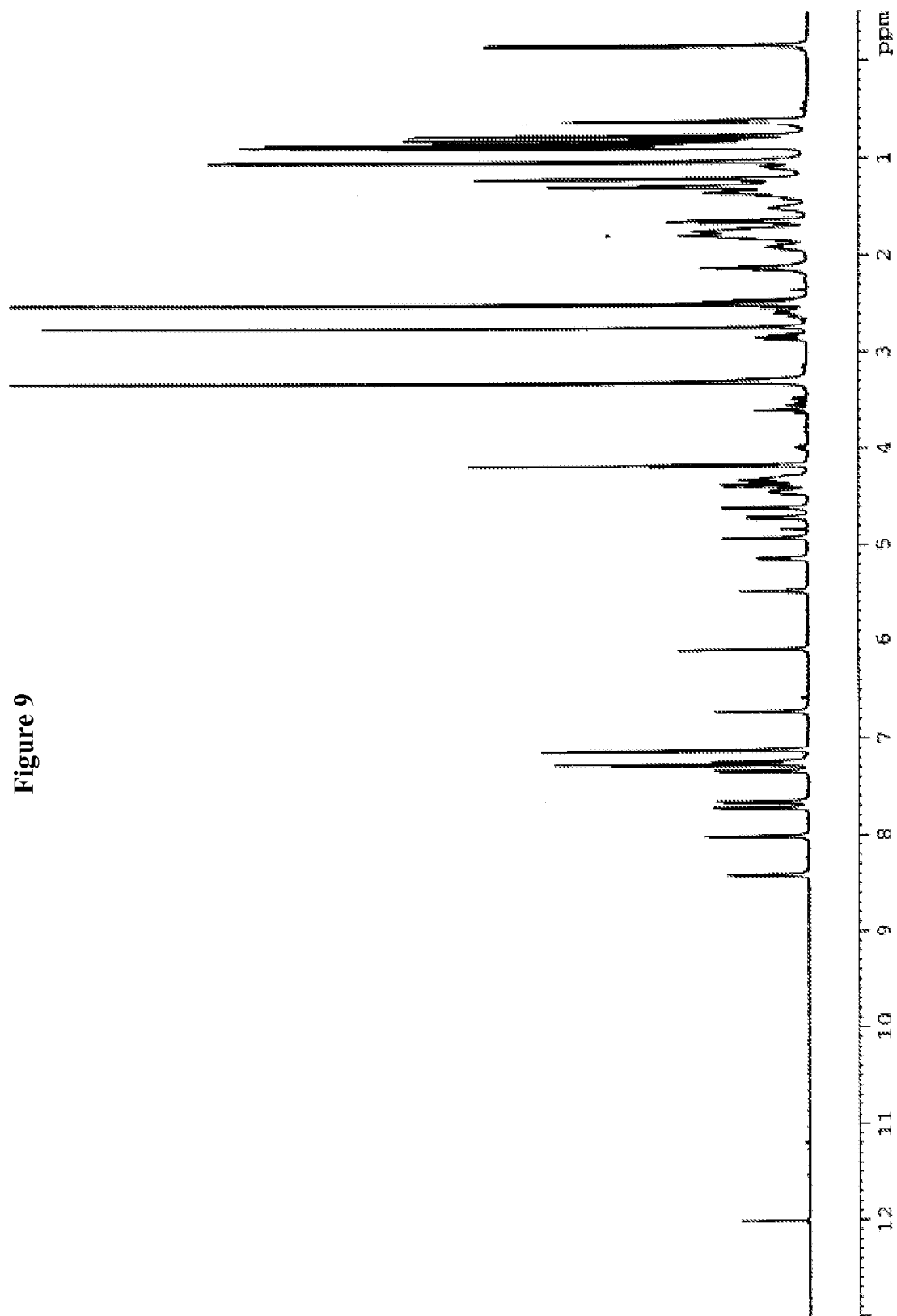
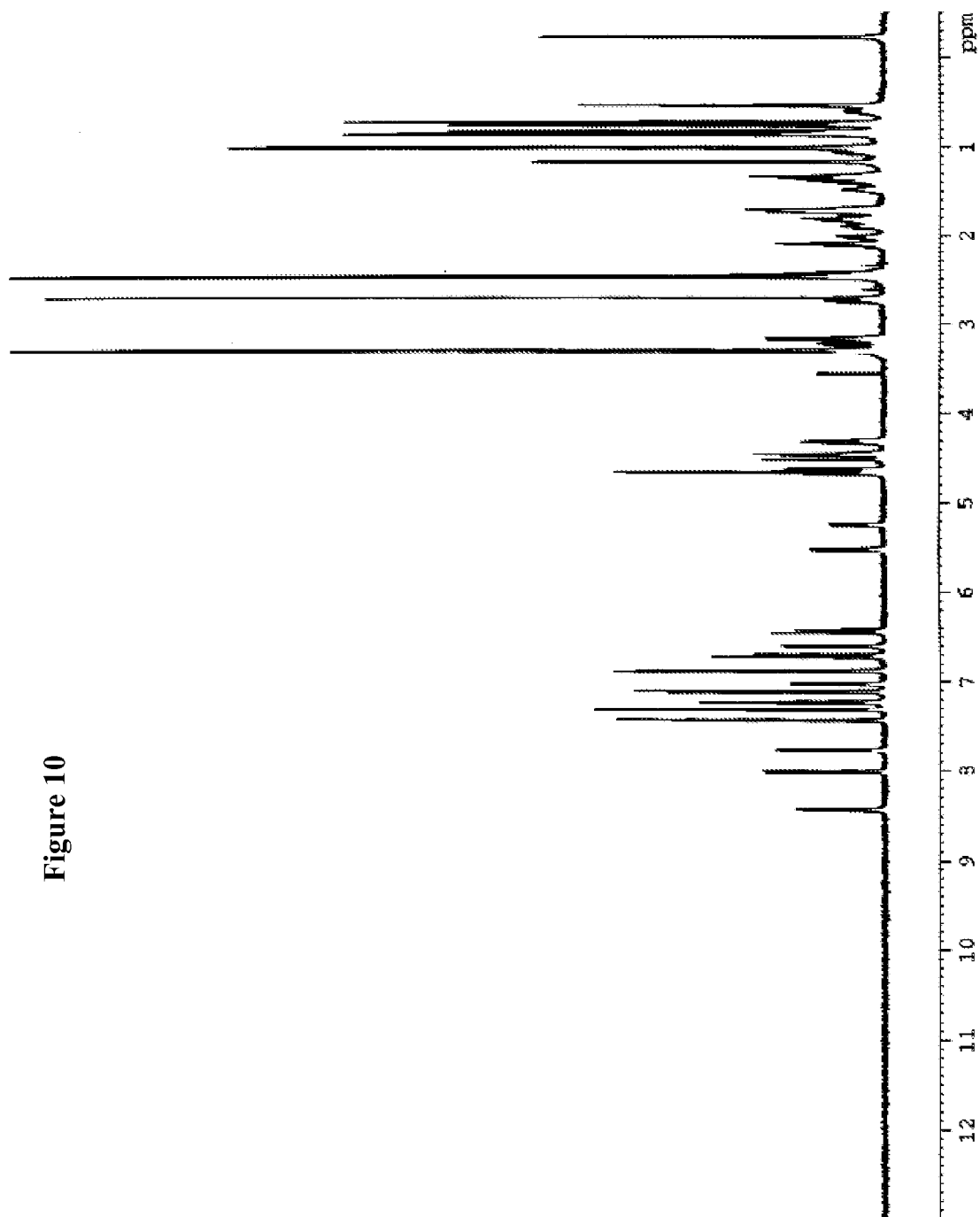
Figure 8

Figure 9





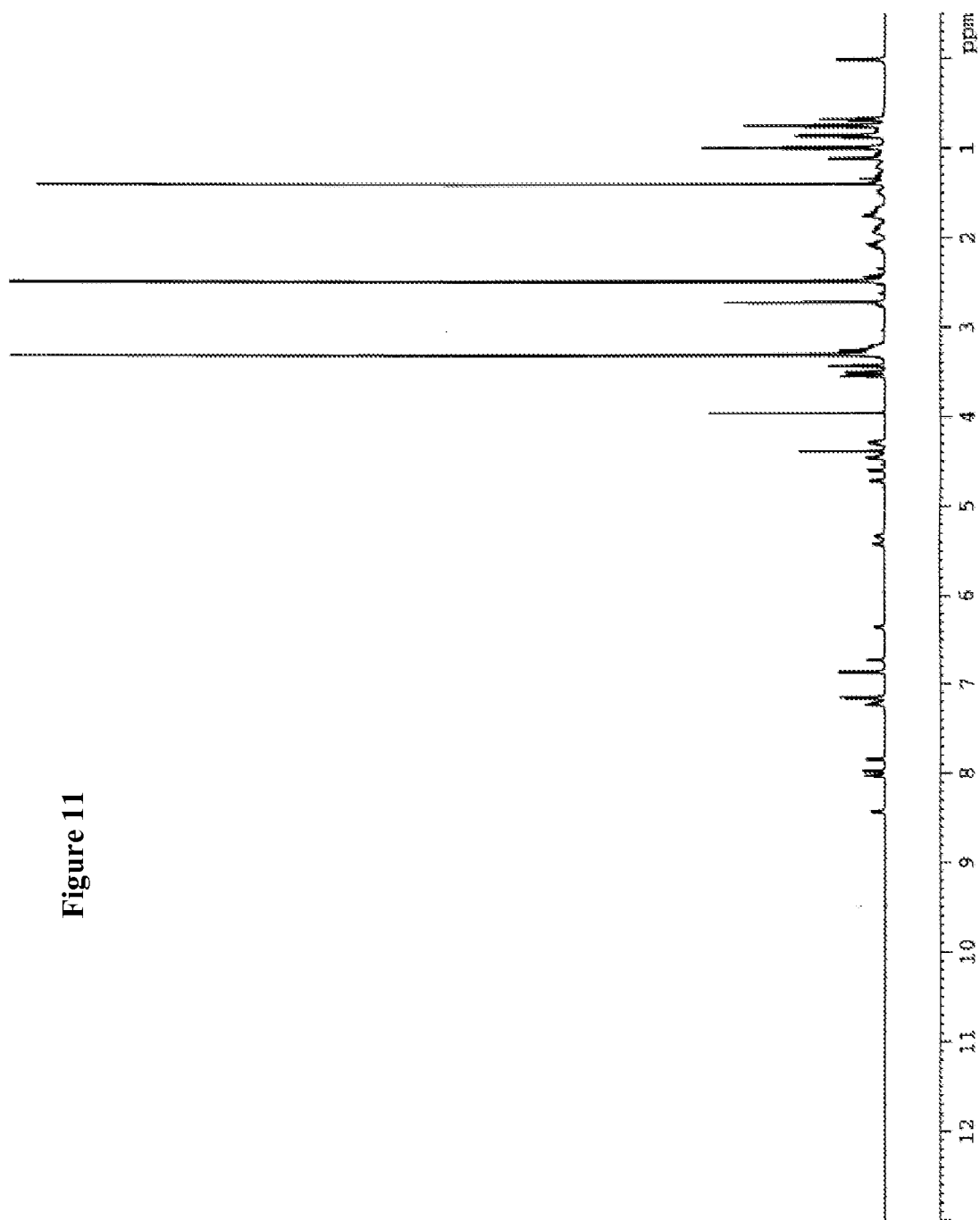
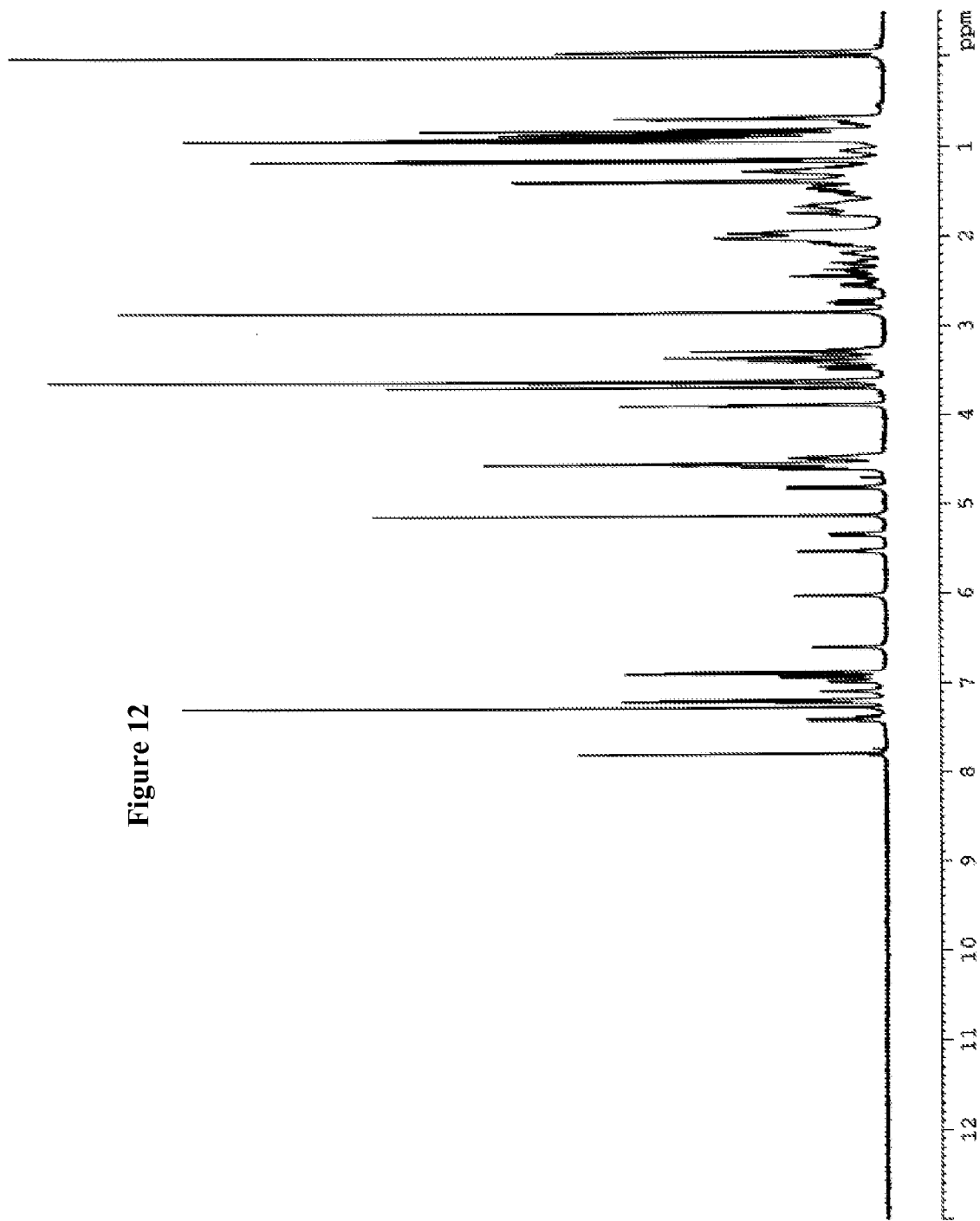


Figure 11

Figure 12



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No

PCT/EP2008/060689

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

INV: C07K11/02 A61K38/15

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

C07K A61K

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

EPO-Internal, BIOSIS, WPI Data, CHEM ABS Data, EMBASE

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	VON ELERT ERIC ET AL: "Cyanopeptolin 954, a chlorine-containing chymotrypsin inhibitor of Microcystis aeruginosa NIVA Cya 43." JOURNAL OF NATURAL PRODUCTS SEP 2005, vol. 68, no. 9, September 2005 (2005-09), pages 1324-1327, XP002462822 ISSN: 0163-3864	1-23
Y	the whole document page 1326, left-hand column; figure 1 ----- -/--	1-23

☒ Further documents are listed in the continuation of Box C.

☒ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

- "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
- "E" earlier document but published on or after the international filing date
- "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
- "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
- "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

- "T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
- "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
- "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
- "&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

9 December 2008

Date of mailing of the international search report

19/12/2008

Name and mailing address of the ISA/

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Cervigni, S

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/EP2008/060689

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	HARADA KEN-ICHI ET AL: "Co-production of microcystins and aeruginopeptins by natural cyanobacterial bloom" ENVIRONMENTAL TOXICOLOGY, vol. 16, no. 4, 2001, pages 298-305, XP002462821 ISSN: 1520-4081	1-23
Y	the whole document page 304, left-hand column; figure 4 -----	1-23
Y	MCDONOUGH MICHAEL A ET AL: "New structural insights into the inhibition of serine proteases by cyclic peptides from bacteria." CHEMISTRY & BIOLOGY OCT 2003, vol. 10, no. 10, October 2003 (2003-10), pages 898-900, XP002462824 ISSN: 1074-5521 page 900, left-hand column; figure 1 -----	1-23
Y	GRACH-POGREBINSKY OLGA ET AL: "Protease inhibitors from a Slovenian Lake Bled toxic waterbloom of the cyanobacterium Planktothrix rubescens." TETRAHEDRON, vol. 59, no. 42, 13 October 2003 (2003-10-13), pages 8329-8336, XP002507226 ISSN: 0040-4020 page 8331; table 4 page 8334, left-hand column -----	1-23
Y	MATERN UTE ET AL: "Binding structure of elastase inhibitor scyptolin A." CHEMISTRY & BIOLOGY OCT 2003, vol. 10, no. 10, October 2003 (2003-10), pages 997-1001, XP002507227 ISSN: 1074-5521 page 998, left-hand column; figure 1 -----	1-23
Y	NAMIKOSHI M ET AL: "Bioactive compounds produced by cyanobacteria" JOURNAL OF INDUSTRIAL MICROBIOLOGY AND BIOTECHNOLOGY, vol. 17, no. 5-6, 1996, pages 373-384, XP009093880 the whole document figures 6-8; table 1 -----	1-23
	-/--	

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No

PCT/EP2008/060689

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	ITOU YUSAI ET AL: "Oscillapeptins A to F, serine protease inhibitors from the three strains of <i>Oscillatoria agardhii</i>" TETRAHEDRON, vol. 55, no. 22, 28 May 1999 (1999-05-28), pages 6871-6882, XP002462823 ISSN: 0040-4020 the whole document page 6871	1-23
X	WO 95/34558 A (CIBA GEIGY AG [CH]; BIOTECHNOLOG FORSCHUNG GMBH [DE]; REICHENBACH HANS) 21 December 1995 (1995-12-21) the whole document	21
A	NAKANISHI ISAO ET AL: "Structure of porcine pancreatic elastase complexed with FR901277, a novel macrocyclic inhibitor of elastases, at 1.6 Å resolution" BIOPOLYMERS, vol. 53, no. 5, 15 April 2000 (2000-04-15), pages 434-445, XP002507276 ISSN: 0006-3525	
A	WO 2005/075667 A (BAYER HEALTHCARE AG [DE]; GOLZ STEFAN [DE]; BRUEGGEMEIER ULF [DE]; GEE) 18 August 2005 (2005-08-18)	
A	FRANZKE C-W ET AL: "ANTILEUKOPROTEASE INHIBITS STRATUM CORNEUM CHYMOTRYPTIC ENZYME EVIDENCE FOR A REGULATIVE FUNCTION IN DESQUAMATION" JOURNAL OF BIOLOGICAL CHEMISTRY, AMERICAN SOCIETY OF BIOCHEMICAL BIOLOGISTS, BIRMINGHAM,, US, vol. 271, no. 36, 6 September 1996 (1996-09-06), pages 21886-21890, XP000985338 ISSN: 0021-9258	

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/EP2008/060689

Box No. II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 2 of first sheet)

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. ☒ Claims Nos.:
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:

Although claims 13-16 are directed to a method of treatment of the human/animal body, the search has been carried out and based on the alleged effects of the compound/composition.
2. ☐ Claims Nos.:
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:
3. ☐ Claims Nos.:
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

Box No. III Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 3 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers allsearchable claims.
2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fees, this Authority did not invite payment of additional fees.
3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
4. ☐ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

Remark on Protest

- ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest and, where applicable, the payment of a protest fee.
- ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest but the applicable protest fee was not paid within the time limit specified in the invitation.
- ☐ No protest accompanied the payment of additional search fees.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No

PCT/EP2008/060689

Patent document cited in search report		Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 9534558	A	21-12-1995	AU 2792195 A DE 4421113 A1	05-01-1996 21-12-1995
WO 2005075667	A	18-08-2005	NONE	

DEPSIPÉPTIDOS CÍCLICOS

Campo de la Invención

La presente invención se relaciona con los depsipéptidos
5 cíclicos, o derivados de los mismos.

Antecedentes de la Invención

La calicreína 7 es una proteasa de serina S1 de la familia de genes de calicreína que exhibe una actividad tipo quimotripsina. La calicreína humana 7 (hK7, KLK7 o enzima quimotriptica del estrato
10 córneo (SCCE), Swissprot P49862) representa un papel importante en la fisiología de la piel (1, 2, 3). Principalmente se expresa en la piel y se ha reportado que representa un papel importante en la fisiología de la piel. La hK7 participa en la degradación de las estructuras cohesivas intracelulares en epitelios escamosos
15 cornificados en el proceso de descamación. El proceso de descamación está bien regulado y delicadamente equilibrado con la producción *de novo* de corneocitos para mantener un grosor constante del estrato córneo, la capa más exterior de la piel que participa críticamente en la función de barrera de la piel. Respecto a
20 esto, se reporta que la hK7 es capaz de disociar las proteínas corneodesmosomales corneodesmosina y desmocolina 1 (4, 5, 6). La degradación de ambas corneodesmosomas se requiere para la descamación. Además, muy recientemente se ha mostrado que las dos enzimas de procesamiento de lípidos β -glucocerebrosidasa y la
25 esfingomielinasa ácida pueden ser degradadas por la hK7 (7).

Ambas enzimas de procesamiento de lípidos son co-secretadas con sus sustratos glucosilceramidas y esfingomielina y procesan los precursores lípidos polares en sus productos más no polares, por ejemplo ceramidas, las cuales posteriormente se incorporan en las
5 membranas laminares extracelulares. La arquitectura de la membrana laminar es crítica para una barrera de la piel funcional. Finalmente, se ha mostrado que la hK7 activa el precursor de interleucina-1 β (IL-1 β) a su forma activa *in vitro* (8). Como los queratinocitos expresan la IL-1 β pero no la forma activa de la enzima
10 específica que convierte la IL-1 β (ICE o caspasa 1), se propone que la activación de la IL-1 β en la epidermis humana se presenta vía otra proteasa, siendo un candidato potencial la hK7.

Los estudios recientes relacionan una actividad aumentada de la hK7 con las enfermedades inflamatorias de la piel como la
15 dermatitis atópica, la soriasis o el síndrome de Netherton. Esto podría conducir a una degradación no controlada de las corneodesmosomas dando como resultado una descamación mal regulación, una degradación aumentada de las enzimas que procesan lípidos dando como resultado una arquitectura de
20 membrana laminar perturbada o una activación no controlada de la citocina IL-1 β proinflamatoria. El resultado neto sería una función de barrera de la piel deficiente y la inflamación (también véase la publicación internacional WO-A-2004/108139).

Debido al hecho de que la actividad de la hK7 está controlada
25 a varios niveles, distintos factores podrían ser responsables de una

actividad aumentada de la hK7 en las enfermedades inflamatorias de la piel. En primer lugar, la cantidad de proteasa que se está expresando podría estar influenciada por factores genéticos. Recientemente se describió un tal enlace genético, un polimorfismo en el 3'-UTR en el gen hK7 (9). Los autores lanzan la hipótesis de que la inserción descrita de 4 pares de bases en el 3'-UTR del gen de la calicreína 7 estabiliza el ARNm de la hK7 y da como resultado una sobreexpresión de la hK7. En segundo lugar, ya que la hK7 es secretada vía los cuerpos laminares al espacio extracelular del estrato córneo como cimógeno y no es capaz de autoactivarse, necesita ser activado por otra proteasa por ejemplo la hK5 (5). La actividad no controlada de esta enzima de activación podría resultar en una sobreactivación de la hK7. En tercer lugar, la hK7 activada podría ser inhibida por inhibidores naturales como LEKTI, ALP o elafina (10, 11). La expresión disminuida o la falta de estos inhibidores podría dar como resultado una actividad aumentada de la hK7. Recientemente se encontró que las mutaciones en el gen spink5, que codifica para LEKTI, son causas del síndrome de Netherton (12) y una mutación de un solo punto en el gen se relaciona con la dermatitis atópica (13, 14). Finalmente, otro nivel de controlar la actividad de la hK7 es el pH. La hK7 tiene un pH neutro a ligeramente alcalino óptimo (2) y hay un gradiente de pH de neutro a ácido de las capas de la más interna a la más externa en la piel. Los factores ambientales como el jabón podrían dar como resultado un aumento del pH en las capas más exteriores del estrato

córneo hacia el pH óptimo de la hK7 mediante lo cual se aumenta la actividad de la hK7.

La hipótesis de que una actividad aumentada de hK7 se relaciona con enfermedades de la piel con una barrera de la piel
5 deficiente incluyendo enfermedades inflamatorias e hiperproliferativas de la piel es apoyada por los siguientes estudios: en primer lugar, los pacientes con síndrome de Netherton muestran un fenotipo dependiente del aumento en la actividad de la proteasa de serina, una disminución en las corneodesmosomas, una
10 disminución en las enzimas que procesan lípidos β -glucocerebrosidasa y esfingomielinasa ácida, y una función de barrera deficiente (15, 16). El segundo lugar, ratones transgénicos que sobreexpresan calicreína 7 humana muestran un fenotipo de piel similar al encontrado en pacientes con dermatitis atópica (17, 18,
15 19). En tercer lugar, en la piel de pacientes con dermatitis atópica y soriasis se describieron elevados niveles de hK7 (17, 20). Además, la actividad aumentada de K7 y de este modo el mal funcionamiento de la barrera epitelial también puede representar un papel importante en la patología de otras enfermedades epiteliales tales como la
20 enfermedad inflamatoria del intestino y la enfermedad de Crohn.

Por lo tanto, se considera que la hK7 es un objetivo potencial para el tratamiento de enfermedades que participan en la mal funcionamiento epitelial tales como las enfermedades de la piel inflamatorias y/o hiperproliferativas y pruríticas como la dermatitis
25 atópica, la soriasis, el síndrome de Netherton u otras dermatosis

pruríticas tales como prurigo nodularis, comezón inespecífica de los ancianos así como otras enfermedades con mal funcionamiento de la barrera epitelial tales como la enfermedad inflamatoria del intestino y la enfermedad de Crohn y hay una necesidad de moduladores
5 específicos (agonistas o inhibidores) de los mismos.

La elastasa de neutrófilos humanos (HNE, también conocido como elastasa de leucocitos humanos, HLE) pertenece a la familia de la quimotripsina de las proteinasas serinas. Su actividad catalítica es óptima alrededor del pH 7, y el sitio catalítico está
10 compuesto de tres residuos de aminoácidos enlazados a hidrógeno: His57, Asp102, y Ser195 (en numeración de quimotripsina), los cuales forman la conocida como triada catalítica. La enzima está compuesta de una sola cadena de péptidos de 218 residuos de aminoácidos y cuatro puentes disulfuro. Muestra una identificación
15 de secuencia del 30 al 40 por ciento con otras proteinasas de serinas elastinolíticas o no elastinolíticas. La HNE de preferencia disocia la cadena de insulina B oxidada con Val en la posición P1, pero también hidroliza enlaces con Ala, Ser, o Cys en la posición P1.

La HNE se localiza en los gránulos azurofílicos de leucocitos
20 polimorfonucleares (PMNL), donde la concentración de HNE es bastante alta (3 microgramos de enzima/ 10^6 células). La principal función fisiológica es digerir bacterias y complejos inmunes y tomar parte en el proceso de defensa del anfitrión. La HNE ayuda en la migración de neutrófilos desde la sangre a varios tejidos tales como
25 las vías respiratorias como respuesta a factores quimiotácticos. La

HNE también toma parte en la cicatrización de heridas, la reparación del tejido, y en la apoptosis de los PMNLs.

Además de la elastina (componente muy flexible y muy hidrofóbico del tejido conectivo del pulmón, arterias, piel, y ligamentos), la HNE disocia muchas proteínas con importantes funciones biológicas, incluyendo diferentes tipos de colágenos, proteínas de membrana, y proteoglicanos de cartílago. La HNE también indirectamente favorece la descomposición de proteínas de matriz extracelular activando la procollagenasa, prostomelisin, y progelatinasa. La HNE inactiva varios inhibidores de proteinasa endógena tales como $\alpha 2$ -antiplasmina, $\alpha 1$ -antiquimotripsina, antitrombina, y el inhibidor de tejido de las metaloproteinasas.

La actividad extracelular de la elastasa está íntimamente controlada en el sistema pulmonar por el inhibidor de $\alpha 1$ -proteasa ($\alpha 1$ PI), responsable de la protección de las vías respiratorias inferiores del daño elastolítico, mientras que el inhibidor de proteinasa de leucocito secretor protege principalmente las vías respiratorias superiores. En varios estados patofisiológicos pulmonares, por ejemplo, enfisema pulmonar, bronquitis crónica, y fibrosis quística, los inhibidores de elastasa endógena son ineficientes para regular la actividad de HNE.

La HNE se considera que es la principal fuente de daño de tejido asociada con enfermedades inflamatorias tales como el enfisema pulmonar, el síndrome de insuficiencia respiratoria de adultos (ARDS), la bronquitis crónica, la enfermedad pulmonar

obstructiva crónica (COPD), la hipertensión pulmonar, y otras enfermedades así como displasia broncopulmonar en neonatos prematuros. La HNE se presenta en la patogénesis de las secreciones aumentadas y anormales de las vías respiratorias comúnmente asociadas con las enfermedades inflamatorias de las vías respiratorias. De este modo, el fluido del lavado broncoalveolar (BAL) de los pacientes con bronquitis crónica y fibrosis cística tiene actividad aumentada de la HNE. Además, se ha propuesto que la elastasa excesiva contribuye no sólo a estas enfermedades inflamatorias, sino también a las enfermedades inflamatorias agudas tales como ARDS y el choque séptico.

Por lo tanto, se considera que la HNE es un objetivo potencial para el tratamiento de las enfermedades relacionadas con la actividad de HNE tales como las enfermedades inflamatorias como el enfisema pulmonar, el síndrome de insuficiencia respiratoria de adultos (ARDS), la bronquitis crónica, la enfermedad pulmonar obstructiva crónica (COPD), la hipertensión pulmonar, y otras enfermedades inflamatorias así como la displasia broncopulmonar en los neonatos prematuros, y las enfermedades relacionadas con secreciones aumentadas y anormales de las vías respiratorias así como enfermedades inflamatorias agudas. De este modo hay una necesidad de moduladores específicos (agonistas o inhibidores) de la HNE.

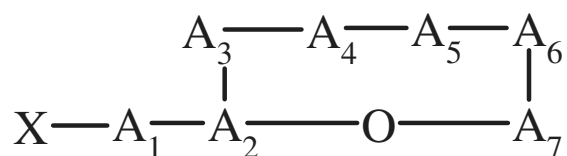
El tratamiento puede ser local o la aplicación sistémica tal como cremas, ungüentos y supositorios o mediante aplicación oral o

subcutánea o intravenosa o por inhalación, respectivamente.

Las *Chondromyces* son un género en la familia de *Poliangiaceae*, que pertenece al orden de los *Myxococcales* dentro de la Delta-proteobacteria. Las bacteria del orden de *Myxococcales*,
 5 también llamadas mixobacterias o bacterias mixtas, son bacterias en forma de bastón gram negativas con dos características que las distinguen de la mayoría de las demás bacterias. Ellas se enjambran en superficies sólidas usando un mecanismo de deslizamiento activo y se agregan para formar cuerpos fructificados contra la inanición
 10 (Kaiser (2003)). Los presentes inventores han identificado depsipéptido cíclico producido por *Chondromyces* que son capaces de modular específicamente la calicreína 7.

Breve Descripción de la Invención

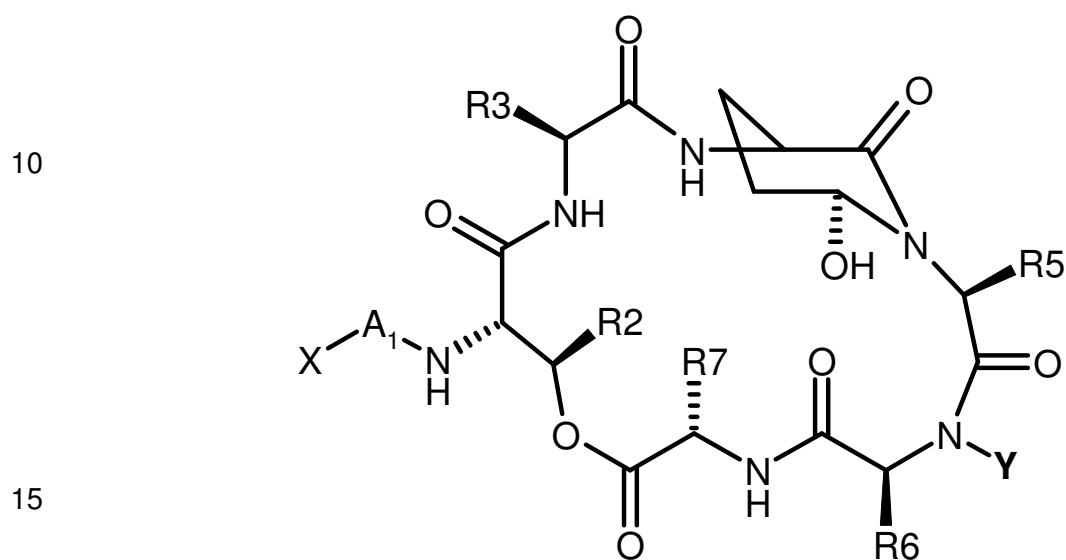
En un aspecto, la presente invención se relaciona con los
 15 depsipéptidos cíclicos, o derivados de los mismos, que tienen la estructura de fórmula (I):



20 en donde el enlace éster se encuentra entre el grupo carboxilo de A7 y el grupo hidroxilo de A2, en donde X y A₁ cada uno son independientemente opcionales, y en donde X es cualquier residuo químico, en donde A₁ es un aminoácido estándar que no es ácido aspártico o un derivado del aminoácido estándar, en donde A₂ es
 25 treonina o serina, en donde A₃ es un aminoácido estándar no básico

o un derivado no básico del mismo, en donde A_4 es Ahp, deshidro-AHP, prolina o un derivado de los mismos, en donde A_5 es isoleucina o valina, en donde A_6 es tirosina o un derivado de la misma y en donde A_7 es leucina, isoleucina o valina.

5 De manera alternativa, los depsipéptidos cíclicos de la invención, o derivados de los mismos, se pueden representar de acuerdo con la Fórmula (I'):



en donde X y A_1 son como se definen en las reivindicaciones, y en donde R2 es H o metilo.

20 R3 la cadena lateral de un aminoácido no básico o un derivado no básico del mismo.

R5 es la cadena lateral del aminoácido isoleucina o valina.

R6 es la cadena lateral de tirosina o un derivado de la misma.

R7 es la cadena lateral del aminoácido leucina, isoleucina o valina.

25 Y es ya sea hidrógeno o un grupo metilo,

Y en donde Ahp se puede sustituir por deshidro-AHP, Ahp-I, Ahp-II, prolina o un derivado de las mismas.

La presente invención también se relaciona con una sal farmacéuticamente aceptable de este depsipéptido cíclico o un
5 derivado del mismo.

En los depsipéptidos cíclicos de la invención X puede ser H o un residuo acilo, por ejemplo, $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CO}$, $(\text{CH}_3)_2\text{CHCH}_2\text{CO}$ o $(\text{CH}_3)_2\text{CHCO}$.

En los depsipéptidos cíclicos de la invención A1 puede ser
10 glutamina, ácido glutámico, o un derivado del mismo, por ejemplo un nitrilo glutámico o un éster de ácido glutámico.

En los depsipéptidos cíclicos de la invención A2 puede ser treonina o un derivado de la misma.

En los depsipéptidos cíclicos de la invención A3 puede ser
15 leucina.

En los depsipéptidos cíclicos de la invención A6 puede ser tirosina.

En algunas modalidades de los depsipéptidos cíclicos de la invención A4 puede ser el derivado de Ahp 3-amino-piperidin-2-ona, Ahp-I o Ahp-II.
20

En algunas modalidades de los depsipéptidos cíclicos, o derivados de los mismos, de la invención, X es $(\text{CH}_3)_2\text{CHCO}$, A₁ es glutamina, ácido glutámico o un derivado de los mismos, A₂ es treonina, A₃ es leucina, A₄ es Ahp o un derivado del mismo, A₅ es
25 isoleucina o valina, A₆ es tirosina o un derivado de la misma, y A₇ es

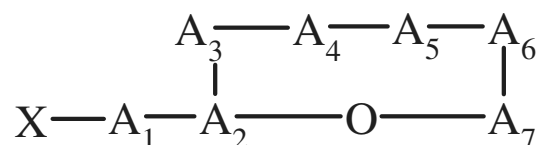
isoleucina o valina.

En otras modalidades de depsipéptido cíclico, o derivados del mismo, de la invención, X es $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CO}$, A_1 es glutamina, ácido glutámico o un derivado del mismo, A_2 es treonina, A_3 es leucina, A_4 es Ahp o un derivado del mismo, A_5 es isoleucina, A_6 es tirosina o un derivado de la misma, y A_7 es isoleucina.

En todavía otras modalidades de depsipéptido cíclico, o derivado del mismo, de la invención, X es $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CO}$, A_1 es glutamina, ácido glutámico o un derivado del mismo, A_2 es treonina, A_3 es leucina, A_4 es deshidro-AHP o un derivado del mismo, A_5 es isoleucina, A_6 es tirosina o un derivado de la misma, y A_7 es isoleucina.

En otras modalidades de depsipéptido cíclico, o derivado del mismo, de la invención, X es $(\text{CH}_3)_2\text{CHCH}_2\text{CO}$, A_1 es glutamina, ácido glutámico o un derivado del mismo, A_2 es treonina, A_3 es leucina, A_4 es deshidro-AHP o un derivado del mismo, A_5 es isoleucina, A_6 es tirosina o un derivado de la misma, y A_7 es isoleucina.

La presente invención más aún se relaciona con depsipéptidos cíclicos, o derivados de los mismos que tienen la estructura de la fórmula (I)



en donde el enlace éster se encuentra entre el grupo carboxilo de A_7 y el grupo hidroxilo de A_2 , en donde X es $(\text{CH}_3)_2\text{CHCH}_2\text{CO}$, en donde

A₁ es glutamina, ácido glutámico o un derivado del mismo, en donde A₂ es treonina, en donde A₃ es leucina, en donde A₄ es Ahp o prolina, o un derivado de los mismos, en donde A₅ es fenilalanina, en donde A₆ es tirosina o un derivado de la misma, y en donde A₇ es valina.

En modalidades particulares de la misma, X es (CH₃)₂CH CH₂CO, A₁ es glutamina, ácido glutámico o un derivado del mismo, A₂ es treonina, A₃ es leucina, A₄ es Ahp o un derivado del mismo, A₅ es fenilalanina, A₆ es tirosina o un derivado de la misma, y A₇ es valina.

En otras modalidades de la misma, X es (CH₃)₂CH CH₂CO, A₁ es glutamina, ácido glutámico o un derivado del mismo, A₂ es treonina, A₃ es leucina, A₄ es prolina, o un derivado de la misma, A₅ es fenilalanina, A₆ es tirosina o un derivado de la misma, y A₇ es valina. En las modalidades, el átomo de nitrógeno del enlace amida entre A₅ y A₆ se puede sustituir con un metilo.

En el depsipéptido cíclico, o derivado del mismo, de la invención, A₁, A₂, A₃, A₅, A₆ y A₇ pueden ser aminoácidos L. Más aún, A₄ puede ser 3S,6R Ahp.

La presente invención también se relaciona con el uso de los depsipéptidos descritos anteriormente, y los derivados de los mismos, como un medicamento. Por ejemplo, para el tratamiento del cáncer, en particular cáncer de ovario, o para el tratamiento de enfermedades inflamatorias y/o hiperproliferativas y pruríticas de la piel tales como queloides, escaras hipertróficas, acné, dermatitis

atópica, soriasis, soriasis pustular, rosácea, síndrome de Netherton u
otras dermatoses pruríticas tales como prurigo nodularis, comezón
inespecífica de los ancianos así como otras enfermedades con mal
funcionamiento de la barrera epitelial tal como la piel avejentada,
5 enfermedad inflamatoria del intestino y enfermedad de Crohn, así
como pancreatitis, o de cáncer, en particular cáncer de ovario,
fibrosis cística (CF), enfermedad pulmonar obstructiva crónica
(COPD), fibrosis pulmonar, síndrome de insuficiencia respiratoria de
adultos, bronquitis crónica, enfisema hereditario, artritis reumatoide,
10 IBD, soriasis, asma.

En una modalidad, la presente invención se relaciona con el
uso de los depsipéptidos descritos anteriormente y derivados de los
mismos, como un medicamento para el tratamiento de enfermedades
de la piel inflamatorias y/o hiperproliferativas y pruríticas tales como
15 queloides, escaras hipertróficas, acné, dermatitis atópica, soriasis,
soriasis pustular, rosácea, síndrome de Netherton u otras
dermatoses pruríticas tales como prurigo nodularis, comezón
inespecífica de los ancianos así como otras enfermedades con mal
funcionamiento de la barrera epitelial tal como piel envejecida,
20 enfermedad inflamatoria del intestino y enfermedad de Crohn, así
como pancreatitis, o de cáncer, en particular cáncer de ovario.

En otra modalidad, la presente invención se relaciona con el
uso de los depsipéptidos descritos anteriormente, y derivados de los
mismos, como un medicamento para el tratamiento de fibrosis cística
25 (CF), enfermedad pulmonar obstructiva crónica (COPD), fibrosis

pulmonar, síndrome de insuficiencia respiratoria de adultos, bronquitis crónica, enfisema hereditario, artritis reumatoide, IBD, soriasis, asma.

En todavía otra modalidad, la presente invención se relaciona con el uso de los depsipéptidos descritos anteriormente, y derivados de los mismos, como un medicamento para el tratamiento de enfermedades de la piel inflamatorias y/o hiperproliferativas y pruríticas tales como queloides, escaras hipertróficas, acné, dermatitis atópica, soriasis, soriasis pustular, rosácea, síndrome de Netherton u otras dermatosis pruríticas tales como prurigo nodularis, comezón inespecífica de los ancianos.

La presente invención también abarca procesos para producir el depsipéptido cíclico, o derivado del mismo, de la invención, por ejemplo mediante el cultivo de una cepa de *Chondromyces*, una variante o mutante de la misma, en un medio conveniente, y la derivación química opcional del depsipéptido cíclico así producido, o mediante la expresión de los genes de biosíntesis de una cepa de *Chondromyces*, una variante mutante de la misma, en una cepa anfitriona microbiana heteróloga, y la derivación química opcional del depsipéptido cíclico así producido.

Estos procesos de la invención se pueden realizar con las cepas de *Chondromyces crocatus* (DSM 19329) o *Chondromyces robustus* (DSM 19330) o *Chondromyces apiculatus* (DSM 21595).

La presente invención entonces también se relaciona con microorganismos *Chondromyces* aislados depositados bajo el número

de acceso DSM 19329 o DSM 19330 o DSM 21595 y con los depsipéptidos cíclicos, o derivados de los mismos, producidos por esos microorganismos *Chondromyces* aislados.

Descripción de las Figuras

5 Figura 1: espectro de RMN ^1H del compuesto de la fórmula (II)
(600 MHz, d_6 -DMSO)

 Figura 2: espectro de RMN ^{13}C del compuesto de la fórmula (II)
(150 MHz, d_6 -DMSO)

 Figura 3: espectro de RMN ^1H del compuesto de la fórmula
10 (VIII) (600 MHz, d_6 -DMSO)

 Figura 4: espectro de RMN ^{13}C del compuesto de la fórmula
(VIII) (150 MHz, d_6 -DMSO)

 Figura 5: espectro de RMN ^1H de un derivado del depsipéptido
cíclico de acuerdo con la fórmula (II) en donde el Ahp se ha
15 convertido en 3-amino-piperidin-2-ona (Ejemplo 4).

 Figura 6: espectro de RMN ^1H de un derivado del depsipéptido
cíclico de acuerdo con el Ejemplo 5. (500 MHz, d_6 -DMSO)

 Figura 7: espectro de RMN ^1H de un derivado del depsipéptido
cíclico de acuerdo con el Ejemplo 19. (500 MHz, d_6 -DMSO)

20 Figura 8: espectro de RMN ^1H de un derivado del depsipéptido
cíclico de acuerdo con el Ejemplo 21. (500 MHz, d_6 -DMSO)

 Figura 9: espectro de RMN ^1H de un derivado del depsipéptido
cíclico de acuerdo con el Ejemplo 26. (500 MHz, d_6 -DMSO)

 Figura 10: espectro de RMN ^1H de un derivado del depsipéptido
25 cíclico de acuerdo con el Ejemplo 32. (500 MHz, d_6 -DMSO)

Figura 11: espectro de RMN ^1H de un derivado del depsipéptido cíclico de acuerdo con el Ejemplo 44. (500 MHz, $\text{d}_6\text{-DMSO}$)

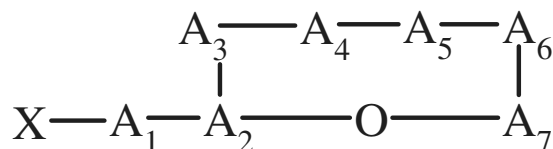
Figura 12: espectro de RMN ^1H de un derivado del depsipéptido cíclico de acuerdo con el Ejemplo 45. (500 MHz, $\text{d}_6\text{-DMSO}$)

5

Descripción Detallada de la Invención

Como se describió en la presente anteriormente y en las reivindicaciones, la presente invención se relaciona en un aspecto con los depsipéptidos cíclicos, o derivados de los mismos, que tienen la estructura de la fórmula (I):

10



15

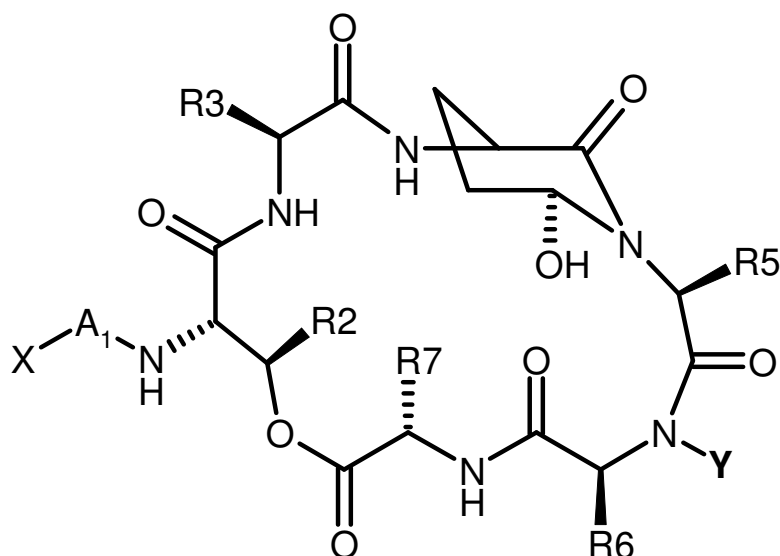
en donde el enlace éster se encuentra entre el grupo carboxilo de A_7 y el grupo hidroxilo de A_2 , en donde X y A_1 cada uno es independientemente opcional, y en donde X es cualquier residuo químico, en donde A_1 es un aminoácido estándar que no es ácido aspártico, en donde A_2 es treonina o serina, en donde A_3 es un aminoácido estándar no básico o un derivado no básico del mismo, en donde A_4 es Ahp, deshidro-AHP, prolina o un derivado de los mismos, en donde A_5 es isoleucina o valina, en donde A_6 es tirosina o un derivado de la misma y en donde A_7 es leucina, isoleucina o valina.

20

De manera alternativa, los depsipéptidos cíclicos de la invención, o un derivado de los mismos, se pueden representar de acuerdo con la Fórmula (I'):

25

5



10 en donde X y A₁ son como se definen en las reivindicaciones, y
en donde

R2 es la cadena lateral del aminoácido treonina o serina.

R3 la cadena lateral de un aminoácido no básico o un derivado no básico del mismo.

15 R5 es la cadena lateral del aminoácido isoleucina o valina.

R6 es la cadena lateral de tirosina o un derivado de la misma.

R7 es la cadena lateral del aminoácido leucina, isoleucina o valina.

Y es ya sea hidrógeno o un grupo metilo,

20 Y en donde Ahp se puede sustituir por deshidro-AHP, Ahp-I, Ahp-II, prolina o un derivado de los mismos.

La presente invención también se relaciona con una sal farmacéuticamente aceptable de este depsipéptido cíclico o un derivado del mismo.

25 En los depsipéptidos cíclicos de la invención, el átomo de

nitrógeno del aminoácido entre A5 y A6 se puede sustituir con un metilo.

En los depsipéptidos cíclicos de la invención X puede ser H o un residuo acilo, por ejemplo, $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CO}$, $(\text{CH}_3)_2\text{CHCH}_2\text{CO}$ o
 5 $(\text{CH}_3)_2\text{CHCO}$.

En los depsipéptidos cíclicos de la invención A1 puede ser glutamina, ácido glutámico, o un derivado del mismo.

En los depsipéptidos cíclicos de la invención A2 puede ser treonina.

10 En los depsipéptidos cíclicos de la invención A3 puede ser leucina.

En los depsipéptidos cíclicos de la invención A6 puede ser tirosina o un derivado de la misma.

En algunas modalidades de los depsipéptidos cíclicos de la invención A4 puede ser el derivado Ahp 3-amino-piperidin-2-ona, Ahp-I o Ahp-II.
 15

En algunas modalidades del depsipéptido cíclico, o derivado del mismo, de la invención, X es $(\text{CH}_3)_2\text{CHCO}$, A₁ es glutamina, ácido glutámico o un derivado de los mismos, A₂ es treonina, A₃ es leucina,
 20 A₄ es Ahp o un derivado del mismo, A₅ es isoleucina o valina, A₆ es tirosina o un derivado de la misma, y A₇ es isoleucina o valina.

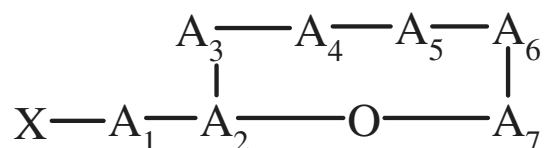
En otras modalidades del depsipéptido cíclico, o derivados del mismo, de la invención, X es $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CO}$, A₁ es glutamina, ácido glutámico o un derivado de los mismos, A₂ es treonina, A₃ es
 25 leucina, A₄ es Ahp o un derivado del mismo, A₅ es isoleucina, A₆ es

tirosina o un derivado de la misma, y A₇ es isoleucina.

En todavía otras modalidades de depsipéptido cíclico, o derivado del mismo, de la invención, X es CH₃CH₂CH(CH₃)CO, A₁ es glutamina, ácido glutámico o un derivado del mismo, A₂ es treonina, A₃ es leucina, A₄ es deshidro-AHP o un derivado del mismo, A₅ es isoleucina, A₆ es tirosina o un derivado de la misma, y A₇ es isoleucina.

En otras modalidades de depsipéptido cíclico, o derivado del mismo, de la invención, X es (CH₃)₂CHCH₂CO, A₁ es glutamina, ácido glutámico o un derivado de los mismos, A₂ es treonina, A₃ es leucina, A₄ es deshidro-AHP o un derivado del mismo, A₅ es isoleucina, A₆ es tirosina o un derivado de la misma, y A₇ es isoleucina.

La presente invención más aún se relaciona con depsipéptidos cíclicos, o derivados de los mismos que tienen la estructura de la fórmula (I)



en donde el enlace éster se encuentra entre el grupo carboxilo de A₇ y el grupo hidroxilo de A₂, en donde X es (CH₃)₂CHCH₂CO, en donde A₁ es glutamina, ácido glutámico o un derivado de los mismos, en donde A₂ es treonina, en donde A₃ es leucina, en donde A₄ es Ahp o prolina, o un derivado de los mismos, en donde A₅ es fenilalanina, en donde A₆ es tirosina o un derivado de la misma, y en donde A₇ es valina.

En modalidades particulares de la misma, X es $(\text{CH}_3)_2\text{CH}$
 CH_2CO , A_1 es glutamina, ácido glutámico o un derivado de los
 mismos, A_2 es treonina, A_3 es leucina, A_4 es Ahp o un derivado del
 mismo, A_5 es fenilalanina, A_6 es tirosina o un derivado de la misma, y
 5 A_7 es valina.

En otras modalidades de la misma, X es $(\text{CH}_3)_2\text{CH}$ CH_2CO , A_1
 es glutamina, ácido glutámico o un derivado de los mismos, A_2 es
 treonina, A_3 es leucina, A_4 es prolina, o un derivado de la misma, A_5
 es fenilalanina, A_6 es tirosina o un derivado de la misma, y A_7 es
 10 valina. En las modalidades, el átomo de nitrógeno del enlace amida
 entre A_5 y A_6 se puede sustituir con un metilo.

En el depsipéptido cíclico, o derivado del mismo, de la
 invención, A_1 , A_2 , A_3 , A_5 , A_6 y A_7 pueden ser aminoácidos L. Más
 aún, A_4 puede ser 3S,6R Ahp.

15 A_5 es por isoleucina, fenilalanina o valina. A_5 es en particular
 isoleucina o valina, y de preferencia isoleucina.

En otra modalidad, A_5 puede ser fenilalanina en particular
 cuando A_4 no es Ahp, y el resto de las variables son como se
 definen en la reivindicación 1.

20 En otra modalidad, A_4 es 5-hidroxiprolina y A_5 es isoleucina, y
 el resto de las variables son como se definen en la reivindicación 1.

En otra modalidad, A_4 es Ahp y A_5 es isoleucina, y el resto de
 las variables son como se definen en la reivindicación 1.

25 En otra modalidad, A_4 es Ahp-I y A_5 es isoleucina, y el resto
 de las variables son como se definen en la reivindicación 1.

En otra modalidad, A4 es Ahp-II y A5 es isoleucina, y el resto de las variables son como se definen en la reivindicación 1.

En otra modalidad, A4 es Ahp, A5 y A7 son isoleucina, y el resto de las variables son como se definen en la reivindicación 1.

5 En otra modalidad, A4 es Ahp-I, A5 y A7 son isoleucina, y el resto de las variables son como se definen en la reivindicación 1.

En otra modalidad, A4 es Ahp-II, A5 y A7 son isoleucina, y el resto de las variables son como se definen en la reivindicación 1.

10 En otra modalidad, A4 es 5-hidroxiprolina, A5 y A7 son isoleucina, y el resto de las variables son como se definen en la reivindicación 1.

Como se usa en la presente, A1 es una glutamina, ácido glutámico, ornitina, o un derivado de glutamina tal como por ejemplo nitrilo glutámico, éster de ácido glutámico tal como éster de alquilo
15 de 1 a 12 átomos de carbono (por ejemplo metiléster de ácido glutámico) o tal como éster de arilo de 6 a 24 átomos de carbono (por ejemplo, feniléster o benciléster de ácido glutámico).

La presente invención también se relaciona con el uso de los depsipéptidos descritos anteriormente, y derivados de los mismos,
20 como un medicamento. Por ejemplo para el tratamiento del cáncer, en particular del cáncer de ovario, o para el tratamiento de enfermedades inflamatorias y/o hiperproliferativas y pruríticas de la piel tales como queloides, escaras hipertróficas, acné, dermatitis atópica, soriasis, síndrome de Netherton u otras dermatosis
25 pruríticas tales como prurigo nodularis, comezón inespecífica de los

ancianos así como otras enfermedades con mal funcionamiento de la barrera epitelial tal como enfermedad inflamatoria del intestino y enfermedad de Crohn, así como pancreatitis.

En una modalidad, la presente invención se relaciona con el uso de los depsipéptidos descritos anteriormente, y derivados de los mismos, como un medicamento para el tratamiento de enfermedades de la piel inflamatorias y/o hiperproliferativas y pruríticas tales como queloides, escaras hipertróficas, acné, dermatitis atópica, soriasis, soriasis pustular, rosácea, síndrome de Netherton u otras dermatosis pruríticas tales como prurigo nodularis, comezón inespecífica de los ancianos así como otras enfermedades con mal funcionamiento de la barrera epitelial tales como piel envejecida, enfermedad inflamatoria del intestino y enfermedad de Crohn, así como pancreatitis, o de cáncer, en particular cáncer de ovario.

En otra modalidad, la presente invención se relaciona con el uso de los depsipéptidos descritos anteriormente, y derivados de los mismos, como un medicamento para el tratamiento de fibrosis cística (CF), enfermedad pulmonar obstructiva crónica (COPD), fibrosis pulmonar, síndrome de insuficiencia respiratoria adulta, bronquitis crónica, enfisema hereditario, artritis reumatoides, IBD, soriasis, asma.

En todavía otra modalidad, la presente invención se relaciona con el uso de los depsipéptidos descritos anteriormente, y derivados de los mismos, como un medicamento para el tratamiento de enfermedades de la piel inflamatorias y/o hiperproliferativas y

pruríticas tales como queloides, escaras hipertróficas, acné, dermatitis atópica, soriasis, soriasis pustular, rosácea, síndrome de Netherton u otras dermatosis pruríticas tales como prurigo nodularis, comezón inespecífica de los ancianos.

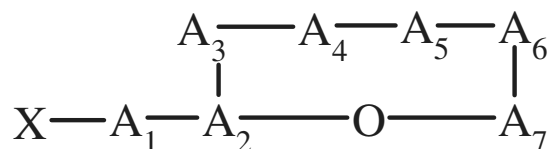
5 La presente invención también abarca procesos para producir el depsipéptido cíclico, o derivado del mismo, de la invención, por ejemplo mediante el cultivo de la cepa de *Chondromyces*, una variante o mutante de la misma, en un medio conveniente, y la derivación química opcional del depsipéptido cíclico así producido, o
10 mediante la expresión de los genes de biosíntesis de una cepa de *Chondromyces*, una variante mutante del mismo, en una cepa anfitriona microbiana heteróloga, y la derivación química opcional del depsipéptido cíclico así producido.

 Estos procesos de la invención se pueden realizar con las
15 cepas de *Chondromyces crocatus* (DSM 19329) o *Chondromyces robustus* (DSM 19330) o *Chondromyces apiculatus* (DSM 21595).

 La presente invención por lo tanto también se relaciona con microorganismos *Chondromyces* aislados depositados bajo el número de acceso DSM 19329 o DSM 19330 o DSM 21595 y con los
20 depsipéptidos cíclicos, o derivados de los mismos, producidos por estos microorganismos *Chondromyces* aislados.

 La presente invención proporciona:

 Un depsipéptido cíclico, o un derivado del mismo, que tiene la estructura de la fórmula (I):



5

en donde se forma un enlace de éster entre un grupo carboxilo de A7 y un grupo hidroxilo de A2, en donde X y A₁ cada uno independientemente es opcional, y en donde:

X es H o una fracción que modifica al grupo amino y típicamente se puede seleccionar de un residuo arilo carbonilo o de un residuo acilo,

A₁ es glutamina, ornitina, ácido glutámico o un derivado de los mismos;

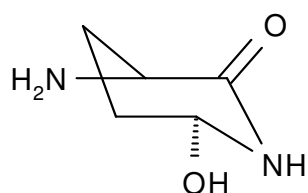
A₂ es treonina o serina,

15 A₃ es leucina,

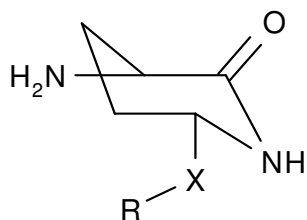
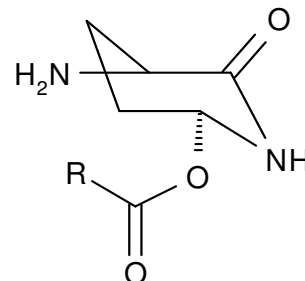
A₄ es Ahp, 3-amino-piperidina-2-ona, deshidro-AHP, Ahp-I, Ahp-II, prolina, 5-hidroxi-prolina o un derivado de la misma, en donde el punto de fusión (con A₃ y A₅) está en el átomo de nitrógeno y el oxígeno carboxilo (en virtud del reemplazo del átomo de hidrógeno por un enlace) de la prolina, y 5-hidroxiprolina,

20 en donde Ahp, 3-amino-piperidina-2-ona, deshidro-AHP, Ahp-I, y Ahp-II, son como se definen más adelante, y en donde el punto de fusión (con A₃ y A₅) está en los átomos de nitrógeno de los compuestos (en virtud del reemplazo de un átomo de hidrógeno por un enlace):

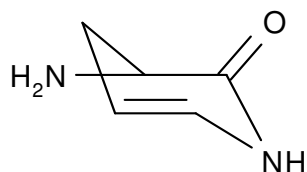
25

**3-amino-6-hidroxi-piperidin-2-ona (Ahp)**

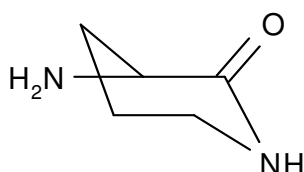
5

**Ahp-I****X = O ó enlace****Ahp-II**

10

**3-amino-3,4-dihidro-1H-piridin-2-ona (dehidro-AHP)**

15

**3-amino-piperidin-2-ona**

En donde X es O, o un enlace, y R es una fracción orgánica o es un radical como se define en la reivindicación 3,

20

A5 es isoleucina, fenilalanina o valina,

A6 es tirosina, N-Me-tirosina o un derivado de las mismas,

A7 es leucina, isoleucina o valina,

o una sal farmacéuticamente aceptable de las mismas.

El depsipéptido de la reivindicación 1, en donde X es

25

CH₃CH₂CH(CH₃)CO, (CH₃)₂CHCH₂CO, (CH₃)₂CHCO, CH₃CO o Fenil-

CO.

El depsipéptido de la reivindicación 1, en donde el átomo de nitrógeno del enlace amida entre A5 y A6 se sustituye con un metilo y el grupo OH de la tirosina es OR, en donde R se selecciona del grupo que consiste en hidrógeno, alquilo de 1 a 12 átomos de carbono, alquenilo de 2 a 12 átomos de carbono, alquinilo de 2 a 12 átomos de carbono, haloalquilo de 1 a 12 átomos de carbono, haloalquenilo de 2 a 12 átomos de carbono, haloalquinilo de 2 a 12 átomos de carbono, alcóxido (con de 1 a 12 átomos de carbono) carbonilo, alcóxido (con de 1 a 12 átomos de carbono) carbonilo alquilo (con de 1 a 12 átomos de carbono), alquilo (con de 1 a 12 átomos de carbono) aminocarbonilo, no sustituido o sustituido adicionalmente por arilo, arilalquilo, arilalquenilo o arilalquinilo, heterociclilo y heterociclilalquilo.

El depsipéptido de la reivindicación 1, en donde A4 es el derivado de Ahp 3-amino-piperidin-2-ona, Ahp-I o Ahp-II, en donde R se selecciona entre el grupo que consiste en alquilo de 1 a 12 átomos de carbono, alquenilo de 2 a 12 átomos de carbono, alquinilo de 2 a 12 átomos de carbono, haloalquilo de 1 a 12 átomos de carbono, alcóxido de 1 a 12 átomos de carbono-alquilo de 1 a 12 átomos de carbono, alcóxido de 1 a 12 átomos de carbono-alcóxido de 1 a 12 átomos de carbono-alquilo de 1 a 12 átomos de carbono, hidroxialquilo de 1 a 12 átomos de carbono, fenilo y fenilalquilo de 1 a 6 átomos de carbono.

El depsipéptido de la reivindicación 1, en donde el residuo

acilo X es $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CO}$ o $(\text{CH}_3)_2\text{CHCO}$,

A_1 es glutamina, ácido glutámico, o un derivado de los mismos,

A_2 es treonina,

A_3 es leucina,

5 A_4 es Ahp, 3-amino-piperidina-2-ona, prolina, 5-hidroxi-prolina o un derivado de las mismas,

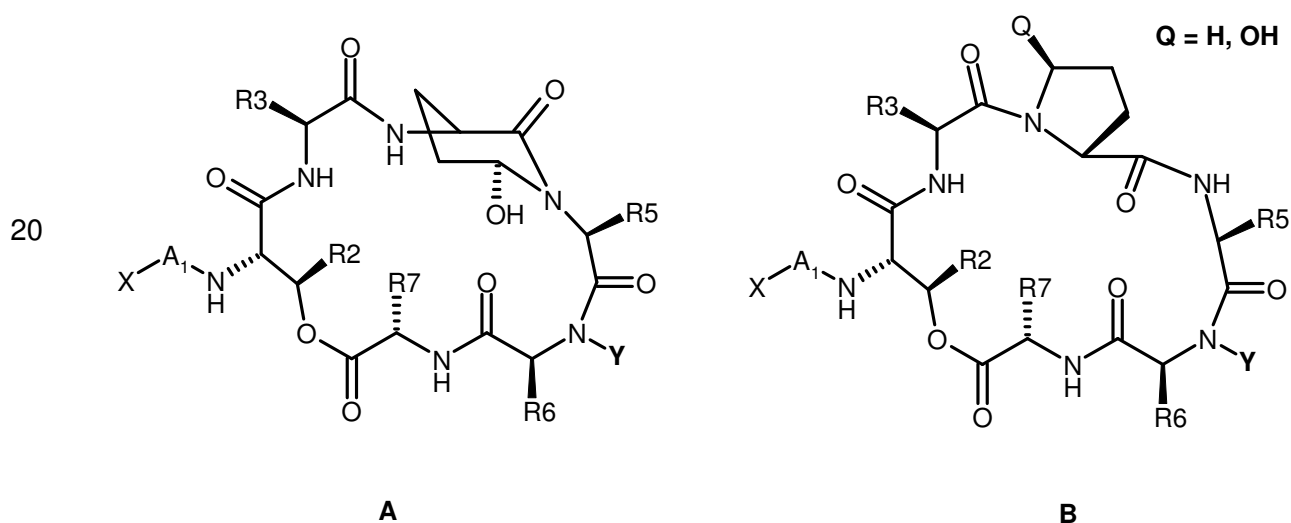
A_5 es isoleucina,

A_6 es tirosina, N-Me-tirosina o un derivado de las mismas,

A_7 es isoleucina o valina, preferiblemente isoleucina.

10 El depsipéptido de cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en donde A_4 es Ahp, Ahp-I, 3-amino-piperidina-2-ona, prolina, o 5-hidroxi-prolina, preferiblemente Ahp, Ahp-I, 3-amino-piperidina-2-ona, o 5-hidroxi-prolina, también preferiblemente Ahp, Ahp-I o 5-hidroxi-prolina, más preferiblemente Ahp.

15 Un depsipéptido de la reivindicación 1, el cual es un compuesto de acuerdo con las fórmulas A o B,



en donde X y A₁ son como se definen en la reivindicación 1, y
en donde

R2 es la cadena lateral del aminoácido treonina o serina,

R3 es la cadena lateral de leucina,

5 R5 es la cadena lateral del aminoácido isoleucina o valina, en particular R5 queda por isoleucina,

R6 es la cadena lateral de tirosina opcionalmente derivado, en particular opcionalmente derivado en su grupo hidroxilo como se define en la reivindicación 3,

10 R7 es la cadena lateral del aminoácido leucina, isoleucina o valina, en particular R7 está por isoleucina,

Y es ya sea hidrógeno o metilo, e Y es en particular metilo.

El depsipéptido cíclico de cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en donde A1, A2, A3, A5, A6 y A7 son aminoácidos L.

15 El depsipéptido cíclico de cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en donde A4 es 3S,6R Ahp.

El depsipéptido cíclico de cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en donde A1 es una glutamina, ornitina, o una glutamina derivada como se describe en cualquiera de los ejemplos de la descripción, y se selecciona por ejemplo entre nitrilo glutámico, éster de ácido glutámico tal como alquil éster de 1 a 12 átomos de carbono (por ejemplo, metil éster de ácido glutámico) o tal como éster arilo de 6 a 24 átomos de carbono (por ejemplo, fenil éster o bencil éster de ácido glutámico).

25 Una composición farmacéutica que comprende un depsipéptido

cíclico de cualquiera de las reivindicaciones anteriores junto con un vehículo y/o ingrediente farmacéuticamente aceptable.

El depsipéptido cíclico de cualquiera de las reivindicaciones anteriores para su uso en un medicamento, en particular para su uso
5 como se describe en los métodos para tratar un paciente, tales como en las reivindicaciones 13-15, y el uso de los depsipéptidos en la fabricación de un medicamento para el tratamiento en una enfermedad o trastorno como se describe en las reivindicaciones del método.

10 Un método para tratar a un sujeto que padece de enfermedades de la piel inflamatorias y/o hiperproliferativas y pruríticas tales como queloides, escaras hipertróficas, acné, dermatitis atópica, soriasis, soriasis pustular, rosácea, síndrome de Netherton u otras dermatosis pruríticas tales como prurigo nodularis,
15 comezón no especificada de los ancianos así como otras enfermedades con mal funcionamiento de la barrera epitelial tal como piel envejecida, enfermedad inflamatoria del intestino y enfermedad de Crohn, así como pancreatitis, o de cáncer, en particular cáncer de ovario, fibrosis quística (CF), enfermedad
20 pulmonar obstructiva crónica (COPD), fibrosis pulmonar, síndrome de insuficiencia respiratoria de adultos, bronquitis crónica, enfisema hereditario, artritis reumatoide, IBD, soriasis, asma, que comprende administrar al sujeto una cantidad terapéuticamente efectiva de un depsipéptido cíclico, o derivado del mismo, de cualquiera de las
25 reivindicaciones 1 a 10.

Un método para tratar a un sujeto de acuerdo con la reivindicación 13, en donde el sujeto sufre de queloides, escaras hipertróficas, acné, dermatitis atópica, soriasis, soriasis pustular, rosácea, síndrome de Netherton u otras dermatosis pruríticas tales como prurigo nodularis, comezón inespecífica de los ancianos así como otras enfermedades con mal funcionamiento de la barrera epitelial tales como piel envejecida, enfermedad inflamatoria del intestino y enfermedad de Crohn, así como pancreatitis, o de cáncer, en particular cáncer de ovario.

10 Un método para tratar a un sujeto de acuerdo con la reivindicación 14, en donde el sujeto sufre de queloides, escaras hipertróficas, acné, dermatitis atópica, soriasis, soriasis pustular, rosácea, síndrome de Netherton u otras dermatosis pruríticas tales como prurigo nodularis, comezón inespecífica de los ancianos así como otras enfermedades con mal funcionamiento de la barrera epitelial tal como la piel envejecida.

Un método para tratar a un sujeto de acuerdo con la reivindicación 13, en donde el sujeto sufre de fibrosis cística (CF), enfermedad pulmonar obstructiva crónica (COPD), fibrosis pulmonar, síndrome de insuficiencia respiratoria de adultos, bronquitis crónica, enfisema hereditario, artritis reumatoide, IBD, soriasis, asma.

Un proceso para producir el depsipéptido cíclico, o derivado del mismo, de cualquiera de las reivindicaciones de la 1 a la 10 que comprende el cultivo de una cepa de *Chondromyces*, una variante o una mutante de la misma, en un medio conveniente, y opcionalmente

la derivación química del depsipéptido cíclico así producido.

Un proceso para producir el depsipéptido cíclico, o derivado del mismo, de cualquiera de las reivindicaciones de a 1 a la 10 que comprende expresar los genes de biosíntesis de una cepa de *Chondromyces*, una variante o una mutante de la misma, en una
 5 cepa anfitriona microbiana heteróloga, y opcionalmente la derivación química del depsipéptido cíclico así producido.

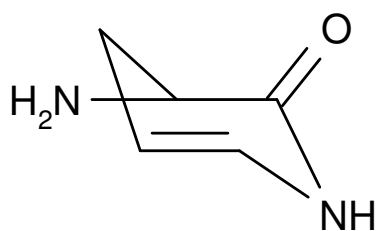
El proceso de las reivindicaciones 17 ó 18, en donde la cepa es *Chondromyces crocatus* (DSM 19329) o *Chondromyces robustus*
 10 (DSM 19330) o *Chondromyces apiculatus* (DSM 21595).

Un microorganismo *Chondromyces* aislado que produce el depsipéptido cíclico, o derivado del mismo, de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 10, depositados bajo el número de acceso DSM 19329 o DSM 19330 o DSM 21595.

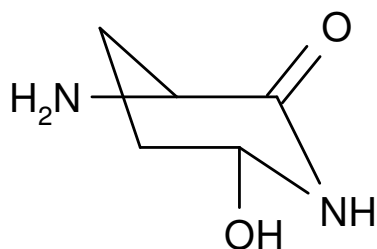
Un depsipéptido cíclico, o derivado del mismo, producido por el
 15 microorganismos *Chondromyces* aislado de la reivindicación 20 u obtenido mediante un proceso de acuerdo con las reivindicaciones 17-18.

Un proceso para la preparación de un derivado de un
 20 depsipéptido cíclico, o derivado del mismo, de acuerdo con la reivindicación 1, el cual comprende alternativamente

a)- la preparación de un derivado de un depsipéptido cíclico, o derivado del mismo, de acuerdo con la reivindicación 1, en donde A4
 es



5 mediante el tratamiento de un compuesto en donde A4 es

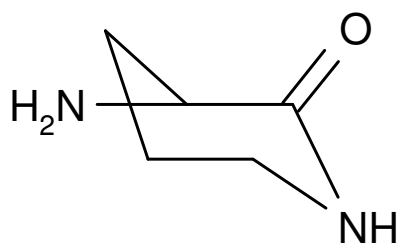


10

con un ácido orgánico o inorgánico, o un ácido de Lewis a una temperatura entre -78°C y 150°C ;

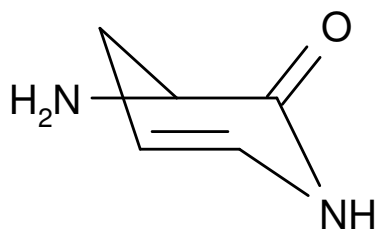
b)- la preparación de un derivado de un depsipéptido cíclico, o derivado del mismo, de acuerdo con la reivindicación 1 en donde A4 es

15



20

mediante el tratamiento de un compuesto en donde A4 es



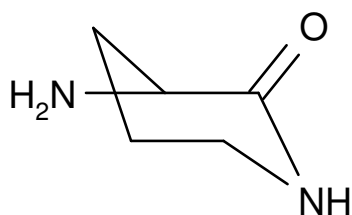
25

con el hidrógeno molecular o fuente del mismo en presencia de

un catalizador en un solvente a una temperatura entre -50 y 100°C;

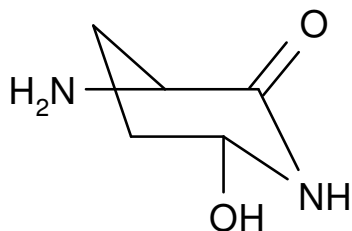
c)- la preparación de un derivado de un depsipéptido cíclico, o derivado del mismo, de acuerdo con la reivindicación 1, en donde A4 es

5



mediante el tratamiento de un compuesto, en donde A4 es

10

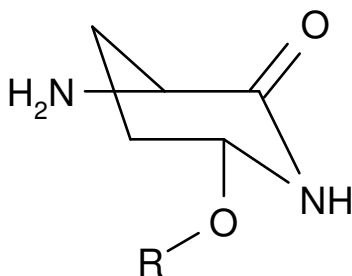


con un ácido orgánico o inorgánico o un ácido de Lewis, en presencia de un agente de reducción a una temperatura de entre -78°C y 150°C; o

15

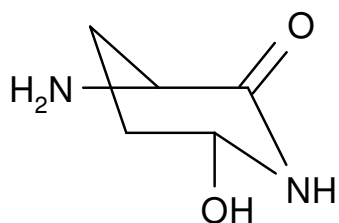
d)- la preparación de un derivado de un depsipéptido cíclico, o derivado del mismo, de acuerdo con la reivindicación 1 en donde A4 es

20



25

mediante el tratamiento de un compuesto en donde A4 es

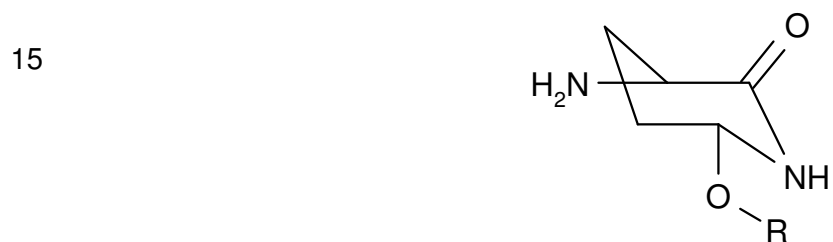


5 con un alcohol sustituido o no sustituido y un ácido orgánico o inorgánico, o un ácido de Lewis, a una temperatura entre -78°C y 150°C;

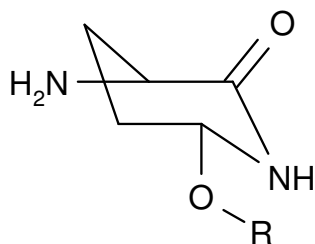
e)- la preparación de los compuestos en donde A1 es



en donde $n = 1, 2$ y A4 es

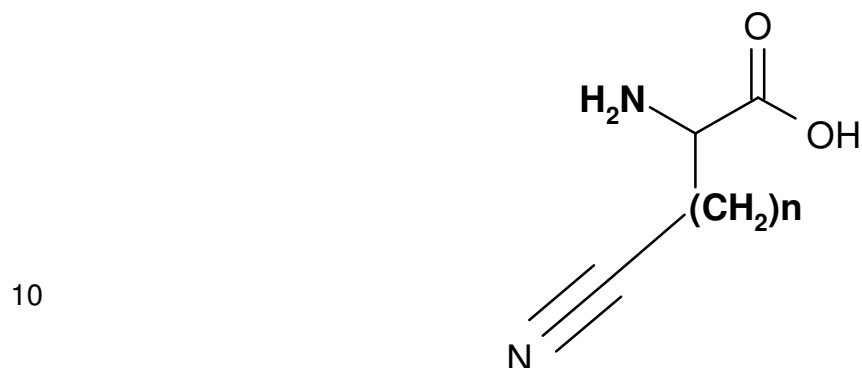


20 en donde R de preferencia es H, alquilo, alquilo sustituido, mediante el tratamiento de un compuesto en donde A1 es Gln o Asn y A4 es



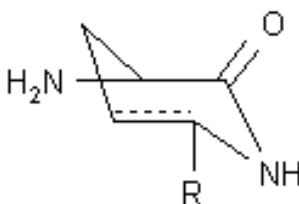
en donde R preferiblemente es H, alquilo, alquilo sustituido, con un alcohol sustituido o no sustituido y un ácido orgánico o inorgánico o un ácido de Lewis en un solvente o sin un solvente a una temperatura entre -78°C y 150°C;

5 f)- La preparación de compuestos en donde A1 es



en donde R de preferencia es H, OH, O-alquilo, O-alquilo sustituido, O-acilo, mediante tratamiento de un compuesto en donde A1 es Gln o Asn y A4 es

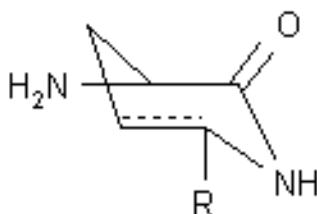
15



20 con un agente deshidratante en un solvente o sin un solvente a una temperatura entre -78°C y 150°C;

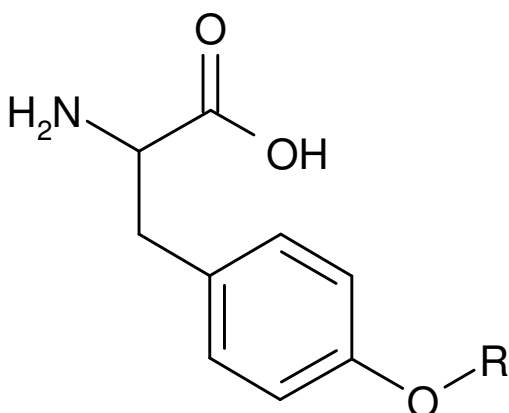
g)- la preparación de compuestos en donde A4 es

25



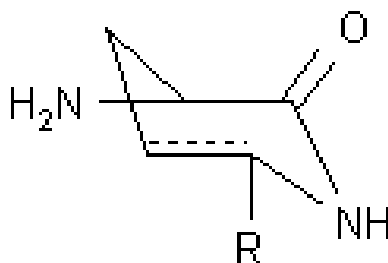
y A6 es

5



en donde R preferiblemente es alquilo, alquilo sustituido, acilo,
 10 alcoxycarbonilo mediante tratamiento de un compuesto en donde A4
 es

15

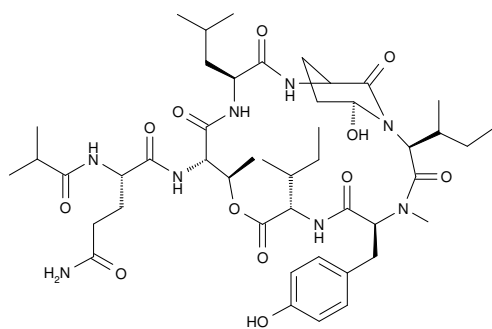


y A6 es Tyr, en donde un agente alquilante o un agente
 acilante en un solvente o sin un solvente a una temperatura entre -
 78 °C y 150 °C.

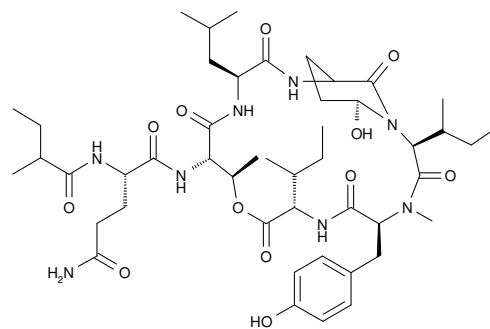
20 Un depsipéptido cíclico, o derivado del mismo, o una sal
 farmacéuticamente aceptable de los mismos, en particular y
 esencialmente como se describe en la descripción y/o en los
 ejemplos elaborados.

Las modalidades específicas de los depsipéptidos cíclicos de la
 25 invención son:

5

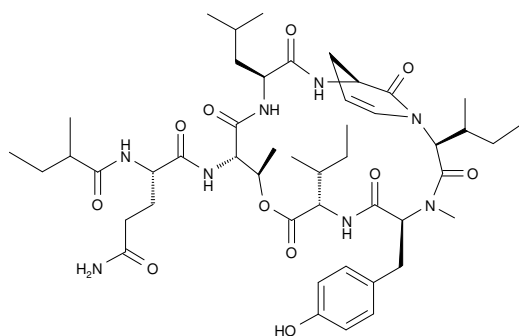


Fórmula (II)



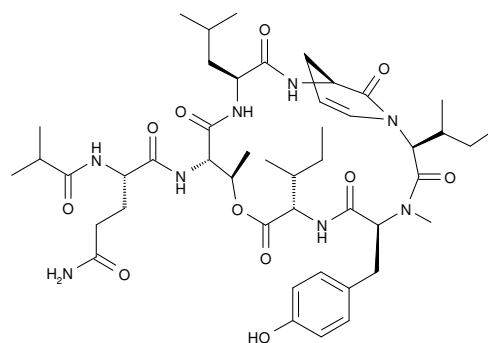
Fórmula (III)

10



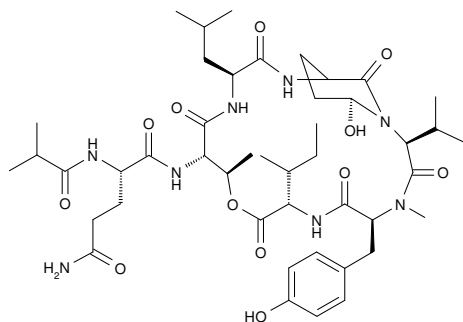
15

Fórmula (IV)



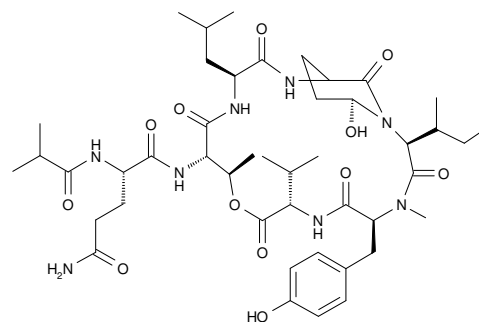
Fórmula (V)

20

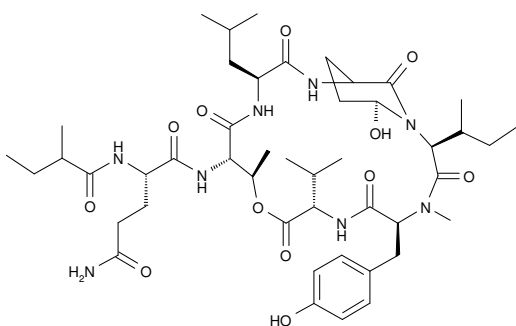


25

Fórmula (VI)

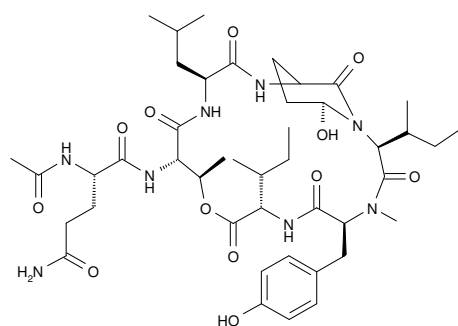


Fórmula (VII)

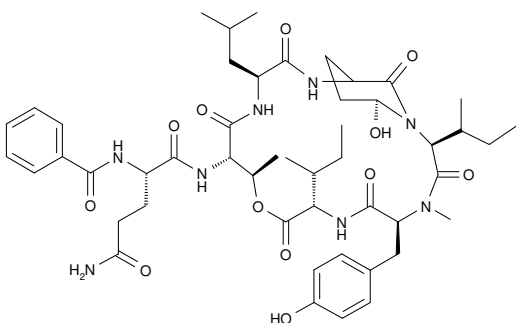


5

Fórmula (XI)

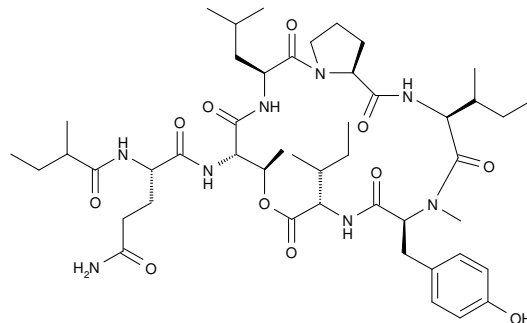


Fórmula (XII)

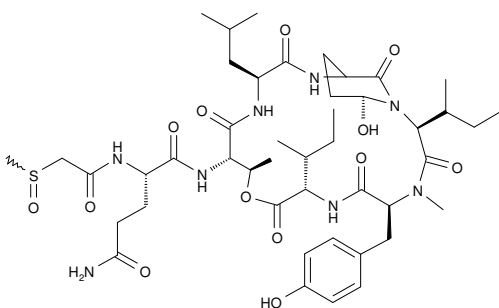


10

Fórmula (XIII)



Fórmula (XIV)



15

20

Fórmula (XVII)

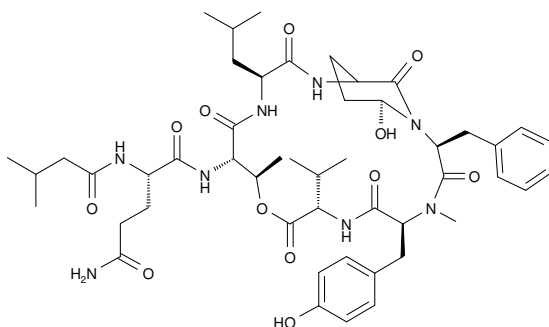
Los depsipéptidos cíclicos de la fórmula (II)-(VII), (XI)-(XIV) y (XVII) se pueden producir por la cepa de *Chondromyces crocatus* de la invención (DSM 19329).

25

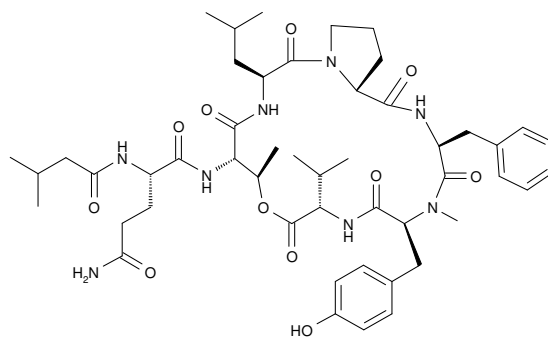
Otras modalidades específicas de los depsipéptidos cíclicos de

la invención son:

5

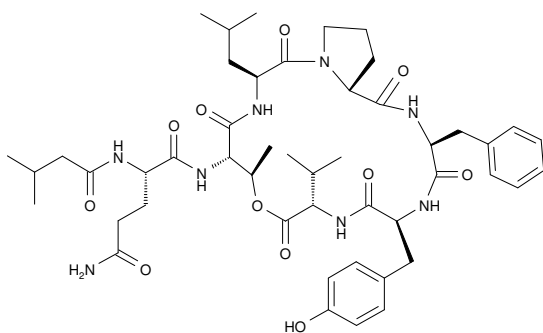


Fórmula (VIII)



Fórmula (IX)

10



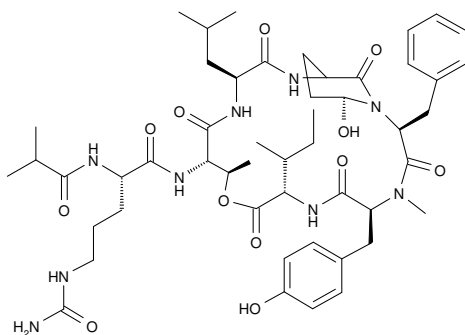
Fórmula (X)

15

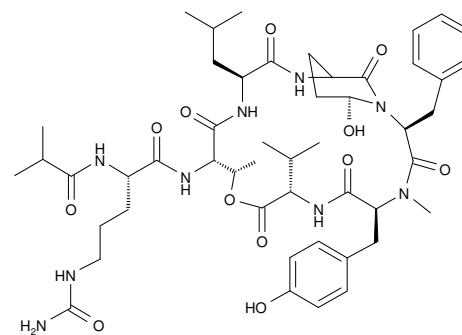
Los depsipéptidos cíclicos de la fórmula (VIII)-(X) se pueden producir por el *Chondromyces robustus* de la invención (DSM 19330).

Otras modalidades específicas de los depsipéptidos cíclicos de la invención son:

20



Fórmula (XV)



Fórmula (XVI)

25

Los depsipéptidos cíclicos de fórmula (XV)-(XVI) pueden ser producidas por el *Chondromyces apiculatus* de la invención (DSM 21595).

Lista de Abreviaturas

5	Ahp	3-amino-6-hidroxi-2-piperidona
	DSMZ	Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen GmbH
	hK7	Calicreína humana 7
	HPLC	Cromatografía líquida de alto rendimiento/presión
10	HTS	Selección de alto rendimiento
	IC	Cultivo intermediario
	ID	Identificación
	MB	Mixobacteria
	MC	Cultivo principal
15	PC	Precultivo
	pO₂	Presión parcial de oxígeno en estado de cultivo (100% = saturación con aire)
	Rpm	Rotaciones por minuto
	SCCE	Enzima quimotríptica del estrato córneo
20	SPEX	Extracción de fase sólida
	Vvm	Índice de aireación (<u>v</u> olumen de aire por <u>v</u> olumen de cultivo y por <u>m</u> inuto)

Un "residuo químico" puede ser cualquier fracción química orgánica y anorgánica. La expresión "residuo químico" incluye, pero

no se limita a un grupo alifático sustituido o no sustituido, por ejemplo alquilo de 1 a 3 átomos de carbono, alquilo de 1 a 6 átomos de carbono, o alquilo de 1 a 12 átomos de carbono, arilo sustituido o no sustituido, arilalquilo sustituido o no sustituido, heteroarilo sustituido o no sustituido, o halógeno. Por ejemplo, un residuo químico como se define en las reivindicaciones puede ser cualquiera de los grupos químicos descritos en la presente más adelante.

La expresión "residuo químico" incluye, pero no se limita a aminoácidos, péptidos, polipéptidos, proteínas y similares.

Ejemplos de fracción química anorgánica son por ejemplo los halógenos, tales como bromo o cloro.

Un "grupo alifático" es una fracción no aromática que puede contener cualquier combinación de átomos de carbono, átomos de hidrógeno, átomos de halógeno, oxígeno, nitrógeno u otros átomos, y opcionalmente contiene una o más unidades de insaturación, por ejemplo, dobles y triples ligaduras. Un grupo alifático puede ser de cadena recta, ramificado, o cíclico y de preferencia contener entre aproximadamente 1 y aproximadamente 24 átomos de carbono, más típicamente entre aproximadamente 1 y aproximadamente 12 átomos de carbono. Además para los grupos de hidrocarburo alifático, los grupos alifáticos incluyen, por ejemplo, polialcoxialquilos, tales como polialquilenglicoles, poliaminas, y poli-iminas, por ejemplo. Estos grupos alifáticos se pueden sustituir adicionalmente.

Los términos "alquilo de 1 a 3 átomos de carbono", "alquilo de 1 a 6 átomos de carbono", o "alquilo de 1 a 12 átomos de carbono",

como se usa en la presente, se refieren a radicales de hidrocarburos saturados, de cadena recta o ramificada que contienen entre uno y tres, uno y doce, o uno y seis átomos de carbono, respectivamente. Los ejemplos de radicales de alquilo de 1 a 3 átomos de carbono incluyen metilo, etilo, propilo y radicales isopropilo; los ejemplos de radicales de alquilo de 1 a 6 átomos de carbono incluyen, pero no se limitan a, radicales metilo, etilo, propilo, isopropilo, n-butilo, ter-butilo, sec-butilo, n-pentilo, neopentilo y n-hexilo; y ejemplos de radicales alquilo de 1 a 12 átomos de carbono incluyen, pero no se limitan a radicales etilo, propilo, isopropilo, hexilo, heptilo, octilo, nonilo, decilo, indecilo, dodecilo y similares.

El término "alquilo sustituido", como se usa en la presente, se refiere a un alquilo, tal como un grupo alquilo de 1 a 12 átomos de carbono o alquilo de 1 a 6 átomos de carbono, sustituidos por uno, dos, tres o más sustituyentes alifáticos.

Los sustituyentes alifáticos convenientes incluyen, pero no se limitan a $-F$, $-Cl$, $-Br$, $-I$, $-OH$, hidroxilo protegido, éteres alifáticos, éteres aromáticos, oxo, $-NO_2$, $-CN$, --alquilo de 1 a 12 átomos de carbono opcionalmente sustituido por halógeno (tales como perhaloalquilos), alquenilo de 2 a 12 átomos de carbono opcionalmente sustituido con halógeno, alquinilo de 2 a 12 átomos de carbono opcionalmente sustituido con halógeno, $-NH_2$, amino protegido, $-NH$ —alquilo de 1 a 12 átomos de carbono, $-NH$ —alquenilo de 2 a 12 átomos de carbono, $-NH$ —alquinilo de 2 a 12 átomos de carbono, $-NH$ —cicloalquilo de 3 a 12 átomos de carbono,

--NH-arilo, --NH-heteroarilo, --NH-heterocicloalquilo, -dialquilamino,
 -diarilamino, -diheteroarilamino, --O—alquilo de 1 a 12 átomos de
 carbono, --O—alquenilo de 2 a 12 átomos de carbono, --O—alquinilo
 de 2 a 12 átomos de carbono, --O—cicloalquilo de 3 a 12 átomos de
 5 carbono, --O-arilo, --O-heteroarilo, --O-heterocicloalquilo, --C(O)—
 alquilo de 1 a 12 átomos de carbono, --C(O)—alquenilo de 2 a 12
 átomos de carbono, --C(O)—alquinilo de 2 a 12 átomos de carbono,
 --C(O)—cicloalquilo de 3 a 12 átomos de carbono, --C(O)-arilo,
 --C(O)-heteroarilo, --C(O)-heterocicloalquilo, --CONH₂, --CONH—
 10 alquilo de 1 a 12 átomos de carbono, --CONH—alquenilo de 2 a 12
 átomos de carbono, --CONH—alquinilo de 2 a 12 átomos de carbono,
 --CONH—cicloalquilo de 3 a 12 átomos de carbono, --CONH-arilo,
 --CONH-heteroarilo, --CONH-heterocicloalquilo, --CO₂—alquilo de 1 a
 12 átomos de carbono, --CO₂—alquenilo de 2 a 12 átomos de
 15 carbono, --CO₂—alquinilo de 2 a 12 átomos de carbono, --CO₂—
 cicloalquilo de 3 a 12 átomos de carbono, --CO₂-arilo, --CO₂-
 heteroarilo, --CO₂-heterocicloalquilo, --OCO₂—alquilo de 1 a 12
 átomos de carbono, --OCO₂—alquenilo de 2 a 12 átomos de carbono,
 --OCO₂—alquinilo de 2 a 12 átomos de carbono, --OCO₂—cicloalquilo
 20 de 3 a 12 átomos de carbono, --OCO₂-arilo, --OCO₂-heteroarilo,
 --OCO₂-heterocicloalquilo, --OCONH₂, --OCONH—alquilo de 1 a 12
 átomos de carbono, --OCONH—alquenilo de 2 a 12 átomos de
 carbono, --OCONH—alquinilo de 2 a 12 átomos de carbono,
 --OCONH—cicloalquilo de 3 a 12 átomos de carbono, --OCONH-arilo,
 25 --OCONH-heteroarilo, --OCONH-heterocicloalquilo, --NHC(O)—

alquilo de 1 a 12 átomos de carbono, --NHC(O)—alquenilo de 2 a 12
 átomos de carbono, --NHC(O)—alquinilo de 2 a 12 átomos de
 carbono, --NHC(O)—cicloalquilo de 3 a 12 átomos de carbono,
 --NHC(O)-arilo, --NHC(O)-heteroarilo, --NHC(O)-heterocicloalquilo,
 5 --NHCO₂—alquilo de 1 a 12 átomos de carbono, --NHCO₂—alquenilo
 de 2 a 12 átomos de carbono, --NHCO₂—alquinilo de 2 a 12 átomos
 de carbono, --NHCO₂—cicloalquilo de 3 a 12 átomos de carbono,
 --NHCO₂-arilo, --NHCO₂-heteroarilo, --NHCO₂-heterocicloalquilo,
 --NHC(O)NH₂, NHC(O)NH—alquilo de 1 a 12 átomos de carbono,
 10 --NHC(O)NH—alquenilo de 2 a 12 átomos de carbono, --NHC(O)NH—
 alquinilo de 2 a 12 átomos de carbono, --NHC(O)NH—cicloalquilo de
 3 a 12 átomos de carbono, --NHC(O)NH-arilo, --NHC(O)NH-
 heteroarilo, --NHC(O)NH-heterocicloalquilo, NHC(S)NR₂,
 NHC(S)NH—alquilo de 1 a 12 átomos de carbono, --NHC(S)NH—
 15 alquenilo de 2 a 12 átomos de carbono, --NHC(S)NH—alquinilo de 2
 a 12 átomos de carbono, --NHC(S)NH—cicloalquilo de 3 a 12 átomos
 de carbono, --NHC(S)NH-arilo, --NHC(S)NR-heteroarilo, --NHC(S)NH-
 heterocicloalquilo, --NHC(NH)NH₂, NHC(NH)NH—alquilo de 1 a 12
 átomos de carbono, --NHC(NH)NH—alquenilo de 2 a 12 átomos de
 20 carbono, --NHC(NH)NH—alquinilo de 2 a 12 átomos de carbono,
 --NHC(NH)NH—cicloalquilo de 3 a 12 átomos de carbono,
 --NHC(NH)NH-arilo, --NHC(NH)NH-heteroarilo, --NHC(NH)NH-
 heterocicloalquilo, NHC(NH)—alquilo de 1 a 12 átomos de carbono,
 --NHC(NH)—alquenilo de 2 a 12 átomos de carbono, --NHC(NH)—
 25 alquinilo de 2 a 12 átomos de carbono, --NHC(NH)—cicloalquilo de 3

a 12 átomos de carbono, --NHC(NH)-arilo, --NHC(NH)-heteroarilo,
 --NHC(NH)-heterocicloalquilo, --C(NR)NH-- alquilo de 1 a 12 átomos
 de carbono, --C(NH)NH--alquenilo de 2 a 12 átomos de carbono,
 --C(NR)NH--alquinilo de 2 a 12 átomos de carbono, --C(NH)NH--
 5 cicloalquilo de 3 a 12 átomos de carbono, --C(NH)NH-arilo,
 --C(NH)NH-heteroarilo, --C(NH)NH-heterocicloalquilo, --S(O)--alquilo
 de 1 a 12 átomos de carbono, --S(O)--alquenilo de 2 a 12 átomos de
 carbono, --S(O)--alquinilo de 2 a 12 átomos de carbono, --S(O)--
 cicloalquilo de 3 a 12 átomos de carbono, --S(O)-arilo, --S(O)-
 10 heteroarilo, --S(O)-heterocicloalquilo-SO₂NH₂, --SO₂NH--alquilo de 1
 a 12 átomos de carbono, --SO₂NH--alquenilo de 2 a 12 átomos de
 carbono, --SO₂NH--alquinilo de 2 a 12 átomos de carbono, --SO₂NH--
 cicloalquilo de 3 a 12 átomos de carbono, --SO₂NH-arilo, --SO₂NH-
 heteroarilo, --SO₂NH-heterocicloalquilo, --NHSO₂—alquilo de 1 a 12
 15 átomos de carbono, --NHSO₂--alquenilo de 2 a 12 átomos de
 carbono, --NHSO₂--alquinilo de 2 a 12 átomos de carbono, --NHSO₂--
 cicloalquilo de 3 a 12 átomos de carbono, --NHSO₂-arilo, --NHSO₂-
 heteroarilo, --NHSO₂-heterocicloalquilo, --CH₂NH₂, --CH₂SO₂CH₃-
 arilo, -arilalquilheteroarilo, -heteroarilalquilo, -heterocicloalquilo,
 20 --C₃-C₁₂-cicloalquilo, polialcoxialquilo, polialcoxilo, -metoxietoxilo,
 --SH, --S--alquilo de 1 a 12 átomos de carbono, --S—alquenilo de 2 a
 12 átomos de carbono, --S--alquinilo de 2 a 12 átomos de carbono,
 --S—cicloalquilo de 3 a 12 átomos de carbono, --S-arilo, --S-
 heteroarilo, -S-heterocicloalquilo, o metiltiometilo. Se entiende que
 25 los arilos, heteroarilos, alquilos y similares se pueden sustituir

adicionalmente.

Los términos "alquenilo de 2 a 12 átomos de carbono" o "alquenilo de 2 a 6 átomos de carbono", como se usa en la presente, denotan un grupo monovalente derivado de una fracción de hidrocarburo que contiene de dos a doce o de dos a seis átomos de carbono que tiene al menos una doble ligadura carbono-carbono mediante la remoción de un solo átomo de hidrógeno. Los grupos alquenilo incluyen, pero no se limitan a, por ejemplo, etenilo, propenilo, butenilo, 1-metil-2-buten-1-ilo, alcadienos y similares.

El término "alquenilo sustituido", como se usa en la presente, se refiere a "alquenilo de 2 a 12 átomos de carbono" o grupo "alquenilo de 2 a 6 átomos de carbono" como se definió anteriormente, sustituido por uno, dos, tres o más sustituyentes alifáticos.

Los términos "alquinilo de 2 a 12 átomos de carbono" o "alquinilo de 2 a 6 átomos de carbono", como se usa en la presente, denotan un grupo monovalente derivado de una fracción de hidrocarburo que contiene de dos a doce o de dos a seis átomos de carbono que tienen al menos una triple ligadura carbono-carbono mediante la remoción de un solo átomo de hidrógeno. Los grupos alquinilo representativos incluyen, pero no se limitan a, por ejemplo, etinilo, 1-propinilo, 1-butinilo, y similares.

El término "alquinilo sustituido", como se usa en la presente, se refiere a "alquinilo de 2 a 12 átomos de carbono" o grupo "alquinilo de 2 a 6 átomos de carbono" como se definió previamente,

sustituido por uno, dos, tres o más sustituyentes alifáticos.

El término "alcoxilo de 1 a 6 átomos de carbono", como se usa en la presente, se refiere a un grupo alquilo de 1 a 6 átomos de carbono, como se define previamente, unido a una fracción molecular progenitora a través de un átomo de oxígeno. Los ejemplos de alcoxilo de 1 a 6 átomos de carbono incluyen, pero no se limitan a, metoxilo, etoxilo, propoxilo, isopropoxilo, n-butoxilo, sec-butoxilo, ter-butoxilo, n-pentoxilo, neopentoxilo y n-hexoxilo.

Los términos "halo" y "halógeno", como se usa en la presente, se refieren a un átomo seleccionado de entre flúor, cloro, bromo y yodo.

El término "arilo", como se usa en la presente, se refiere a un sistema de anillo carbocíclico mono o bicíclico que tiene uno o dos anillos aromáticos incluyendo, pero sin limitarse a, fenilo, naftilo, tetrahidronaftilo, indanilo, idéenlo y similares.

El término "arilo sustituido", como se usa en la presente, se refiere a un grupo arilo, como se definió previamente, sustituido por uno, dos, tres o más sustituyentes aromáticos.

Los sustituyentes aromáticos incluyen, pero no se limitan a, -F, -Cl, -Br, -I, -OH, hidroxilo protegido, éteres alifáticos, éteres aromáticos, oxo, -NO₂, -CN, -alquilo de 1 a 12 átomos de carbono opcionalmente sustituido con halógeno (tales como perhaloalquilos), alquenilo de 2 a 12 átomos de carbono opcionalmente sustituido con halógeno, alquinilo de 2 a 12 átomos de carbono opcionalmente sustituido con halógeno, -NH₂, amino protegido, -NH—alquilo de 1

a 12 átomos de carbono, --NH—alquenilo de 2 a 12 átomos de
 carbono, --NH—alquenilo de 2 a 12 átomos de carbono, --NH—
 cicloalquilo de 3 a 12 átomos de carbono, --NH-arilo, --NH-
 heteroarilo, --NH-heterocicloalquilo, -dialquilamino, -diarilamino,
 5 -diheteroarilamino, --O—alquilo de 1 a 12 átomos de carbono, --O—
 alquenilo de 2 a 12 átomos de carbono, --O—alquinilo de 2 a 12
 átomos de carbono, --O—cicloalquilo de 3 a 12 átomos de carbono,
 --O-arilo, --O-heteroarilo, --O-heterocicloalquilo, --C(O)—alquilo de 1
 a 12 átomos de carbono, --C(O)—alquenilo de 2 a 12 átomos de
 10 carbono, --C(O)—alquinilo de 2 a 12 átomos de carbono, --C(O)—
 cicloalquilo de 3 a 12 átomos de carbono, --C(O)-arilo, --C(O)-
 heteroarilo, --C(O)-heterocicloalquilo, --CONH₂, --CONH—alquilo de
 1 a 12 átomos de carbono, --CONH—alquenilo de 2 a 12 átomos de
 carbono, --CONH—alquinilo de 2 a 12 átomos de carbono, --CONH—
 15 cicloalquilo de 3 a 12 átomos de carbono, --CONH-arilo, --CONH-
 heteroarilo, --CONH-heterocicloalquilo, --CO₂—alquilo de 1 a 12
 átomos de carbono, --CO₂—alquenilo de 2 a 12 átomos de carbono,
 --CO₂—alquinilo de 2 a 12 átomos de carbono, --CO₂—cicloalquilo de
 3 a 12 átomos de carbono, --CO₂-arilo, --CO₂-heteroarilo, --CO₂-
 20 heterocicloalquilo, --OCO₂—alquilo de 1 a 12 átomos de carbono,
 --OCO₂—alquenilo de 2 a 12 átomos de carbono, --OCO₂—alquinilo
 de 2 a 12 átomos de carbono, --OCO₂—cicloalquilo de 3 a 12 átomos
 de carbono, --OCO₂-arilo, --OCO₂-heteroarilo, --OCO₂-heterociclo-
 alquilo, --OCONH₂, --OCONH—alquilo de 1 a 12 átomos de carbono,
 25 --OCONH—alquenilo de 2 a 12 átomos de carbono, --OCONH—

alquinilo de 2 a 12 átomos de carbono, --OCONH—cicloalquilo de 3 a
 12 átomos de carbono, --OCONH-arilo, --OCONH-heteroarilo,
 --OCONH-heterocicloalquilo, --NHC(O)—alquilo de 1 a 12 átomos de
 carbono, --NHC(O)—alquenilo de 2 a 12 átomos de carbono,
 5 --NHC(O)—alquinilo de 2 a 12 átomos de carbono, --NHC(O)—
 cicloalquilo de 3 a 12 átomos de carbono, --NHC(O)-arilo, --NHC(O)-
 heteroarilo, --NHC(O)-heterocicloalquilo, --NHCO₂—alquilo de 1 a 12
 átomos de carbono, --NHCO₂—alquenilo de 2 a 12 átomos de
 carbono, --NHCO₂—alquinilo de 2 a 12 átomos de carbono,
 10 --NHCO₂—cicloalquilo de 3 a 12 átomos de carbono, --NHCO₂-arilo,
 --NHCO₂-heteroarilo, --NHCO₂-heterocicloalquilo, --NHC(O)NH₂,
 NHC(O)NH—alquilo de 1 a 12 átomos de carbono, --NHC(O)NH—
 alquenilo de 2 a 12 átomos de carbono, --NHC(O)NH—alquinilo de 2
 a 12 átomos de carbono, --NHC(O)NH—cicloalquilo de 3 a 12 átomos
 15 de carbono, --NHC(O)NH-arilo, --NHC(O)NH-heteroarilo,
 --NHC(O)NH-heterocicloalquilo, NHC(S)NR₂, NHC(S)NH—alquilo de 1
 a 12 átomos de carbono, --NHC(S)NH—alquenilo de 2 a 12 átomos
 de carbono, --NHC(S)NH—alquinilo de 2 a 12 átomos de carbono,
 --NHC(S)NH—cicloalquilo de 3 a 12 átomos de carbono,
 20 --NHC(S)NH-arilo, --NHC(S)NR-heteroarilo, --NHC(S)NH-heterociclo-
 alquilo, --NHC(NH)NH₂, NHC(NH)NH—alquilo de 1 a 12 átomos de
 carbono, --NHC(NH)NH—alquenilo de 2 a 12 átomos de carbono,
 --NHC(NH)NH—alquinilo de 2 a 12 átomos de carbono,
 --NHC(NH)NH—cicloalquilo de 3 a 12 átomos de carbono,
 25 --NHC(NH)NH-arilo, --NHC(NH)NH-heteroarilo, --NHC(NH)NH-hetero-

cicloalquilo, NHC(NH)—alquilo de 1 a 12 átomos de carbono,
 --NHC(NH)—alquenilo de 2 a 12 átomos de carbono, --NHC(NH)—
 alquinilo de 2 a 12 átomos de carbono, --NHC(NH)—cicloalquilo de 3
 a 12 átomos de carbono, --NHC(NH)-arilo, --NHC(NH)-heteroarilo,
 5 --NHC(NH)-heterocicloalquilo, --C(NR)NH--alquilo de 1 a 12 átomos
 de carbono, --C(NH)NH--alquenilo de 2 a 12 átomos de carbono,
 --C(NR)NH--alquinilo de 2 a 12 átomos de carbono, --C(NH)NH--
 cicloalquilo de 3 a 12 átomos de carbono, --C(NH)NH-arilo,
 --C(NH)NH-heteroarilo, --C(NH)NH-heterocicloalquilo, --S(O)--alquilo
 10 de 1 a 12 átomos de carbono, --S(O)--alquenilo de 2 a 12 átomos de
 carbono, --S(O)--alquinilo de 2 a 12 átomos de carbono, --S(O)--
 cicloalquilo de 3 a 12 átomos de carbono, --S(O)-arilo, --S(O)-
 heteroarilo, --S(O)-heterocicloalquilo-SO₂NH₂, --SO₂NH--alquilo de 1
 a 12 átomos de carbono, --SO₂NH--alquenilo de 2 a 12 átomos de
 15 carbono, --SO₂NH--alquinilo de 2 a 12 átomos de carbono, --SO₂NH--
 cicloalquilo de 3 a 12 átomos de carbono, --SO₂NH-arilo, --SO₂NH-
 heteroarilo, --SO₂NH-heterocicloalquilo, --NHSO₂—alquilo de 1 a 12
 átomos de carbono, --NHSO₂--alquenilo de 2 a 12 átomos de
 carbono, --NHSO₂--alquinilo de 2 a 12 átomos de carbono, --NHSO₂--
 20 cicloalquilo de 3 a 12 átomos de carbono, --NHSO₂-arilo, --NHSO₂-
 heteroarilo, --NHSO₂-heterocicloalquilo, --C₂NH₂, --C₂SO₂C₃-arilo,
 -arilalquilheteroarilo, -heteroarilalquilo, -heterocicloalquilo, --C₃-C₁₂-
 cicloalquilo, polialcoxialquilo, polialcoxilo, -metoxietoxilo, --SH, --S--
 alquilo de 1 a 12 átomos de carbono, --S—alquenilo de 2 a 12
 25 átomos de carbono, --S--alquinilo de 2 a 12 átomos de carbono,

--S—cicloalquilo de 3 a 12 átomos de carbono, --S-arilo, --S-heteroarilo, -S-heterocicloalquilo, o metiltiométilo. Se entiende que los arilos, heteroarilos, alquilos y similares se pueden sustituir adicionalmente.

5 El término "arilalquilo", como se usa en la presente, se refiere a un grupo arilo unido al compuesto progenitor vía un residuo alquilo de 1 a 3 átomos de carbono o alquilo de 1 a 6 átomos de carbono. Los ejemplos incluyen, pero no se limitan a, bencilo, fenetilo y similares.

10 El término "arilalquilo sustituido", como se usa en la presente, se refiere a un grupo arilalquilo, como se definió previamente, sustituido por uno, dos, tres o más sustituyentes aromáticos.

El término "heteroarilo", como se usa en la presente, se refiere a un radical o anillo aromático mono-, bi-, o tri-cíclico que tiene de
 15 cinco a diez átomos de anillo de los cuales al menos un átomo de anillo se selecciona entre S, O y N; cero, uno o dos átomos de anillo son heteroátomos adicionales independientemente seleccionados de entre S, O y N; y el resto de los átomos de anillo son carbono, en donde cualquier N o S contenido dentro del anillo puede oxidarse
 20 opcionalmente. El heteroarilo incluye, pero no se limita a, piridinilo, pirazinilo, pirimidinilo, pirrolilo, pirazolilo, imidazolilo, tiazolilo, oxazolilo, iso-oxazolilo, tiadiazolilo, oxadiazolilo, tiofenilo, furanilo, quinolinilo, isoquinolinilo, bencimidazolilo, benzo-oxazolilo, quinoxalinilo, y similares. El anillo heteroaromático puede estar
 25 unido a la estructura química a través de un átomo de carbono con

un heteroátomo.

El término "heteroarilo sustituido", como se usa en la presente, se refiere a un grupo heteroarilo como se definió previamente sustituido por uno, dos, tres o cuatro sustituyentes aromáticos.

5 El término "cicloalquilo de 3 a 12 átomos de carbono", como se usa en la presente, denota un grupo monovalente derivado de un anillo carbocíclico, monocíclico o bicíclico saturado compuesto por la remoción de un solo átomo de hidrógeno. Los ejemplos incluyen, pero no se limitan a ciclopropilo, ciclobutilo, ciclopentilo, ciclohexilo,
10 biciclo[2.2.1]heptilo, y biciclo[2.2.2]octilo.

El término "cicloalquilo de 3 a 12 átomos de carbono sustituido", como se usa en la presente, se refiere a un grupo cicloalquilo de 3 a 12 átomos de carbono como se definió previamente, sustituido por uno, dos, tres o más sustituyentes
15 alifáticos.

El término "heterocicloalquilo", como se usa en la presente, se refiere a un anillo de 5, 6 ó 7 miembros no aromáticos o un sistema fusionado de grupo bi o tricíclico, en donde (i) cada anillo contiene entre uno y tres heteroátomo seleccionados independientemente
20 entre oxígeno, azufre y nitrógeno, (ii) cada anillo de 5 miembros tiene 0 a 1 ligadura doble y cada anillo de 6 miembros tiene de 0 a 2 dobles ligaduras, (iii) los heteroátomos de nitrógeno y azufre opcionalmente pueden estar oxidados, (iv) el heteroátomo de nitrógeno opcionalmente puede ser cuaternizado, (iv) cualquiera de
25 los anillos anteriores puede fusionarse a un anillo benceno, y (v) los

átomos del anillo restante son átomos de carbono que opcionalmente pueden ser oxo-sustituidos. Los grupos heterocicloalquilo representativos incluyen, pero no se limitan a, [1,3]dioxolano, pirrolidinilo, pirazolinilo, pirazolidinilo, imidazolinilo, imidazolidinilo, 5 piperidinilo, piperazinilo, oxazolidinilo, isoxazolidinilo, morfolinilo, tiazolidinilo, isotiazolidinilo, quinoxalinilo, piridazinonilo, y tetrahidrofurilo.

El término "heterocicloalquilo sustituido", como se usa en la presente, se refiere a un grupo heterocicloalquilo, como se definió 10 previamente, sustituido por uno, dos, tres o más sustituyentes alifáticos.

El término "heteroarilalquilo", como se usa en la presente, para un grupo heteroarilo unido al compuesto progenitor vía un alquilo de 1 a 3 átomos de carbono o un residuo alquilo de 1 a 6 átomos de 15 carbono. Los ejemplos incluyen, pero no se limitan a, piridinilmetilo, pirimidiniletilo y similares.

El término "heteroarilalquilo sustituido", como se usa en la presente, se refiere a un grupo heteroarilalquilo, como se definió previamente, sustituido por el reemplazo independiente de uno, dos, 20 o tres o más sustituyentes aromáticos.

El término "alquilamino de 1 a 3 átomos de carbono", como se usa en la presente, se refiere a uno o dos grupos alquilo de 1 a 3 átomos de carbono, como se definió previamente, unidos a la fracción molecular progenitora a través de un átomo de nitrógeno. 25 Los ejemplos de alquilamino de 1 a 3 átomos de carbono incluyen,

pero no se limitan a, metilamino, dimetilamino, etilamina, dietilamino, y propilamino.

El término "alquilamino" se refiere a un grupo que tiene la estructura --NH(alquilo de 1 a 12 átomos de carbono) en donde el
5 alquilo de 1 a 12 átomos de carbono es como se definió previamente.

El término "dialquilamino" se refiere a un grupo que tiene la estructura --N(alquilo de 1 a 12 átomos de carbono) (alquilo de 1 a 12 átomos de carbono), en donde el alquilo de 1 a 12 átomos de carbono es como se definió previamente. Los ejemplos de
10 dialquilamino son, pero no se limitan a, dimetilamino, dietilamino, metiletilamino, piperidino, y similares.

El término "alcoxicarbonilo" representa un grupo éster, es decir, un grupo alcóxido, unido a la fracción molecular progenitora a través de un grupo carbonilo tal como metoxycarbonilo, etoxycarbonilo, y similares.
15

El término "carboxialdehído", como se usa en la presente, se refiere a un grupo de la fórmula --CHO.

El término "carboxilo", como se usa en la presente, se refiere a un grupo de la fórmula --COOH.

20 El término "carboxamida", como se usa en la presente, se refiere a un grupo de la fórmula --C(O)NH(alquilo de 1 a 12 átomos de carbono) o --C(O)N(alquilo de 1 a 12 átomos de carbono)-(alquilo de 1 a 12 átomos de carbono), --C(O)NH₂, NHC(O)(alquilo de 1 a 12 átomos de carbono), N(alquilo de 1 a 12 átomos de carbono) C(O)(alquilo de 1 a 12 átomos de carbono) y similares.
25

El término "grupo de protección hidroxilo", como se usa en la presente, se refiere a una fracción química lábil que se conoce en la técnica por proteger un grupo hidroxilo contra reacciones indeseadas durante los procedimientos sintéticos. Después del o de los

5 procedimientos sintéticos, el grupo protector hidroxilo como se describe en la presente se puede remover selectivamente. Los grupos de protección hidroxilo como se sabe en la técnica, se describen generalmente en T. H. Greene y P. G. M. Wuts, *Protective Groups in Organic Synthesis*, 3era edición, John Wiley & Sons, New

10 York (1999). Los ejemplos de los grupos de protección hidroxilo incluyen benciloxicarbonilo, 4-nitrobenciloxicarbonilo, 4-bromobenciloxicarbonilo, 4-metoxibenciloxicarbonilo, metoxicarbonilo, tert-butoxicarbonilo, isopropoxicarbonilo, difenilmetoxicarbonilo, 2,2,2-tricloroetoxicarbonilo, 2-(trimetilsilil)etoxicarbonilo, 2-

15 furfuriloxicarbonilo, aliloxicarbonilo, acetilo, formilo, cloroacetilo, trifluoroacetilo, metoxiacetilo, fenoxiacetilo, benzoilo, metilo, t-butilo, 2,2,2-tricloroetilo, 2-trimetilsililetilo, 1,1-dimetil-2-propenilo, 3-metil-3-butenilo, alilo, bencilo, para-metoxibencildifenilmetilo, trifenil-metil-(trietilo), tetrahidrofurilo, metoximetilo, metiltiometilo,

20 benciloximetilo, 2,2,2-tricloroetoximetilo, 2-(trimetilsilil)-etoximetilo, metanosulfonilo, para-toluenosulfonilo, trimetilsililo, trietilsililo, triisopropilsililo, y similares. Los grupos de protección de hidroxilo preferidos para la presente invención son acetil (Ac o $-\text{C}(\text{O})\text{C}_3$), benzoilo (Bn o $-\text{C}(\text{O})\text{C}_6\text{H}_5$), y trimetilsililo (TMS o $-\text{Si}(\text{C}_3)_3$).

25 El término "hidroxilo protegido", como se usa en la presente, se

refiere a un grupo hidroxilo protegido con un grupo de protección hidroxilo, como se define anteriormente, incluyendo benzoilo, acetilo, trimetilsililo, trietilsililo, grupos metoximetilo, por ejemplo.

El término "grupo de protección amino", como se usa en la presente, se refiere a una fracción química lábil que se conoce en la técnica al proteger un grupo amino contra reacciones indeseadas durante los procedimientos sintéticos. Después de el o los procedimientos sintéticos, el grupo de protección amino como se describe en la presente se puede remover selectivamente. Los grupos de protección amino como se conocen en la técnica, se describen generalmente en T. H. Greene y P. G. M. Wuts, *Protective Groups in Organic Synthesis*, 3era edición, John Wiley & Sons, New York (1999). Los ejemplos de grupos de protección amino incluyen, pero no se limitan a, t-butoxicarbonilo, 9-fluorenilmetoxycarbonilo, benciloxycarbonilo, y similares.

El término "amino protegido", como se usa en la presente, se refiere a un grupo amino protegido con un grupo de protección amino como se define anteriormente.

El término "acilo" incluye residuos derivados de ácidos, incluyendo pero sin limitarse a ácidos carboxílicos, ácidos carbámicos, ácidos carbónicos, ácidos sulfónicos, y ácidos fosforosos. Los ejemplos incluyen carbonilos alifáticos, carbonilos aromáticos, sulfonilos alifáticos, sulfinilos aromáticos, sulfinilos alifáticos, sulfonilos aromáticos, sulfamilos alifáticos, sulfamilos aromáticos, fosfatos aromáticos y fosfatos alifáticos.

Un "aminoácido" es una molécula que contiene tanto grupos funcionales amina como carboxilo con la fórmula general $\text{NH}_2\text{CH(R)COOH}$. El término aminoácido incluye aminoácidos estándares y aminoácidos no estándares.

5 Los "aminoácidos estándares" son alanina, arginina, asparagina, ácido aspártico, cisteína, ácido glutámico, glutamina, glicina, histidina, isoleucina, leucina, lisina, metionina, fenilalanina, prolina, serina, treonina, triptofano, tirosina, y valina.

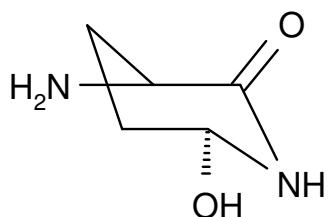
Un "aminoácido estándar que no es ácido aspártico" se
10 selecciona entre el grupo que consiste de alanina, arginina, asparagina, cisteína, ácido glutámico, glutamina, glicina, histidina, isoleucina, leucina, lisina, metionina, fenilalanina, prolina, serina, treonina, triptofano, tirosina, y valina. En el caso de la glutamina o el ácido glutámico, un "derivado del mismo" es por ejemplo un nitrilo
15 o un éster, tal como por ejemplo nitrilo de glutamina, éster de ácido glutámico.

Los "aminoácidos no estándares" son aminoácidos (moléculas que contienen tanto grupos funcionales amina como carboxilo) que no son uno de los aminoácidos estándares. Los ejemplos de los
20 mismos son selenocisteína (incorporado en algunas proteínas en un codón UGA), pirrolisina (usado por algunas bacterias metanogénicas en enzimas para producir metano y codificadas con el codón UAG), lantionina, ácido 2-aminoisobutírico, deshidroalanina, 3-amino-6-hidroxi-2-piperidona, ácido gamma-aminobutírico, ornitina, citrulina,
25 homocisteína, dopamina o hidroxiprolina.

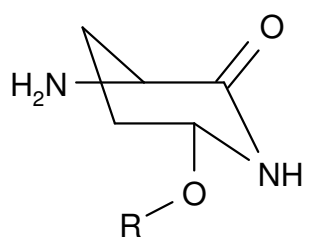
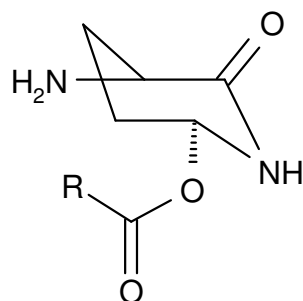
Los "aminoácidos estándares no básicos" son alanina, asparagina, ácido aspártico, cisteína, ácido glutámico, glutamina, glicina, isoleucina, leucina, metionina, fenilalanina, prolina, serina, treonina, triptofano, tirosina, y valina.

5 "Ahp" (3-amino-6-hidroxi-piperidin-2-ona) es un aminoácido no estándar encontrado por ejemplo en cianobacterias. Los "derivados de Ahp" incluyen, pero no se limitan a 3-amino-3,4-dihidro-1H-piridin-2-ona (deshidro-AHP), 3-amino-piperidin-2-ona y "derivados éter y éster de AHP. Los derivados Ahp preferidos son 3-amino-piperidin-10 2-ona, o Ahp-I o Ahp-II, o como se representa más adelante en donde R se selecciona entre el grupo que consiste en alquilo de 1 a 12 átomos de carbono, alquenilo de 2 a 12 átomos de carbono, alquinilo de 2 a 12 átomos de carbono, haloalquilo de 1 a 12 átomos de carbono, alcoxilo de 1 a 12 átomos de carbono-alquilo de 1 a 12 15 átomos de carbono, alcoxilo de 1 a 12 átomos de carbono-alcoxilo de 1 a 12 átomos de carbono-alquilo de 1 a 12 átomos de carbono, hidroxialquilo de 1 a 12 átomos de carbono, fenilo y fenilalquilo de 1 a 6 átomos de carbono.

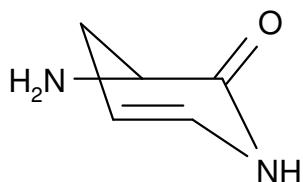
Diferentes miembros de esta familia de aminoácidos no 20 estándares son:



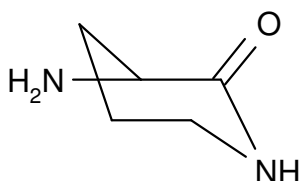
3-amino-6-hidroxi-piperidin-2-ona (Ahp)

**Ahp-I****Ahp-II**

5

**3-amino-3,4-dihidro-1H-piridin-2-ona (dehidro-AHP)**

10

**3-amino-piperidin-2-ona**

El derivado de prolina incluye por ejemplo 5-hidroxiprolina.

15

Los "derivados de aminoácidos" incluyen, pero no se limitan a, O-alquilo, O-arilo, O-acilo, S-alquilo, S-arilo, S-S-alquilo, alcoxycarbonilo, O-carbonil-alcóxilo, carbonato, O-carbonil-ariloxilo, O-carbonil-alquilamino, O-carbonil-arilamino, N-alquilo, N-dialquilo, N-trialquilamonio, N-acilo, N-carbonil-alcóxilo, N-carbonil-ariloxilo, N-carbonil-alquilamino, N-carbonil-arilamino, N-sulfonilalquilo, o N-sulfonilarilo.

20

Los derivados de aminoácidos estándares no básicos" incluyen, pero no se limitan a, O-alquilo, O-arilo, O-acilo, S-alquilo, S-arilo, S-S-alquilo, alcoxycarbonilo, O-carbonil-alcóxilo, carbonato, O-carbonil-ariloxilo, O-carbonil-alquilamino, O-carbonil-arilamino, N-alquilo, N-

25

dialquilo, N-trialquilamonio, N-acilo, N-carbonil-alcoxilo, N-carbonil-ariloxilo, N-carbonil-alquilamino, N-carbonil-arilamino, N-sulfonilalquilo, o N-sulfonilarilo.

5 "Derivado de tirosina" incluye, pero no se limita a, e los depsipéptidos cíclicos de la invención son, O-alquilo, O-arilo, O-heteroarilo, O-acilo, O-PO₃H y O-SO₃H, así como halogenación, en la posición orto o meta.

El grupo OH en la tirosina puede ser OR, en donde R se selecciona entre el grupo que consiste en hidrógeno, alquilo de 1 a 10 12 átomos de carbono, alquenilo de 2 a 12 átomos de carbono, alquinilo de 2 a 12 átomos de carbono, haloalquilo de 1 a 12 átomos de carbono, haloalquenilo de 2 a 12 átomos de carbono, haloalquinilo de 2 a 12 átomos de carbono, alcoxicarbonilo de 1 a 12 átomos de carbono, alcoxicarbonilo de 1 a 12 átomos de carbono-alquilo de 1 a 15 12 átomos de carbono, alquilaminocarbonilo de 1 a 12 átomos de carbono, insustituido o sustituido adicionalmente por arilo, arilalquilo, arilalquenilo o arilalquinilo, heterociclilo y heterociclilalquilo.

20 "Derivado depsipéptido" incluye pero no se limita a, depsipéptidos modificados como se describe en la presente y los específicamente descritos en los ejemplos más adelante. Estos derivados se pueden preparar usando métodos muy conocidos en la técnica.

25 La invención además se relaciona con sales farmacéuticamente aceptables y derivados de los compuestos de la presente invención y

a los métodos para obtener estos compuestos. Un método para obtener el compuesto es cultivando una cepa de *Chondromyces* de la invención, o un mutante o una variante de la misma, bajo condiciones convenientes, de preferencia utilizando el protocolo de fermentación descrito en la presente más adelante.

"Sales" de los compuestos de la presente invención que tienen al menos un grupo que forma sal se pueden preparar de una manera conocida en sí. Por ejemplo, las sales de los compuestos de la presente invención que tienen grupos ácidos se pueden formar, por ejemplo, tratando los compuestos con compuestos de metal, tales como sales de metales alcalinos de ácidos carboxílicos orgánicos convenientes, por ejemplo, la sal de sodio del ácido 2-etil-hexanoico, con compuestos de metal alcalino orgánico o de metal alcalinotérreo, tal como los hidróxidos, carbonatos o carbonatos de hidrógeno correspondientes, tales como hidróxido, carbonato o carbonato ácido de sodio o potasio, con los compuestos de calcio correspondientes o con amoníaco o una amina orgánica conveniente, cantidades estequiométricas o solamente un pequeño excedente del agente que forma sal de preferencia es lo que se usa. Las sales de adición ácida de los compuestos de la presente invención se obtienen de manera acostumbrada, por ejemplo, tratando los compuestos con un reactivo ácido o con un intercambio de aniones conveniente. Las sales internas de los compuestos de la presente invención que contienen grupos que forman sal ácida y básica, por ejemplo, un grupo carboxilo libre y un grupo amino libre, se pueden formar, por

ejemplo, mediante la neutralización de las sales, tales como las sales de adición ácida, hasta el punto isoeléctrico, por ejemplo, con bases débiles, o mediante tratamiento con intercambiadores de iones.

5 Las sales se pueden convertir de la manera acostumbrada en compuestos libres; las sales de metal y de amonio se pueden convertir, por ejemplo, mediante el tratamiento con ácidos convenientes, y las sales de adición ácida, por ejemplo, mediante el tratamiento con un agente básico conveniente.

10 Las mezclas de los isómeros obtenibles de acuerdo con la invención se pueden separar de manera conocida en sí en isómeros individuales; diastereoisómeros se pueden separar, por ejemplo, partiendo entre mezclas de solventes polifásicos, recristalización y/o separación cromatográfica, por ejemplo sobre gel de sílice o
15 mediante, por ejemplo, cromatografía líquida de presión media sobre una columna de fase inversa, y los racematos se pueden separar, por ejemplo, mediante la formación de sales con reactivos que forman sal ópticamente pura y la separación de la mezcla de los diastereoisómeros así obtenible, por ejemplo, por medio de
20 cristalización fraccional, o mediante cromatografía sobre materiales de columna ópticamente activa.

Los productos intermediarios y los productos finales se pueden seguir trabajando y/o purificando de acuerdo con los métodos estándares, por ejemplo, usando métodos cromatográficos métodos
25 de distribución, (re-)cristalización, y similares.

Los depsipéptidos cíclicos de la invención pueden inhibir proteasas parecidas a quimotripsinas. Los ejemplos de proteasas parecidas a quimotripsinas son las elastasas y la calicreína 7. En particular, los depsipéptidos cíclicos de la invención son excelentes
 5 inhibidores de la calicreína 7.

Un "inhibidor" es un depsipéptido cíclico que inhibe una reacción enzimática con una medición IC_{50} menor de 100 μM , por ejemplo 50 μM , 30 μM , 20 μM o 10 μM . Particularmente se prefieren los depsipéptidos cíclicos con un IC_{50} menor de 30 μM para la
 10 calicreína 7 humana, por ejemplo los depsipéptidos cíclicos con un IC_{50} menor de 10 μM , 1 μM , 100 nM, 50 nM, 40 nM, 30 nM, 20 nM, 10 nM, o menos. Por ejemplo, los compuestos de los ejemplos 5, 19 y 33 muestran valores IC_{50} de 0.009 μM , 0.007 μM , 0.005 μM , respectivamente. El IC_{50} para la calicreína humana se puede medir
 15 usando sustrato de temple de fluorescencia Ac-Glu-Asp (EDANS)-Lys-Pro-Ile-Leu-Phe[^]Arg-Leu-Gly-Lys (DABCYL)-Glu-NH₂ (en donde el [^] indica que el enlace escindible, identificado mediante análisis MS) que se puede comprar en Biosyntan (Berlín, Alemania). Las reacciones enzimáticas se llevan a cabo en un regulador de citrato
 20 de sodio 50 a un pH de 5.6 que contiene 150 mM de NaCl y 0.05 por ciento (peso/volumen) CHAPS. Para la determinación de los valores de IC_{50} el ensayo se realiza a temperatura ambiente en placas de 384 pozos. Todos los volúmenes finales de ensayo son de 30 microlitros.

25 Los compuestos de prueba se disuelven en 90 por ciento

(volumen/volumen) DMSO/agua y se diluyen en agua (que contiene 0.05 por ciento (peso/volumen) de CHAPS) hasta 3 veces la concentración deseada del ensayo. Las 11 concentraciones del compuesto final son: 0.3 nM, 1 nM, 3 nM, 10 nM, 30 nM, 100 nM, 300 nM, 1 μ M, 3 μ M, 10 μ M y 30 μ M. Para cada ensayo, se añaden 10 microlitros de agua/CHAPS ($\pm$ el compuesto de prueba) por pozo, seguido de 10 microlitros de solución de proteasa (diluida con 1.5x regulador del ensayo). La concentración de proteasa en la solución final del ensayo es de 0.2 nM (de acuerdo con las concentraciones de enzima determinadas por el método Bradford). Después de 1 hora de incubación a temperatura ambiente, la reacción se inicia mediante la adición de 10 microlitros de solución en sustrato (de sustrato disuelto en regulador de ensayo 1.5x, la concentración final es de 2 μ M). El efecto del compuesto sobre la actividad enzimática se obtiene de las curvas de progreso lineal y se determinan a partir de dos lecturas, la primera tomada directamente después de la adición del sustrato ($t = 0$ minutos) y la segunda después de 1 hora ($t = 60$ minutos). El valor IC_{50} se calcula de la graficación del porcentaje de inhibición contra la concentración del inhibidor usando software de análisis de regresión no lineal (XLfit, Vers. 4.0; ID Business Solution Ltd., Guildford, Surrey, RU).

"Enfermedades" y "trastornos" que se pueden tratar o prevenir por lo tanto usando los depsipéptidos cíclicos, son las enfermedades que se sabe que están relacionadas con las proteasas parecidas a la quimotripsina. Se prefieren las enfermedades conocidas que se

relacionan con las elastasas o con la actividad de la calicreína 7. Igualmente se prefieren enfermedades que se sabe que se relacionan con la elastasa de neutrófilos humanos. Las enfermedades y los trastornos que por lo tanto se pueden tratar o

5 prevenir usando los depsipéptidos cíclicos de la invención incluyen dolor, inflamación aguda, inflamación crónica, artritis, articulaciones inflamadas, bursitis, osteoartritis, artritis reumatoide, artritis reumatoide juvenil, artritis séptica, fibromialgia, lupus eritematoso sistémico, flebitis, tendinitis, salpullido, soriasis, acné, eczema,

10 eczema seborreico facial, eczema de las manos, cara o cuello, infecciones del prepucio, pie de atleta, infecciones de fístulas, úlceras tópicas infectadas, infecciones del ombligo del recién nacido, arrugas, escaras, queloides, furúnculos, verrugas, y comezón alérgica, hemorroides, heridas, infecciones de las heridas, heridas

15 de quemaduras, una infección fúngica y un trastorno inmunológico que incluye una enfermedad autoinmune. Las enfermedades preferidas que se pueden tratar o prevenir usando los depsipéptidos cíclicos de la invención incluyen enfermedad pulmonar obstructiva crónica (incluyendo enfisema pulmonar y bronquitis crónica),

20 neumonía intersticial crónica y aguda, neumonía intersticial idiopática (IIP), panbronquiolitis difusa, fibrosis quística de pulmón, lesión pulmonar aguda (ALI)/síndrome de insuficiencia respiratoria aguda (ARDS), bronquioectasis, asma, pancreatitis, nefritis, hepatitis (falla hepática), artritis reumatoide crónica, arterosclerosis,

25 osteoartritis, soriasis, enfermedad periodontal, aterosclerosis,

rechazo al trasplante de órganos, lesión del tejido causado por isquemia/repercusión, choque, septicemia, coagulopatía de sangre incluyendo coagulaciones intravasculares diseminadas (DIC) y trombosis de venas profundas, conjuntivitis, queratitis, úlcera de córnea, enfermedad de Crohn, lupus eritematoso sistémico. Se prefieren más las enfermedades y los trastornos que se pueden tratar o prevenir usando los depsipéptidos cíclicos de la invención que son "mal funcionamiento epitelial" o "enfermedad epitelial" incluyendo, pero sin limitarse a, enfermedades de la piel inflamatorias y/o hiperproliferativas y pruríticas tales como queloides, escaras hipertróficas, acné, dermatitis atópica, soriasis, síndrome de Netherton u otras dermatosis pruríticas tales como prurigo nodularis, comezón inespecífica de los ancianos así como otras enfermedades con mal funcionamiento de la barrera epitelial tales como la enfermedad inflamatoria del intestino y la enfermedad de Crohn, fibrosis cística (CF), enfermedad pulmonar obstructiva crónica (COPD), fibrosis pulmonar, síndrome de insuficiencia respiratoria de adulto, bronquitis crónica, enfisema hereditario, artritis reumatoides, IBD, soriasis, asma. En otra modalidad preferida, los depsipéptidos cíclicos de la invención se pueden usar para tratar cáncer, en particular cáncer de ovario.

Las enfermedades y trastornos que por lo tanto preferiblemente se tratan o previenen usando los depsipéptidos cíclicos de la invención incluyen enfermedades de la piel inflamatorias y/o hiperproliferativas y pruríticas tales como queloides, escaras

hipertróficas, acné, dermatitis atópica, soriasis, soriasis pustular, rosácea, síndrome de Netherton u otras dermatosis pruríticas tales como prurigo nodularis, comezón inespecífica de los ancianos así como otras enfermedades con mal funcionamiento de la barrera epitelial tales como piel envejecida, enfermedad inflamatoria del intestino y enfermedad de Crohn, así como pancreatitis, o de cáncer, en particular cáncer de ovario, fibrosis quística (CF), enfermedad pulmonar obstructiva crónica (COPD), fibrosis pulmonar, síndrome de insuficiencia respiratoria de adultos, bronquitis crónica, enfisema hereditario, artritis reumatoide, IBD, soriasis, asma.

Las enfermedades y trastornos que por lo tanto se pueden usar más preferiblemente para tratar o prevenir usando los péptidos cíclicos de la invención incluyen queloides, escaras hipertróficas, acné, dermatitis atópica, soriasis, soriasis pustular, rosácea, síndrome de Netherton u otras dermatosis pruríticas tales como prurigo nodularis, comezón inespecífica de los ancianos así como otras enfermedades con mal funcionamiento de la barrera epitelial tal como piel envejecida, enfermedad inflamatoria del intestino y enfermedad de Crohn, así como pancreatitis, o de cáncer, en particular cáncer de ovario.

Las enfermedades y los trastornos que por lo tanto igualmente es preferible tratar o prevenir usando los péptidos cíclicos de la invención incluyen fibrosis quística (CF), enfermedad pulmonar obstructiva crónica (COPD), fibrosis pulmonar, síndrome de insuficiencia respiratoria de adulto, bronquitis crónica, enfisema

hereditario, artritis reumatoides, IBD, soriasis, asma.

Las enfermedades y los trastornos que todavía más preferiblemente se tratan o previenen usando los depsipéptidos cíclicos de la invención incluyen queloides, escaras hipertróficas, acné, dermatitis atópica, soriasis, soriasis pustular, rosácea, síndrome de Netherton u otras dermatosis pruríticas tales como prurigo nodularis, comezón inespecífica de los ancianos, así como otras enfermedades con mal funcionamiento de la barrera epitelial tales como la piel envejecida.

La calicreína 7 humana (hK7) es una enzima con actividad proteasa de serina localizada en la piel humana. Primero se describió como la enzima quimotriptica del estrato córneo (SCCE) y puede representar un papel en la descamación del estrato córneo disociando proteínas del estrato córneo (por ejemplo, la corneodesmosina y la placoglobina). El estrato córneo es la capa más exterior que forma barrera de la epidermis y consiste en células epiteliales cornificadas rodeadas por lípidos altamente organizados. Continuamente se está formando por la diferenciación epidérmica y en la epidermis normal el grosor constante del estrato córneo se mantiene por un equilibrio entre la proliferación de los queratinocitos y la descamación. La expresión aumentada de la SCCE en la enfermedad inflamatoria de la piel puede tener importancia etiológica (Hansson y colaboradores, (2002)). Los ratones transgénicos que expresan calicreína humana 7 en los queratinocitos epidérmicos se encontró que desarrollan cambios patológicos en la piel con grosor

epidérmico aumentado, hiperqueratosis, inflamación dérmica, y prurito severo. Se ha reportado una asociación genética entre la inserción de 4 pares de bases (AACC) en el 3'UTR del gen de la enzima quimiotrítica del estrato córneo y la dermatitis atópica (Vasilopoulos, y colaboradores, (2004)), sugiriendo que la enzima podría tener un papel importante en el desarrollo de la dermatitis atópica. La dermatitis atópica es una enfermedad con una barrera de la piel deficiente que afecta del 15 al 20 por ciento de los niños.

La calicreína 7 es una proteasa serina S1 de la familia del gen de la calicreína que exhibe una actividad parecida a la quimotripsina. La calicreína humana 7 (hK7, KLK7 o la enzima quimiotrítica del estrato córneo (SCCE), Swissprot P49862) representa un papel importante en la fisiología de la piel (1, 2, 3). Principalmente se expresa en la piel y se ha reportado que representa un papel importante en la fisiología de la piel. La hK7 participa en la degradación de las estructuras cohesivas intercelulares en los epitelios escamosos cornificados en el proceso de descamación. El proceso de descamación está bien regulado y delicadamente equilibrado con la producción *de novo* de corneocitos para mantener un grosor constante del estrato córneo, la capa más exterior de la piel críticamente involucrada en la función de barrera de la piel. Con respecto a esto, se ha reportado que la hK7 puede disociar las proteínas corneodesmosomales corneodesmosina y desmocolina 1 (4, 5, 6). Se requiere la degradación de ambas corneodesmosomas para la descamación. Además, muy recientemente se ha mostrado

que las dos enzimas que procesan lípidos β -glucocerebrosidasa y esfingomielinasa ácida pueden ser degradadas por la hK7 (7). Ambas enzimas que procesan lípidos son co-secretadas con sus sustratos glucosilceramidas y esfingomielina y procesan estos
5 precursores lípidos polares en sus productos más no polares, por ejemplo ceramidas, las cuales posteriormente se incorporan en las membranas laminares extracelulares. La arquitectura de las membranas laminares es crítica para una barrera de la piel funcional. Finalmente, la hK7 se ha mostrado que activa el precursor de
10 interleucina-1 β (IL-1 β) para su forma activa *in vitro* (8). Ya que los queratinocitos expresan IL-1 β pero no la forma activa de la enzima que convierte IL-1 β específica (ICE o caspasa 1), se propone que la activación de IL-1 β en la epidermis humana se presenta vía otra proteasa, siendo un candidato potencial la hK7.

15 Estudios recientes relacionan una actividad aumentada de la hK7 con las enfermedades inflamatorias de la piel como la dermatitis atópica, soriasis o el síndrome de Netherton. Esto podría conducir a una degradación no controlada de los corneodesmosomas dando como resultado una descamación mal regulada, una degradación
20 aumentada de las enzimas que protegen lípidos dando como resultado una arquitectura de membrana laminar perturbada o una activación no controlada de la citocina IL-1 β proinflamatoria. El resultado neto sería una función de barrera de la piel deficiente e inflamación (véase también la publicación internacional WO-A-
25 2004/108139).

Debido al hecho de que la actividad hK7 se controla a varios niveles, distintos factores podrían ser responsables de una actividad hK7 aumentada en las enfermedades inflamatorias de la piel. En primer lugar, la cantidad de proteasa que se está expresando podría influenciarse por factores genéticos. Recientemente se describió un enlace genético así, un polimorfismo en el 3'-UTR en el gen hK7 (9). Los autores lanzan la hipótesis de que la inserción de 4 pares de bases descrita en el 3'-UTR del gen de la calicreína 7 estabiliza el ARNm de la hK7 y da como resultado una sobreexpresión de la hK7. En segundo lugar, ya que la hK7 es secretada vía los cuerpos laminares al espacio extracelular del estrato córneo como cimógeno y no es capaz de autoactivarse, necesita ser activado por otra proteasa por ejemplo la hK5 (5). La actividad no controlada de esta enzima de activación podría resultar en una sobreactivación de la hK7. En tercer lugar, la hK7 activada podría ser inhibida por inhibidores naturales como LEKTI, ALP o elafina (10, 11). La expresión disminuida de la falta de estos inhibidores podría dar como resultado una actividad aumentada de la hK7. Recientemente se encontró que las mutaciones en el gen spink5, que codifica para LEKTI, son causas del síndrome de Netherton (12) y una mutación de un solo punto en el gen se relaciona con la dermatitis atópica (13, 14). Finalmente, otro nivel de controlar la actividad de la hK7 es el pH. La hK7 tiene un pH neutro a ligeramente alcalino óptimo (2) y hay un gradiente de pH de neutro a ácido de las capas de la más interna a la más externa en la piel. Los factores ambientales como

el jabón podrían dar como resultado un aumento del pH en las capas más exteriores del estrato córneo hacia el pH óptimo de la hK7 mediante lo cual se aumenta la actividad de la hK7.

Una actividad aumentada de la hK7 se relaciona con enfermedades de la piel con una barrera de la piel deficiente
5 incluyendo enfermedades de la piel inflamatoria e hiperproliferativa. En primer lugar, los pacientes con síndrome de Netherton muestran un fenotipo dependiente del aumento en la actividad de la proteasa serina, una disminución en las corneodesmosomas, una disminución
10 en las enzimas que procesan lípidos β -glucocerebrosidasa y esfingomielinasa ácida, y una función de barrera deficiente (15, 16). El segundo lugar, una ratones transgénicos que sobreexpresan la calicreína 7 humana muestra un fenotipo de piel similar al encontrado en pacientes con dermatitis atópica (17, 18, 19). En
15 tercer lugar, en la piel de pacientes con dermatitis atópica y soriasis se describieron elevados niveles de hK7 (17, 20). Además, la actividad aumentada de K7 y de este modo el mal funcionamiento de la barrera epitelial también puede representar un papel importante en la patología de otras enfermedades epiteliales tales como la
20 enfermedad inflamatoria del intestino y la enfermedad de Crohn.

Por lo tanto, se considera que la hK7 es un objetivo potencial para el tratamiento de enfermedades que participan en el mal funcionamiento epitelial tales como las enfermedades de la piel inflamatorias y/o hiperproliferativas y pruríticas como la dermatitis
25 atópica, la soriasis, el síndrome de Netherton u otras dermatosis

pruríticas tales como prurigo nodularis, comezón inespecífica de los ancianos así como otras enfermedades con mal funcionamiento de la barrera epitelial tal como la enfermedad inflamatoria del intestino y la enfermedad de Crohn y hay una necesidad de moduladores
5 específicos (agonistas o inhibidores) de los mismos.

La elastasa de neutrófilos humanos (HNE, también conocido como elastasa de leucocitos humanos, HLE) pertenece a la familia de la quimotripsina de proteinasas serinas. Su actividad catalítica es óptima alrededor del pH 7, y el sitio catalítico está compuesto de tres
10 residuos de aminoácidos enlazados a hidrógeno: His57, Asp102, y Ser195 (en numeración de quimotripsina), los cuales forman la conocida como triada catalítica. La enzima está compuesta de una sola cadena de péptidos de 218 residuos de aminoácidos y cuatro puentes disulfuro. Muestra una identificación de secuencia del 30 al
15 40 por ciento con otras proteinasas de serinas elastinolíticas o no elastinolíticas. La HNE de preferencia disocia la cadena de insulina B oxidada con Val en la posición P1, pero también hidroliza enlaces con Ala, Ser, o Cys en la posición P1.

La HNE se localiza en los gránulos azurofílicos de leucocitos
20 polimorfonucleares (PMNL), donde la concentración de HNE es bastante alta (3 microgramos de enzima/ 10^6 células). La principal función fisiológica es digerir bacterias y complejos inmunes y tomar parte en el proceso de defensa del anfitrión. La HNE ayuda en la migración de neutrófilos desde la sangre a varios tejidos tales como
25 las vías respiratorias como respuesta a factores quimiotácticos. La

HNE también toma parte en la cicatrización de heridas, la reparación del tejido, y en la apoptosis de los PMNL.

Además de la elastina (componente muy flexible y muy hidrofóbico del tejido conectivo del pulmón, arterias, piel, y ligamentos), la HNE disocia muchas proteínas con importantes funciones biológicas, incluyendo diferentes tipos de colágenos, proteínas de membrana, y proteoglicanos de cartílago. La HNE también indirectamente favorece la descomposición de proteínas de matriz extracelular activando la procollagenasa, prostomelisin, y progelatinasa. La HNE inactiva varios inhibidores de proteinasa endógena tales como $\alpha 2$ -antiplasmina, $\alpha 1$ -antiquimotripsina, antitrombina, y el inhibidor de tejido de las metaloproteinasas.

La actividad extracelular de la elastasa está íntimamente controlada en el sistema pulmonar por el inhibidor de $\alpha 1$ -proteasa ($\alpha 1$ PI), responsable de la protección de las vías respiratorias inferiores del daño elastolítico, mientras que el inhibidor de proteinasa de leucocito secretor protege principalmente las vías respiratorias superiores. En varios estados patofisiológicos pulmonares, por ejemplo, enfisema pulmonar, bronquitis crónica, y fibrosis quística, los inhibidores de elastasa endógena son ineficientes para regular la actividad de HNE.

La HNE se considera que es la principal fuente de daño de tejido asociada con enfermedades inflamatorias tales como el enfisema pulmonar, el síndrome de insuficiencia respiratoria de adultos (ARDS), la bronquitis crónica, la enfermedad pulmonar

obstructiva crónica (COPD), la hipertensión pulmonar, y otras enfermedades así como displasia broncopulmonar en neonatos prematuros. La HNE se presenta en la patogénesis de las secreciones de las vías respiratorias aumentadas y anormales
5 comúnmente asociadas con las enfermedades inflamatorias de las vías respiratorias. De este modo, el fluido del lavado broncoalveolar (BAL) de los pacientes con bronquitis crónica y fibrosis cística tiene actividad de la HNE aumentada. Además, la elastasa excesiva se ha
propuesto que contribuye no sólo a estas enfermedades
10 inflamatorias, sino también a las enfermedades inflamatorias agudas tales como ARDS y el choque séptico.

Por lo tanto, se considera que la HNE es un objetivo potencial para el tratamiento de enfermedades relacionadas con la actividad de HNE tales como las enfermedades inflamatorias como el enfisema
15 pulmonar, el síndrome de insuficiencia respiratoria de adultos (ARDS), la bronquitis crónica, la enfermedad pulmonar obstructiva crónica (COPD), la hipertensión pulmonar, y otras enfermedades inflamatorias así como la displasia broncopulmonar en los neonatos prematuros, y enfermedades relacionadas con secreciones
20 aumentadas y anormales de las vías respiratorias así como enfermedades inflamatorias agudas. De este modo hay una necesidad de moduladores específicos (agonistas o inhibidores) de la HNE.

El tratamiento puede ser local o la aplicación sistémica tal
25 como cremas, ungüentos y supositorios o mediante aplicación oral o

subcutánea o intravenosa o por inhalación, respectivamente, de una manera conocida en la técnica.

En un aspecto, los depsipéptidos de acuerdo con la invención se obtienen cultivando una cepa de *Chondromyces crocatus* que fue depositada el 24 de abril de 2007 con DSMZ (DSM 19329) o se
5 obtiene cultivando una cepa de *Chondromyces robustus* que fue depositada el 24 de abril de 2007 con el DSMZ (DSM 19330) o se obtiene cultivando una cepa de *Chondromyces apiculatus* que se depositó el 23 de junio de 2008 con el DSMZ (DSM 21595).

10 El depósito de la cepa se hizo bajo los términos del Tratado de Budapest en el Reconocimiento Internacional del Depósito de Microorganismos para Propósitos de Procedimientos de Patentes. Las cepas depositadas serán irrevocablemente y sin restricción o condición liberadas al público después de la emisión de la patente.
15 Las cepas depositadas se proporcionan únicamente como conveniencia para los expertos en la técnica y no son la admisión de que un depósito se requiera para habilitación.

Se entenderá que la presente invención no se limita al cultivo de las cepas particulares *Chondromyces crocatus* y *Chondromyces robustus* y *Chondromyces apiculatus*. En vez de eso, la presente
20 invención contempla el cultivo de otros organismos capaces de producir depsipéptidos, tales como mutantes o variantes de las cepas que se pueden derivar de este organismo por medios conocidos tales como irradiación por rayos X, irradiación ultravioleta,
25 tratamiento con mutágenos químicos, exposición a fagos, selección

de antibióticos y similares.

Los depsipéptidos de la presente invención se pueden biosintetizar por varios microorganismos. Los microorganismos que pueden sintetizar los compuestos de la presente invención incluyen, pero no se limitan a bacterias del orden de *Myxococcales*, también conocidos como mixobacterias. Ejemplos no limitantes de los miembros que pertenecen a los géneros de las mixobacterias incluyen *Chondromyces*, *Sorangium*, *Polyangium*, *Byssophaga*, *Haploangium*, *Jahnia*, *Nannocystis*, *Koffleria*, *Myxococcus*, *Corallococcus*, *Cystobacter*, *Archangium*, *Stigmatella*, *Hyalangium*, *Melittangium*, *Pyxicoccus*. La taxonomía de las mixobacterias es compleja y se hace referencia en Garrity GM, Bell JY, Lilburn TG (2004) Taxonomic outline of the prokaryotes, Bergey's manual of systematic bacteriology, 2^{da} edición, reimpresión 5 de Mayo de 2004. (<http://141.150.157.80/bergeysoutline/main.htm>).

Los compuestos de las fórmulas estructurales (I-XVII) se producen por la fermentación aerobia de un medio conveniente bajo condiciones controladas vía la inoculación con un cultivo de *Chondromyces crocatus* o *Chondromyces robustus* o *Chondromyces apiculatus*. El medio conveniente de preferencia es acuoso y contiene fuentes de carbono, nitrógeno y sales inorgánicas asimilables.

Los medios convenientes incluyen, sin limitación, el medio de cultivo mencionado más adelante en los ejemplos 1 y 2. La fermentación se lleva a cabo durante aproximadamente 3 a 20 días a

temperaturas que varían desde 10°C hasta aproximadamente 40°C; sin embargo, para óptimos resultados, se prefiere conducir la fermentación a aproximadamente 30°C. El pH del medio nutriente durante la fermentación puede estar aproximadamente 6.0 hasta
5 aproximadamente 9.0.

El medio de cultivo inoculado con los depsipéptidos que producen los microorganismos se puede incubar bajo condiciones aerobias usando, por ejemplo, un agitador giratorio o un fermentador de tanque agitado. La aireación se puede lograr mediante la
10 inyección de aire, oxígeno o una mezcla gaseosa adecuada para el medio de cultivo inoculado durante la incubación. Tan pronto como una cantidad suficiente de los compuestos de depsipéptidos se han acumulado, se pueden concentrar y aislar del cultivo de manera convencional y usual, por ejemplo por extracción- y métodos
15 cromatográficos, precipitación o cristalización, y/o de una manera descrita en la presente. Como un ejemplo para la extracción, el cultivo se puede mezclar y agitar con un solvente orgánico conveniente tal como n-butanol, acetato de etilo, ciclohexano, n-hexano, tolueno, acetato de n-butilo o 4-metil-2-pentanona, los
20 compuestos de depsipéptido en la capa orgánica se pueden recuperar por remoción del solvente bajo presión reducida. El residuo resultante opcionalmente se puede reconstituir con por ejemplo agua, etanol, metanol o una mezcla de los mismos, y re-extraer con un solvente orgánico conveniente tal como hexano,
25 tetracloruro de carbono, diclorometano o una mezcla de los mismos.

Después de la remoción del solvente, los compuestos se pueden purificar adicionalmente por ejemplo mediante métodos cromatográficos. Como un ejemplo de cromatografía, fases estacionarias tales como gel de sílice o de óxido de aluminio se pueden aplicar, con solventes de elusión orgánica o mezclas de los mismos, incluyendo éteres, cetonas, ésteres, hidrocarburos halogenados o alcoholes, o cromatografía en fase inversa sobre gel de sílice modificada que tiene varios grupos funcionales y fluyendo con solventes orgánicos o mezclas acuosas de los mismos, como acetonitrilo, metanol o tetrahidrofurano a diferente pH. Otro ejemplo es la cromatografía de partición, por ejemplo en el modo sólido-líquido o en el modo líquido-líquido. También se puede aplicar la cromatografía por exclusión de tamaño, por ejemplo usando Sephadex LH-20 (Sigma-Aldrich) y fluyendo con diferentes solventes, de preferencia con alcoholes.

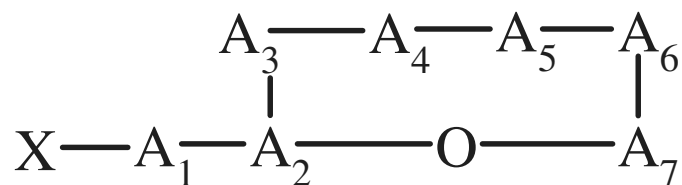
Como es usual en este campo, la producción así como la recuperación y el proceso de purificación se puede monitorear mediante una variedad de métodos analíticos, incluyendo bioensayos, TLC, HPLC o una combinación de los mismos, y aplicando diferentes métodos de detección, para TLC típicamente luz ultravioleta, vapor de yodo o rociando reactivos colorantes, para la HPLC típicamente luz ultravioleta, en métodos de dispersión de luz o sensibles a la masa. Por ejemplo, una técnica de HPLC se representa usando una columna en fase inversa con un gel de sílice funcionalizado y aplicando un eluyente que es una mezcla gradiente

lineal de un solvente miscible en agua polar y agua a un pH específico, y un método de detección con luz ultravioleta a diferentes longitudes de onda y un detector sensible de masa.

Los depsipéptidos biosintetizados por microorganismos
 5 opcionalmente se pueden someter a modificaciones químicas
 aleatorias y/o dirigidas para formar compuestos que son derivados o
 análogos estructurales. Estos derivados o análogos estructurales
 tienen actividades funcionales semejantes y están dentro del alcance
 de la presente invención. Los depsipéptidos opcionalmente se
 10 pueden modificar utilizando métodos muy conocidos en la técnica y
 descritos en la presente.

Por ejemplo, los derivados de los depsipéptidos de la invención
 se pueden preparar mediante la derivación de los depsipéptidos
 cíclicos de la fórmula

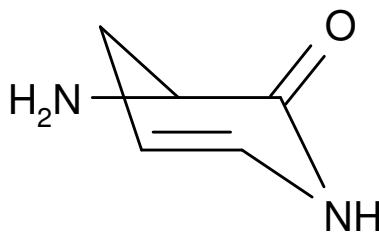
15



que comprende

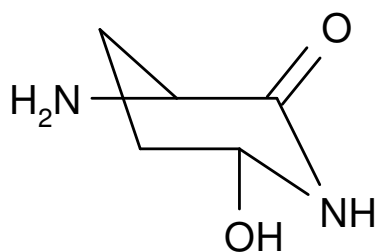
20

a)- la preparación de los compuestos, en donde A4 es



25

mediante el tratamiento de un compuesto en donde A4 es

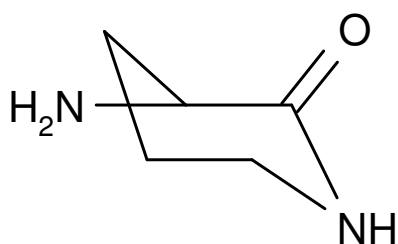


5

con un ácido orgánico o inorgánico, por ejemplo, ácido trifluoroacético, ácido sulfúrico, ácido clorhídrico, o un ácido de Lewis, por ejemplo, eterato de borotrifluoruro en un solvente, por ejemplo diclorometano, THF, o sin solvente a una temperatura entre -78 °C y 150 °C, de preferencia entre -30 °C y la temperatura ambiente.

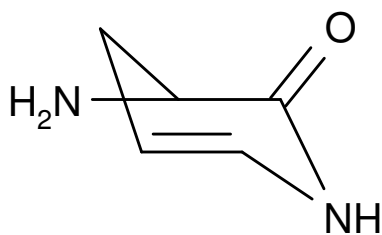
10

b)- la preparación de los compuestos, en donde A4 es



15

mediante el tratamiento de un compuesto en donde A4 es

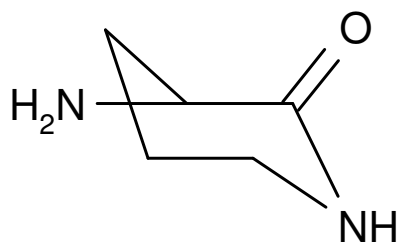


20

con hidrógeno molecular o una fuente del mismo, por ejemplo ciclohexeno, formato de amonio, en presencia de un catalizador, por ejemplo paladio en un solvente, por ejemplo 2-propanol a una temperatura entre -50 y 100 °C, de preferencia a temperatura ambiente.

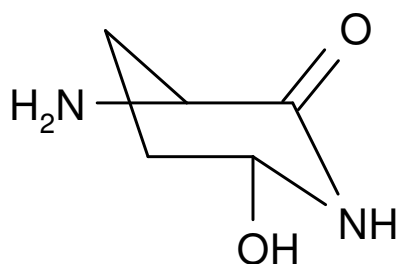
25

c)- la preparación de los compuestos, en donde A4 es



5

mediante el tratamiento de un compuesto, en donde A4 es

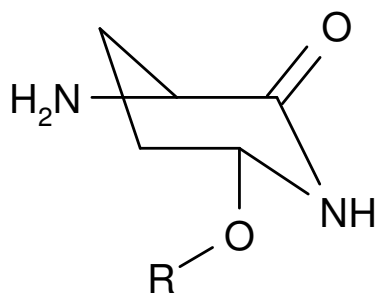


10

con un ácido orgánico o inorgánico, por ejemplo ácido sulfúrico, ácido clorhídrico o un ácido de Lewis, por ejemplo eterato de trifluoruro de boro en presencia de un agente reductor, por ejemplo trietilsilano, un solvente, por ejemplo diclorometano, THF, o sin un solvente a una temperatura entre -78°C y 150°C , de preferencia entre -50°C y la temperatura ambiente.

15

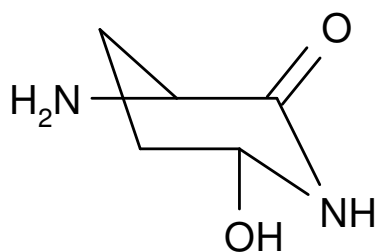
d)- La preparación de compuestos, en donde A4 es



20

25

mediante el tratamiento de un compuesto en donde A4 es



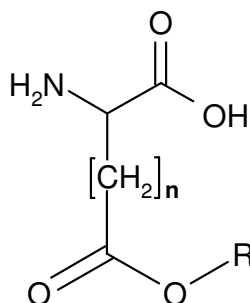
5

con un alcohol sustituido o no sustituido con un ácido orgánico o inorgánico, por ejemplo ácido trifluoroacético, ácido sulfúrico, ácido clorhídrico, o un ácido de Lewis, por ejemplo sales de metales en un solvente, por ejemplo alcoholes sustituidos y no sustituidos, THF, diclorometano, de preferencia alcoholes sustituidos y no sustituidos, o sin un solvente a una temperatura entre -78°C y 150°C, de preferencia entre -30°C y 50°C.

10

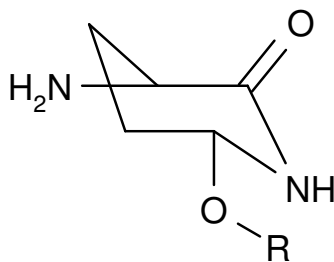
e)- La preparación de compuestos en donde A1 es

15



en donde $n = 1, 2$ y A4 es

20

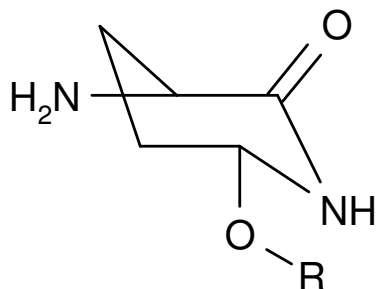


25

en donde R de preferencia es H, alquilo, alquilo sustituido,

mediante el tratamiento de un compuesto en donde A1 es Gln o Asn y A4 es

5

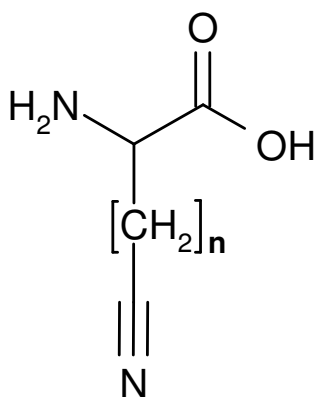


en donde R de preferencia es H, alquilo, alquilo sustituido, con un alcohol sustituido o no sustituido y un ácido orgánico o inorgánico, por ejemplo ácido trifluoroacético, ácido sulfúrico, ácido clorhídrico, o un ácido de Lewis, por ejemplo eterato de trifluoruro de boro en un solvente, por ejemplo alcoholes sustituidos y no sustituidos, THF, diclorometano, de preferencia alcoholes sustituidos y no sustituidos, o sin un solvente a una temperatura entre -78°C y 150°C, de preferencia entre -30°C y la temperatura ambiente.

15

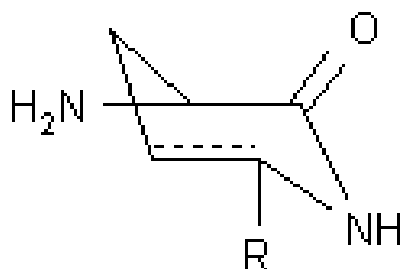
f)- La preparación de compuestos, en donde A1 es

20



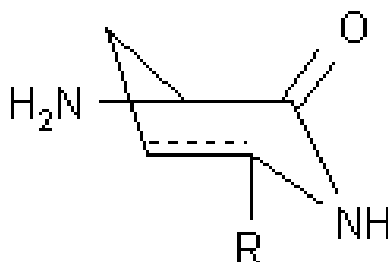
en donde $n = 1, 2$ y A4 es

25



5

en donde R de preferencia es H, OH, O-alquilo, O-alquilo sustituido, O-acilo, mediante tratamiento de un compuesto en donde A1 es Gln o Asn y A4 es

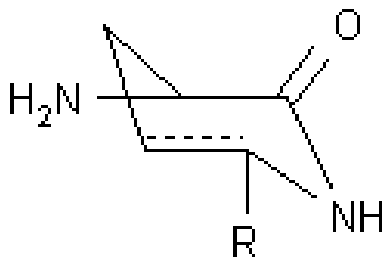


10

con un agente deshidratante, por ejemplo anhídrido de ácido trifluoroacético en presencia de una base, por ejemplo diisopropiletilamina (DIPEA), en un solvente, por ejemplo diclorometano o sin un solvente a una temperatura entre -78°C y 150°C , preferiblemente entre -30°C y la temperatura ambiente.

g)- La preparación de compuestos en donde A4 es

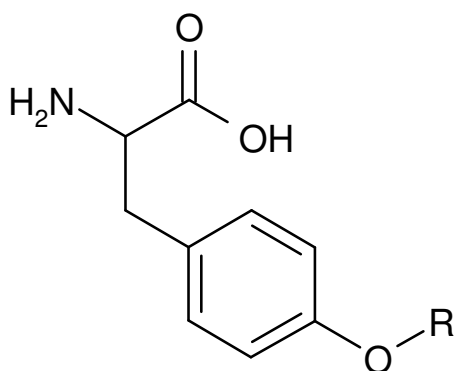
20



25

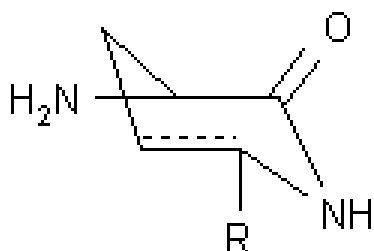
y A6 es

5



en donde R de preferencia es alquilo, alquilo sustituido, acilo, alcoxycarbonilo mediante el tratamiento de un compuesto en donde A4 es

10



15

y A6 es Tyr,

20

con un agente alquilante, por ejemplo yoduro de metilo, bromuro de bencilo, bromuro de proargilo o un agente acilante, por ejemplo cloroformato de etilo o un isocianato de alquilo o arilo en presencia de una base, por ejemplo carbonato de sodio en un solvente, por ejemplo DMF o sin un solvente a una temperatura entre -78°C y 150°C, preferentemente entre -30°C y la temperatura, de preferencia promovido por ultrasonido.

25

A menos que se indique otra cosa, todos los números que expresan cantidades o ingredientes, propiedades tales como peso molecular, condiciones de la reacción, IC₅₀ y así sucesivamente

usados en la especificación y en las reivindicaciones se entenderá que se modificarán en todos los casos por el término "aproximadamente". De conformidad con lo anterior, a menos que se indique lo contrario, los parámetros numéricos presentados en la
5 presente especificación y en las reivindicaciones anexas son aproximaciones. En última instancia, y no como un intento para limitar la solicitud de la doctrina de equivalentes al alcance de las reivindicaciones, cada parámetro numérico deberá al menos considerarse a la luz del número de cifras significativas y aplicando
10 técnicas de redondeo ordinarias.

Independientemente de que las variaciones numéricas y de los parámetros presentan el alcance amplio de la invención son aproximaciones, los valores numéricos puestos en los ejemplos, en las tablas y en las figuras se reportan tan precisamente como sea
15 posible. Cualquier valor numérico inherentemente puede contener ciertos errores resultantes de variaciones en los experimentos, mediciones de prueba, análisis estadísticos y así.

A menos que se defina otra cosa, todos los términos técnicos y científicos usados en la presente tienen el mismo significado que lo
20 entiende comúnmente una persona experta en la técnica a la cual pertenece esta invención. Aunque los métodos y materiales semejantes o equivalentes a los descritos en la presente se pueden usar en la práctica o para probar la presente invención, métodos y materiales convenientes se describen más adelante. Todas las
25 publicaciones, solicitudes de patente, patentes y otras referencias

mencionadas en la presente se incorporan mediante referencia por entero. En caso de conflicto, la presente especificación, incluyendo definiciones, tendrá el control. Además, los materiales, métodos y ejemplos son ilustrativos solamente y no pretenden ser limitantes.

5

Ejemplos

Ejemplo 1

Producción de los compuestos

Ejemplo 1.1.- Producción de los compuestos de fórmula (II)-(VII), (XI)-(XIV) y (XVII)

10 Cepa: La cepa de *Chondromyces crocatus* se aisló de una muestra ambiental, de madera podrida de árbol de castaña, en nuestros laboratorios.

La cepa se identificó sin lugar a dudas como *Chondromyces crocatus* basándose en la morfología de los cuerpos fructificados así como de la secuencia parcial del gen de 16S-ARN. A la *C. crocatus* se le asignó el grupo de riesgo biológico 1 por el DSMZ (DSMZ (2007)). *Chondromyces* es un género de la familia de *Poliangiaceae*, que pertenece al orden de las *Myxococcales* con la delta-proteobacterias. Las bacterias del orden de los *Myxococcales*, también llamadas mixobacterias, son bacterias en forma de bastón gram-negativas con dos características que los distinguen de la mayoría de las demás bacterias. Pululan en superficies sólidas usando un mecanismo de deslizamiento activo y se agregan para formar cuerpos fructuosos contra la inanición (Kaiser (2003)).

25

La cepa de *Chondromyces crocatus* de la invención ha sido

depositada en el DSMZ bajo el número de acceso 19329.

La cepa de *Chondromyces crocatus* de la invención no es viable como cultivo puro y no se puede mantener sin una cepa de compañía. La cepa de compañía se puede obtener y mantener como un cultivo puro rayando una alícuota de un cocultivo de fermentación en placas de ágar (medio LB). Una observación similar fue hecha pro el grupo Reichenbach (Jacobi, y colaboradores (1996), Jacobi, y colaboradores (1997)). Basado en una secuencia de ADN parcial del gen 16S-ARNr de la cepa de compañía del *Chondromyces crocatus* de esta invención, la coincidencia más cercana es *Bosea thiooxidans* del orden de los Rhizobiales dentro de la alfa-proteobacteria. El fragmento de la secuencia de 424 pares de bases 16S-ARNr investigado tiene aproximadamente 98 por ciento de identificación (al menos 8 intercambios de nucleótidos) con la secuencia AF508112 (*B. thiooxidans*) del banco de genes. *B. thiooxidans* se aisló de muestras de tierra recolectadas de diferentes campos agrícolas alrededor de Calcuta, India. Es capaz de oxidar compuestos de azufre inorgánico reducidos en presencia de algunos sustratos orgánicos y se describió como una especie nueva y un género nuevo en 1996 (Das, y colaboradores (1996)). Un árbol filogenético derivado de la secuencia 16S-ARN parcial de las 5 especies de *Bosea* descritas, indica una posición separada para la cepa de compañía *Bosea* aislada de *C. crocatus*.

Cultivo: se realizaron 100 litros de cultivos de fermentación de acuerdo con el siguiente protocolo:

Los precultivos se iniciaron mediante la inoculación de 5 mililitros (=10 por ciento) de un cultivo líquido de la cepa de *Chondromyces crocatus* de la invención en 50 mililitros de medio MD1 (adaptado según Bode y colaboradores 2003, véase la tabla 6) en un matraz de agitación de desviación de 200 mililitros. Después de 11 días de incubación a 30°C y 120 rpm en un agitador giratorio se inició un primer cultivo intermedio mediante la inoculación de 10 mililitro cada uno (=10 por ciento) del precultivo en 5x 100 mililitros de medio MD1 en matraces de agitación de desviación de 500 mililitros. Después de 7 días de incubación a 30°C y 120 rpm en un agitador giratorio se inició un segundo cultivo intermedio mediante la inoculación de 25 mililitro cada uno (=5 por ciento) del primer cultivo intermedio en 19x 500 mililitro de medio MD1 en matraces de agitación no de desviación de 2 litros. Después de 6 días de incubación a 30°C y 150 rpm en un agitador giratorio el segundo cultivo intermedio entero (9.5 litros = 9.5 por ciento) se usó para inocular 100 litros de medio de producción POL1 (adaptado según Kunze y colaboradores 1995, véase la tabla 7).

Este cultivo principal de 100 litros se realizó en un fermentador de tanque de acero a escala de 100 litros. La temperatura se controló a 30°C, la aeración fue de 20 litros/minuto (= 0.2 vvm) y la velocidad de agitación fue de 50 rpm. Se mantuvo una ligera sobrepresión de 0.5 bar dentro del recipiente fermentador. El pH del cultivo se mantuvo a 6.9-7.1 mediante la adición controlada de 3N H₂SO₄ ó 3N NaOH. Después de una fase de espera de aproximadamente 1 día,

el consumo de oxígeno se aceleró durante aproximadamente 4 días indicando el crecimiento exponencial del cultivo. Durante los últimos 2 días el consumo de oxígeno se redujo ligeramente indicando una fase estacionaria del cultivo. Después de 7 días, el cultivo fue cosechado con un titulador de 5.3 miligramos/litro de un depsipéptido cíclico de acuerdo con la Fórmula II.

Extracción: El caldo de fermentación entero fue transferido a un recipiente de acero de 1600 litros y fue decantado durante 1 hora. El aglomerado de células mojadas (200 gramos) se cosechó de la fracción del fondo mediante filtración a través de un papel filtro. El aglomerado celular se extrajo 3 veces mediante turaxing 30 minutos cada una con 10 litros de acetato de etilo. Luego el agua residual se separó de la fase solvente. La fase solvente se lavó con 5 litros de agua y luego se evaporó para obtener un extracto seco conocido como "extracto celular". El filtrado del cultivo se extrajo con 200 litros de acetato de etilo. Después de 2 horas de tiempo de contacto, incluyendo 1 hora de turaxing, se separó la fase orgánica, se lavó con 20 litros de agua y finalmente se evaporó para obtener un extracto seco conocido como el "extracto del filtrado de cultivo".

Aislamiento del compuesto: El extracto del filtrado (4.4 gramos) se disolvió en 80 mililitros de metanol. Los ingredientes insolubles se removieron mediante centrifugación y se evaporó el sobrenadante para secarlo produciendo 3.3 gramos de extracto. El extracto se disolvió en 7.5 mililitros de MeOH, 3 mililitros de DMSO y 0.5 mililitros de diclorometano y se purificó mediante cromatografía en

fase inversa (Waters Sunfire RP18 10µm, 30x150 mm) usando 0.01 por ciento de ácido fórmico (solvente A), y acetonitrilo que contenía 0.1 por ciento de ácido fórmico (solvente B) como solventes. El gasto fue de 50 mililitros/minuto. El gradiente se muestra en la

5 Tabla 1. El material se purificó en 7 corridas cromatográficas. De cada corrida, las fracciones recolectadas se analizaron mediante HPLC, las fracciones que contenían el depsipéptido cíclico de acuerdo con la invención se combinaron y evaporaron en vacío para secarlo. La cromatografía produjo 134 miligramos de depsipéptido

10 cíclico de acuerdo con la fórmula (II) con una pureza de >97 por ciento y 80 miligramos con una pureza de 90 por ciento.

Tabla 1

Gradiente de HPLC usado para la purificación del depsipéptido cíclico de acuerdo con la fórmula (II)

15

Tiempo (min)	Solvente A (%)	Solvente B (%)
0.0	90	10
1.0	90	10
20 23.0	50	50
23.1	0	100
27.0	0	100
25 27.1	90	10

Tiempo (min)	Solvente A (%)	Solvente B (%)
30.0	90	10

5

Tabla 2**Gradiente usado para la separación de fase normal**

10

15

Tiempo (min)	Ciclohexano (%)	Acetato de etilo (%)	Metanol (%)
0	75	25	0
10	75	25	0
33	25	75	0
56	20	70	10
79	0	50	50
93	0	50	50

20

25

El extracto de células (6.67 gramos) se disolvió en diclorometano/metanol 4:1. La solución se filtró y el filtrado se adsorbió en diatom (2 gramos de diatom/1 gramo de extracto, Isolute®, International Sorbent Technology Ltd., Hengoed Mid Glam, RU) seguido por evaporación. El residuo sólido se cargó en una columna de gel de sílice previamente empacada (4x18 centímetros,

90 gramos de gel de sílice 40-63) y se eluyó con un gradiente de ciclohexano, acetato de etilo y metanol. El gradiente se muestra en la Tabla 2, el gasto fue de 28 mililitros/minuto. Se recolectaron fracciones en volúmenes de 28 mililitros. Las fracciones se combinaron de acuerdo con los picos visibles en la traza ultravioleta produciendo 12 fracciones combinadas (A-L). Las fracciones que contenían los depsipéptidos (H-J) se purificaron adicionalmente usando cromatografía en fase inversa. El método cromatográfico y el procedimiento de trabajo son idénticos al método de purificación descrito para el filtrado del cultivo. En total se aislaron 46.1 miligramos de depsipéptido cíclico de acuerdo con la fórmula (II), 17.9 miligramos de depsipéptido cíclico de acuerdo con la fórmula (III) y 6.1 miligramos de una mezcla 1:1 de los depsipéptidos de acuerdo con la fórmula (VI) y (VII). La asignación de las estructuras del compuesto (VI) y (VII) se basa en MS de alta resolución y la comparación de los datos de la RMN ^1H de la mezcla del compuesto (VI) y (VII) con los datos de la RMN ^1H del compuesto (II).

Otro depsipéptido cíclico de acuerdo con la fórmula (II) también se encontró a concentración menor en el extracto celular. Entre estos otros depsipéptidos cíclicos estuvieron aquéllos de acuerdo con la fórmula (IV), (V) y (XI)-(XV) y (XVII).

Caracterización de los compuestos:

Datos físicos del compuesto de fórmula (II)

IR (KBr aglomerado): 3337, 3297, 3062, 2966, 2936, 2877, 1736, 1659, 1533, 1519, 1464, 1445, 1410, 1385, 1368, 1249, 1232,

1205, 989, 832 cm^{-1}

FT-MS (9.4 T APEX-III): 951.5165; calculado para $\text{C}_{46}\text{H}_{72}\text{N}_8\text{O}_{12}$
+ Na: 951.5162

RMN ^1H (600 MHz, d_6 -DMSO) δ : -0.10 (3H, d, $J = 7.0$ Hz), 0.65
5 (4H, m), 0.78 (3H, d, $J = 7.0$ Hz), 0.82 (3H, t, $J = 7.2$ Hz), 0.85 (3H,
d, $J = 7.0$ Hz), 0.89 (3H, d, $J = 7.0$ Hz), 1.02 (1H, m), 1.03 (6H, 2 x d,
 $J = 7.0$ Hz), 1.10 (1H, m), 1.21 (3H, d, $J = 7.0$ Hz), 1.25 (1H, m), 1.40
(1H, m), 1.52 (1H, m), 1.76 (6H, m), 1.84 (1H, m), 1.93 (1H, m), 2.15
(2H, m), 2.48 (1H, m), 2.59 (1H, m), 2.69 (1H, m), 2.72 (3H, s), 3.17
10 (1H, m), 4.32 (2H, m), 4.44 (2H, m), 4.64 (1H, d, $J = 9.5$ Hz), 4.71
(1H, m), 4.94 (1H, s), 5.06 (1H, m), 5.49 (1H, m), 6.08 (1H, d, $J = 2.2$
Hz), 6.65 (2H, d, $J = 8.4$), 6.74 (1H, s), 7.00 (2H, d, $J = 8.4$ Hz), 7.27
(1H, s), 7.36 (1H, d, $J = 9.5$ Hz), 7.66 (1H, d, $J = 10.2$ Hz), 7.74 (1H,
d, $J = 8.8$ Hz), 8.02 (1H, d, $J = 8.1$ Hz), 8.43 (1H, d, $J = 8.1$ Hz), 9.19
15 (1H, s).

RMN ^{13}C (150 MHz) d_6 -DMSO δ : 10.35, CH_3 ; 11.22, CH_3 ; 13.79,
 CH_3 ; 16.00, CH_3 ; 17.63, CH_3 ; 19.49, 2 x CH_3 ; 20.83, CH_3 ; 21.72, CH_2
; 23.30, CH_3 ; 23.70, CH_2 ; 24.16, CH; 24.41, CH_2 ; 27.35, CH_2 ; 29.74,
 CH_2 ; 30.07, CH_3 ; 31.44, CH_2 ; 33.13, CH; 33.19, CH_2 ; 33.68, CH;
20 37.39, CH; 39.05, CH_2 ; 48.75, CH; 50.59, CH; 52.01, CH; 54.11, CH;
54.65, CH; 55.24, CH; 60.60, CH; 71.86 CH; 73.89, CH; 115.28, 2 x
CH; 127.31, Cq; 130.35, 2 x CH; 156.25, Cq; 169.09, Cq; 169.25, Cq;
169.34, Cq; 169.74, Cq; 170.60, Cq; 172.41, Cq; 172.52, Cq; 173.78,
Cq; 176.32, Cq

Datos físicos del compuesto de la fórmula (III)

FT-MS (9.4 T APEX-III): Encontrado: 965.5318; calculado para $C_{47}H_{74}N_8O_{12} + Na$: 965.5318

RMN 1H (600 MHz) d_6 -DMSO δ : -0.10 (3H, d, J = 7.0 Hz), 0.64
 5 (4H, m), 0.78 (3H, d, J = 7.0 Hz), 0.82 (3H, t, J = 7.0 Hz), 0.83 (3H, t,
 J = 7.3 Hz), 0.85 (3H, d, J = 7.0 Hz), 0.89 (3H, d, J = 7.0 Hz), 1.01
 (3H, d, J = 7.1 Hz), 1.04 (1H, m), 1.10 (1H, m), 1.21 (3H, d, J = 7.0
 Hz), 1.25 (1H, m), 1.32 (1H, m), 1.40 (1H, m), 1.53 (2H, m), 1.77 (6H,
 m), 1.84 (1H, m), 1.92 (1H, m), 2.12 (1H, m), 2.16 (1H, m), 2.28 (1H,
 10 m), 2.59 (1H, m), 2.68 (1H, m), 2.72 (3H, s), 3.17 (1H, m), 4.32 (1H,
 m), 4.38 (1H, m), 4.43 (1H, d, J = 10.2 Hz), 4.46 (1H, m), 4.63 (1H,
 d, J = 9.5 Hz), 4.71 (1H, m), 4.94 (1H, m), 5.06 (1H, m), 5.49 (1H,
 m), 6.11 (1H, s, amplio), 6.65 (2H, d, J = 8.8 Hz), 6.73 (1H, s), 7.00
 (2H, d, J = 8.8 Hz), 7.27 (1H, s), 7.37 (1H, d, J = 9.5 Hz), 7.66 (1H,
 15 d, J = 10.2 Hz), 7.75 (1H, d, J = 9.7 Hz), 8.07 (1H, d, J = 8.1 Hz),
 8.45 (1H, d, J = 8.8 Hz), 9.24 (1H, amplio)

Datos físicos para el compuesto de fórmula (IV)

FT-MS (9.4 T APEX-III): Encontrado: 947.5196; calculado para $C_{47}H_{72}N_8O_{11} + Na$: 947.5213

20 RMN 1H (600 MHz) d_6 -DMSO δ : 0.08 (3H, d, J = 7.0 Hz), 0.68
 (3H, t, J = 7.2 Hz), 0.71 (3H, d, J = 7.0 Hz), 0.78 (3H, d, J = 7.0 Hz),
 0.83 (3H, t, J = 7.3 Hz), 0.84 (1H, m), 0.87 (3H, t, J = 7.2 Hz), 0.88
 (3H, d, J = 7.0 Hz), 0.99 (3H, d, J = 7.1 Hz), 1.08 (1H, m), 1.17 (3H,
 d, J = 6.7 Hz), 1.18 (1H, m), 1.31 (2H, m), 1.43 (1H, m), 1.51 (1H,
 25 m), 1.54 (1H, m), 1.76 (2H, m), 1.90 (1H, m), 1.94 (1H, m), 2.01 (1H,

m), 2.10 (1H, m), 2.16 (1H, m), 2.26 (1H, m), 2.46 (2H, m), 2.73 (1H, m), 2.74 (3H, s), 3.19 (1H, m), 4.34 (1H, m), 4.36 (1H, m), 4.51 (1H, m), 4.55 (1H, m), 4.66 (1H, d, J = 10.0 Hz), 4.79 (1H, d, J = 11.0 Hz), 5.19 (1H, m), 5.28 (1H, m), 5.44 (1H, m), 6.25 (1H, d, J = 7.3 Hz), 6.33 (1H, d, J = 8.8 Hz), 6.68 (2H, d, J = 8.8 Hz), 6.75 (1H, s), 7.04 (2H, d, J = 8.8 Hz), 7.28 (1H, s), 7.32 (1H, d, J = 8.8 Hz), 7.91 (1H, d, J = 9.5 Hz), 8.05 (1H, d, J = 8.1 Hz), 8.57 (1H, d, J = 8.9 Hz), 9.38 (1H, amplio)

Datos físicos para el compuesto de fórmula (V)

10 FT-MS (9.4 T APEX-III): Encontrado: 933.5053; calculado para $C_{46}H_{70}N_8O_{11} + Na$: 953.5056

RMN 1H (600 MHz) d_6 -DMSO δ_H : 0.08 (3H, d, J = 7.0 Hz), 0.68 (3H, t, J = 7.2 Hz), 0.71 (3H, d, J = 7.0 Hz), 0.79 (3H, d, J = 7.0 Hz), 0.83 (1H, m), 0.88 (3H, t, J = 7.2 Hz), 0.89 (3H, d, J = 7.0 Hz), 1.01 (3H, d, J = 7.0 Hz), 1.03 (3H, d, J = 7.0 Hz) 1.08 (1H, m), 1.17 (3H, d, J = 6.7 Hz), 1.20 (1H, m), 1.31 (1H, m), 1.42 (1H, m), 1.54 (1H, m), 1.74 (2H, m), 1.91 (2H, m), 2.02 (1H, m), 2.10 (1H, m), 2.15 (1H, m), 2.46 (3H, m), 2.75 (3H, s), 2.76 (1H, m), 3.19 (1H, m), 4.32 (1H, m), 4.34 (1H, m), 4.51 (1H, m), 4.55 (1H, m), 4.66 (1H, d, J = 9.5 Hz), 4.79 (1H, d, J = 11.0 Hz), 5.19 (1H, m), 5.28 (1H, m), 5.43 (1H, m), 6.25 (1H, d, J = 7.0 Hz), 6.33 (1H, d, J = 8.5 Hz), 6.68 (2H, d, J = 8.8 Hz), 6.75 (1H, s), 7.04 (2H, d, J = 8.8 Hz), 7.28 (1H, s), 7.31 (1H, d, J = 8.8 Hz), 7.90 (1H, d, J = 9.5 Hz), 7.99 (1H, d, J = 8.1 Hz), 8.52 (1H, d, J = 8.8 Hz), 9.30 (1H, amplio)

Datos físicos para el compuesto de fórmula (XI)

ESI-MS: modo positivo: $m/z = 951.5$ (M+Na), modo negativo: $m/z = 927.5$ (M-H); MW monoisotópico 928.5, $C_{46}H_{72}N_8O_{12}$

RMN 1H (600 MHz) d_6 -DMSO δ : -0.11 (3H, d, $J = 6.6$ Hz), 0.64
 5 (4H, m), 0.77 (3H, d, $J = 6.6$ Hz), 0.83 (3H, m), 0.85 (3H, m), 0.87
 (3H, m), 0.89 (3H, m), 1.01 (3H, m), 1.10 (1H, m), 1.21 (3H, d, $J =$
 5.9 Hz), 1.32 (1H, m), 1.40 (1H, m), 1.52 (2H, m), 1.75 (5H, m), 1.84
 (1H, m), 1.91 (1H, m), 2.05 (1H, m), 2.15 (2H, m), 2.27 (1H, m), 2.59
 (1H, m), 2.68 (1H, m), 2.73 (3H, s), 3.16 (1H, m), 4.31 (1H, m), 4.37
 10 (1H, m), 4.43 (1H, m), 4.45 (1H, m), 4.63 (1H, d, $J = 8.8$ Hz), 4.69
 (1H, m), 4.94 (1H, m), 5.05 (1H, m), 5.50 (1H, m), 6.15 (1H, s,
 amplio), 6.65 (2H, d, $J = 8.1$ Hz), 6.75 (1H, s), 7.00 (2H, d, $J = 8.1$
 Hz), 7.29 (1H, s), 7.37 (1H, d, $J = 9.5$ Hz), 7.64 (1H, d, $J = 9.5$ Hz),
 7.78 (1H, d, $J = 8.8$ Hz), 8.09 (1H, d, $J = 8.1$ Hz), 8.49 (1H, d, $J = 9.5$
 15 Hz), (OH de tirosina no visible)

Datos físicos para el compuesto de fórmula (XII)

ESI-MS: modo positivo: $m/z = 923.5$ (M+Na), modo negativo: $m/z = 899.5$ (M-H); MW monoisotópico 900.5, $C_{44}H_{68}N_8O_{12}$

RMN 1H (500 MHz) d_6 -DMSO δ : -0.11 (3H, d, $J = 6.4$ Hz), 0.63
 20 (4H, m), 0.75 (3H, d, $J = 6.4$ Hz), 0.83 (6H, d, $J = 7.0$ Hz), 0.87 (3H,
 d, $J = 6.4$ Hz), 1.03 (1H, m), 1.10 (1H, m), 1.20 (3H, d, $J = 6.4$ Hz),
 1.25 (1H, m), 1.38 (1H, m), 1.50 (1H, m), 1.73 (1H, m), 1.75 (2H, m),
 1.77 (1H, m), 1.79 (3H, m), 1.85 (3H, s), 1.85 (1H, m), 2.12 (1H, m),
 2.16 (1H, m), 2.55 (1H, m), 2.67 (1H, m), 2.70 (3H, s), 3.13 (1H, m),
 25 4.30 (1H, m), 4.40 (1H, m), 4.43 (2H, m), 4.59 (1H, d, $J = 9.5$ hz),

4.71 (1H, m), 4.92 (1H, m), 5.02 (1H, m), 5.46 (1H, m), 6.08 (1H, s, amplio), 6.62 (2H, d, J = 8.5 Hz), 6.71 (1H, s), 6.97 (2H, d, J = 8.5 Hz), 7.22 (1H, s), 7.34 (1H, d, J = 9.2 Hz), 7.64 (1H, d, J = 9.5 Hz), 7.93 (1H, d, J = 9.2 Hz), 8.06 (1H, d, J = 7.6 Hz), 8.39 (1H, d, J = 8.5 Hz), 9.06 (1H, s, amplio)

Datos físicos para el compuesto de fórmula (XIII)

FT-MS (9.4 T APEX-III): Encontrado: 961.5039; calculado para $C_{49}H_{70}N_8O_{12} + Na$: 985.5005

RMN 1H (500 MHz) d_6 -DMSO δ : -0.12 (3H, d, J = 6.4 Hz), 0.62 (4H, m), 0.75 (3H, d, J = 6.4 Hz), 0.81 (4H, m), 0.87 (3H, d, J = 6.4 Hz), 1.08 (1H, m), 1.20 (3H, m), 1.22 (3H, m), 1.38 (1H, m), 1.46 (1H, m), 1.50 (1H, m), 1.71 (1H, m), 1.73 (2H, m), 1.76 (2H, m), 1.82 (1H, m), 1.94 (1H, m), 2.01 (1H, m), 2.23 (2H, m), 2.56 (1H, m), 2.66 (1H, m), 2.69 (3H, s), 3.13 (1H, m), 4.30 (1H, m), 4.41 (2H, m), 4.55 (1H, m), 4.65 (1H, d, J = 9.5 Hz), 4.70 (1H, m), 4.92 (1H, m), 5.04 (1H, m), 5.48 (1H, m), 6.09 (1H, s, amplio), 6.64 (2H, d, J = 8.5 Hz), 6.81 (1H, s), 6.97 (2H, d, J = 8.5 Hz), 7.33 (1H, s), 7.35 (1H, d, J = 9.2 Hz), 7.46 (2H, t, J = 7.3 Hz), 7.53 (1H, t, J = 7.3 Hz), 7.66 (1H, d, J = 9.5 Hz), 7.88 (2H, d, J = 7.3 Hz), 7.95 (1H, d, J = 9.5 Hz), 8.46 (1H, d, J = 8.5 Hz), 8.71 (1H, d, J = 7.3 Hz); (OH de tirosina no visible)

Datos físicos para el compuesto de fórmula (XIV)

ESI-MS: modo positivo: $m/z = 927.5$ (M+H), modo negativo: $m/z = 925.5$ (M-H); MW monoisotópico 926.5, $C_{47}H_{74}N_8O_{11}$

RMN 1H (500 MHz) d_6 -DMSO δ : 0.00 (1H, m), 0.48 (3H, t, J = 7.5 Hz), 0.70 (3H, d, J = 7.0 Hz), 0.73 (3H, t, J = 7.0 Hz), 0.76 (3H, d,

J = 7.3 Hz), 0.79 (3H, t, J = 7.3 Hz), 0.83 (6H, d, J = 6.4 Hz), 0.89 (1H, m), 0.95 (1H, m), 0.98 (3H, d, J = 7.0 Hz), 1.04 (3H, d, J = 6.1 Hz), 1.09 (1H, m), 1.17 (1H, m), 1.28 (1H, m), 1.31 (1H, m), 1.36 (1H, m), 1.38 (1H, m), 1.55 (1H, m), 1.61 (1H, m), 1.68 (1H, m), 1.79 (1H, m), 1.82 (1H, m), 1.95 (2H, m), 2.15 (3H, m), 2.25 (1H, m), 2.66 (3H, s), 2.76 (1H, m), 3.14 (1H, m), 3.40 (1H, m), 3.42 (1H, m), 4.33 (1H, m), 4.36 (1H, m), 4.45 (2H, m), 4.55 (2H, m), 4.69 (1H, m), 5.06 (1H, m), 6.63 (2H, d, J = 8.2 Hz), 6.71 (1H, s, amplio), 7.01 (2H, d, J = 8.2 Hz), 7.27 (1H, s, amplio), 7.36 (1H, d, J = 9.5 Hz), 8.00 (1H, d, J = 9.5 Hz), 8.17 (1H, d, J = 4.00 Hz), 8.22 (1H, d, J = 7.3 Hz), 8.53 (1H, d, J = 9.5 Hz), 9.14 (1H, s, amplio)

Datos físicos para el compuesto de fórmula (XVII)

ESI-MS: modo positivo: $m/z = 985.4$ ($M+Na$), modo negativo: $m/z = 961.5$ ($M-H$); MW monoisotópico 962.5, $C_{45}H_{70}N_8O_{13}S$

RMN 1H (600 MHz) d_6 -DMSO δ :). δ : no asignación de cambios químicos (mezcla de dos diastereómeros, asignación de estructura a través de la comparación con otros compuestos relacionados, por ejemplo, el compuesto (II).

Ejemplo 1.2: Producción del compuesto de fórmula (VIII, IX, X)

Cepa: La cepa *Chondromyces robustus* se aisló de una muestra de estiércol. La cepa de *Chondromyces robustus* de la invención se ha identificado como un *Chondromyces robustus* basado en la morfología de los cuerpos de frutas así como de la secuencia parcial del gen de 16S-ARN. A la *C. robustus* se le asignó el grupo 1 de riesgo biológico por el DSMZ (DSMZ (2007)). *Chondromyces* es un

género en la familia de *poliangiaceae*, que pertenece al orden de los mixococales dentro de las delta-proteobacterias. Las bacterias del orden de los mixococales, también llamados mixobacterias, son bacterias en forma de bastón gram-negativas con dos características
5 que las distinguen de la mayoría de las demás bacterias. Pululan sobre superficies sólidas usando un mecanismo de deslizamiento activo y se agregan para formar cuerpos fructificados contra la inanición (Kaiser (2003)).

La cepa de *Chondromyces robustus* de la invención se ha
10 depositado en el DSMZ bajo el número de acceso 19330.

Cultivo: se realizaron cultivos en 100 litros de fermentación de acuerdo con el siguiente protocolo:

Los precultivos se iniciaron mediante la inoculación de 20 mililitros cada uno (=20 por ciento) de un cultivo líquido de la cepa
15 de *Chondromyces robustus* de la invención en 6x 100 mililitros de medio MD1 (adaptado según Bode y colaboradores 2003) en matraces de desviación de 500 mililitros. Después de 1 día de incubación a 30°C y 120 rpm en un agitador giratorio se inició un primer cultivo intermedio mediante la inoculación de 100 mililitros
20 cada uno (=25 por ciento) del precultivo en 6x 400 mililitros de medio MD1 en matraces de agitación con desviación de 2 litros. Después de 3 días de incubación a 30°C y 120 rpm en un agitador giratorio se inició un segundo cultivo intermedio mediante la inoculación de 3 litros (=20 por ciento) del primer cultivo intermedio en un
25 fermentador tanque de acero de 20 litros que contenía 15 litros de

medio MD1. la temperatura se controló a 30°C, la aeración fue de 20 litros/minuto (= 1.0 vvm) y la velocidad de agitación fue de 80 rpm. Se mantuvo una ligera sobrepresión de 0.5 bar dentro del recipiente fermentador. Aunque no hubo control del pH, el pH del cultivo disminuyó solo ligeramente del pH 6.95 al iniciar al pH 6.88 el día 7. después de 7 días, el segundo cultivo intermedio (18 litros = 20 por ciento) se usó para inocular 90 litros de medio de producción POL1 (adaptado según Kunze y colaboradores 1995) (volumen inicial = 108 litros). El cultivo principal se llevó a cabo en un fermentador tanque de acero en escala de 100 litros. La temperatura se controló a 30°C, la aeración fue de 30 litros/minuto (= 0.3 vvm) y la velocidad de agitación estuvo al principio en 50 rpm y después de 4 días, 80 rpm. Se mantuvo una ligera sobrepresión de 0.5 bar dentro del recipiente fermentor. El pH del cultivo se mantuvo a 6.8-7.2 mediante la adición controlada de 2N H₂SO₄ ó 1.5N NaOH. Después de 14 días, el cultivo fue cosechado con un titulador de 3 miligramos/litro.

Extracción: el caldo de fermentación entero se transfirió a un recipiente de acero de 1600 litros y se decantó durante 1 hora. El aglomerado de células mojadas (aproximadamente 200 gramos) se cosechó de la fracción del fondo mediante filtración a través de un filtro de papel. El aglomerado celular se extrajo 3 veces mediante turaxing 30 minutos cada vez con 10 litros de acetato de etilo. Luego, se separó el agua residual de la fase solvente. La fase solvente se lavó con 5 litros de agua y luego se evaporó para obtener 11.9 gramos de extracto seco conocido como "extracto

celular".

El filtrado del cultivo se extrajo con 200 litros de acetato de etilo. Después de 2 horas de tiempo de contacto, incluyendo 1 hora de turaxing, se separó la fase orgánica, se lavó con 20 litros de agua y finalmente se evaporó para obtener 12.5 gramos de extracto seco conocido como "extracto de filtrado de cultivo".

Aislamiento del compuesto: cada extracto (del micelio y del filtrado de cultivo) se disolvió en diclorometano/metanol 4:1. La solución se filtró y el filtrado se adsorbió en diatom (2 gramos diatom/1 gramo extracto, Isolute®, International Sorbent Technology Ltd., Hengoed Mid Glam, RU) seguido por evaporación. El residuo sólido se cargó en una columna de gel de sílice pre-empacada (4x18 centímetros, 100 gramos de gel de sílice 40-63) y se eluyó con un gradiente de ciclohexano, acetato de etilo y metanol. El gradiente se muestra en la Tabla 4, el gasto fue de 28 mililitros/minuto. Las fracciones en volúmenes de 28 mililitros se recolectaron. Las fracciones se combinaron de acuerdo con los picos visibles en la traza de ultravioleta. La fracción que contenía el depsipéptido cíclico de la invención se purificó adicionalmente usando cromatografía en fase inversa (Waters Sunfire RP18 10µm, 30x150 mm) usando 0.01 por ciento de ácido fórmico (solvente A), y acetonitrilo que contenía 0.1 por ciento de ácido fórmico (solvente B) como solventes. El gasto fue de 50 mililitros/minuto. El gradiente se muestra en la Tabla 5. Para inyección, el material se disolvió en MeOH/DMSO 1:1 (concentración 200 miligramos/mililitro). Las

fracciones recolectadas se analizaron mediante HPLC, las fracciones que contenían el por ciento de la invención se combinaron y se evaporaron en vacío hasta secarlos. La cromatografía del extracto producido en 52 miligramos de depsipéptido cíclico puro (>97 por
 5 ciento) de acuerdo con la fórmula (VIII). Se pudo aislar un total de 85 miligramos de depsipéptido cíclico puro de acuerdo con la fórmula (VIII) de los extractos combinados.

Otro depsipéptido cíclico de acuerdo con la fórmula (VIII) también se encontró a concentración menor en el extracto celular.
 10 Entre estos otros depsipéptidos cíclicos estuvieron aquéllos de acuerdo con la fórmula (IX) y (X).

Tabla 4

Gradiente usado para la separación de fase normal

15	Tiempo (min)	Ciclohexano (%)	Acetato de etilo (%)	Metanol (%)
	0	75	25	0
	10	75	25	0
20	33	25	75	0
	56	20	70	10
	79	0	50	50
25	93	0	50	50

Tabla 5

Gradiente de HPLC utilizado para la purificación del depsipéptido cíclico de acuerdo con la fórmula (VIII)

5	Tiempo (min)	Solvente A (%)	Solvente B (%)
	0.0	75	25
	1.0	75	25
10	23.0	55	45
	23.1	0	100
	27.0	0	100
	27.1	75	25
15	30.0	75	25

Media (ajustado a pH 7.0 con 50 mM HEPES)

Tabla 6

MD1 (medio de precultivo)

20	Sustancia	Concentración [g/L]
	Casitona	3
25	CaCl ₂ x 2 H ₂ O	0.5

	Sustancia	Concentración [g/L]
5	MgSO ₄ x 7 H ₂ O	2
	D(+)-Glucosa sin agua	1
	Cianocobalamina	0.5 mg
	Antiespumante B	0.2 mL
10	Solución de ferrioxamina [100 ng/mL]	1 mL

Tabla 7**POL1 (medio de producción)**

15	Sustancia	Concentración [g/L]
	Proteína de papa	4
	Almidón soluble	3
20	CaCl ₂ x 2 H ₂ O	0.5
	MgSO ₄ x 7 H ₂ O	2
25	Cianocobalamina	0.25 mg

5	Sustancia	Concentración [g/L]
	HEPES	12
	Solución elemento de traza estándar 1901	1 mL
	XAD16	35

10 Caracterización de los compuestos:

Datos físicos del compuesto de fórmula (VIII)

FT-MS (9.4 T APEX-III): Encontrado: 985.5007; calculado para $C_{49}H_{70}N_8O_{12} + Na$: 985.5005.

RMN 1H (600 MHz) d_6 -DMSO δ : 0.74 (6H, d, J = 7.0 Hz), 0.85
 15 (3H, d, J = 7.0 Hz), 0.88 (3H, d, J = 7.0 Hz), 0.89 (6H, d, J = 7.0 Hz),
 1.18 (3H, d, J = 6.7 Hz), 1.32 (1H, m), 1.46 (1H, m), 1.57 (2H, m),
 1.72 (3H, m), 1.81 (1H, m), 1.88 (1H, m), 1.98 (1H, m), 2.02 (2H, m),
 2.11 (3H, m), 2.42 (1H, m), 2.73 (1H, m), 2.77 (3H, s), 2.87 (1H, m),
 3.12 (1H, m), 3.64 (1H, m), 4.23 (1H, m), 4.40 (1H, m), 4.58 (1H, d, J
 20 = 9.5 Hz), 4.75 (2H, m), 4.93 (1H, m), 5.07 (1H, s), 5.40 (1H, m),
 6.03 (1H, s), 6.74 (1H, s), 6.79 (2H, d, J = 8.4 Hz), 6.84 (2H, d, J =
 7.8 Hz), 7.02 (2H, d, J = 8.4 Hz), 7.10 (1H, d, J = 9.3 Hz), 7.14 (1H,
 t, J = 7.8 Hz), 7.19 (2H, t, J = 7.8 Hz), 7.26 (1H, s), 7.42 (1H, d, J =
 9.8 Hz), 7.89 (1H, d, J = 9.2 Hz), 8.03 (1H, d, J = 7.9 Hz), 8.38 (1H,
 25 d, J = 8.9 Hz), 9.40 (1H, s)

RMN ^{13}C (150 MHz) $\text{d}_6\text{-DMSO}$ δ : 17.13, CH_3 ; 17.63, CH_3 ; 19.32, CH_3 ; 20.90, CH_3 ; 21.64, CH_2 ; 22.34, CH_3 ; 22.34, CH_3 ; 23.32, CH_3 ; 24.10, CH ; 25.63, CH ; 27.63, CH_2 ; 29.30, CH_2 ; 30.37, CH_3 ; 30.86, CH ; 31.52, CH_2 ; 32.83, CH_2 ; 35.33, CH_2 ; 38.98, CH_2 ; 44.42, CH_2 ;
 5 48.52, CH ; 50.19, CH ; 50.24, CH ; 51.99, CH ; 54.62, CH ; 55.63, CH ;
 60.90, CH ; 71.86 CH ; 73.70, CH ; 115.32, 2 x CH ; 126.21, CH ;
 127.50, Cq ; 127.74, 2 x CH ; 129.42, 2 x CH ; 130.43, 2 x CH ; 136.72,
 Cq ; 156.23, Cq ; 168.93, Cq ; 169.18, Cq ; 169.18, Cq ; 170.18, Cq ;
 170.39, Cq ; 171.72, Cq ; 171.96, Cq ; 172.50, Cq ; 173.82, Cq

10 Datos físicos para el compuesto de fórmula (IX)

FT-MS (9.4 T APEX-III): Encontrado: 969.5058; calculado para $\text{C}_{49}\text{H}_{70}\text{N}_8\text{O}_{11} + \text{Na}$; 969.5056.

RMN ^1H (600 MHz) $\text{d}_6\text{-DMSO}$ δ): 0.53 (3H, d, $J = 6.6$ Hz), 0.73 (3H, d, $J = 6.6$ Hz), 0.74 (3H, d, $J = 6.6$ Hz), 0.81 (3H, d, $J = 6.6$ Hz),
 15 0.86 (6H, d, $J = 6.6$ Hz), 1.08 (3H, d, $J = 6.5$ Hz), 1.20 (1H, m), 1.33 (3H, m), 1.52 (1H, m), 1.64 (1H, m), 1.80 (2H, m), 2.01 (1H, m), 2.04 (2H, m), 2.15 (4H, m), 2.25 (1H, m), 2.30 (1H, m), 2.74 (3H, s), 2.83 (1H, m), 3.12 (1H, m), 3.32 (1H, m), 3.38 (1H, m), 4.14 (1H, m), 4.27 (1H, m), 4.40 (1H, m), 4.59 (1H, m), 4.61 (1H, m), 4.94 (1H, m), 4.99
 20 (1H, m), 5.10 (1H, m), 6.42 (2H, d, $J = 8.8$ Hz), 6.75 (1H, s), 7.04 (2H, d, $J = 8.8$ Hz), 7.10 (1H, t, $J = 7.3$ Hz), 7.15 (2H, t, $J = 7.3$ Hz), 7.23 (2H, d, $J = 7.3$ Hz), 7.30 (1H, s), 7.41 (1H, d, $J = 9.5$ Hz), 8.05 (1H, d, $J = 9.5$ Hz), 8.23 (1H, d, $J = 8.1$ Hz), 8.47 (1H, d, $J = 4.4$ Hz), 8.71 (1H, d, $J = 10.2$ Hz). (Señal de protón del grupo hidroxilo de
 25 tirosina no visible)

Datos físicos para el compuesto de fórmula (X)

FT-MS (9.4 T APEX-III): Encontrado: 955.4896; calculado para $C_{48}H_{68}N_8O_{11} + Na$: 955.4900.

RMN 1H (600 MHz) d_6 -DMSO δ): no asignación de cambios
 5 químicos (mezcla de rotámeros, asignación de estructura basada en
 comparación de datos de RMN (faltando el grupo N-metilo) con datos
 de RMN del compuesto (IX).

Ejemplo 1.3: Producción de compuestos de fórmula (XV-XVI)

10 Cepa: La cepa *Chondromyces apiculatus* se aisló de una
 muestra de tierra. La cepa de *Chondromyces* de la invención se ha
 identificado como un *Chondromyces apiculatus* basado en la
 secuencia parcial del gen de 16S-ARN. A la *C. apiculatus* se le
 asignó el grupo de riesgo biológico 1 por el DSMZ (DSMZ (2007)).
 15 *Chondromyces* es un género en la familia *poliangiaceae*, que
 pertenece al orden de los mixococales dentro de las delta-
 proteobacterias. Las bacterias del orden de mixococales, también
 conocidas como mixobacterias, son bacterias en forma de bastón
 gram-negativas con dos características que las distinguen de la
 20 mayoría de las demás bacterias. Pululan en superficies sólidas
 usando un mecanismo de deslizamiento activo y se agregan para
 formar cuerpos fructificados contra la inanición (Kaiser (2003)).

La cepa de *Chondromyces robustus* de la invención se ha
 depositado en el DSMZ bajo el número de acceso DSM 21595.

Cultivo:

Los precultivos se iniciaron mediante la inoculación de 20 mililitros cada uno (=20 por ciento) de un cultivo líquido de la cepa de *Chondromyces apiculatus* de la invención en 10x 100 mililitros de medio MD1 (adaptado según Bode y colaboradores 2003) en 500 mililitros en matraces de agitación con desviación. Después de 6 días de incubación a 30°C y 120 rpm en un agitador giratorio los cultivos con volumen total de 1 litro se transfirieron en una bolsa Wave® de 50 litros junto con 5 litros de medio MD1. Después de 7 días de incubación en un reactor BioWave 200 SPS (Wave Biotec AG, Suiza) se añadieron 40 litros de medio M7/14 a la bolsa para iniciar la producción. El cultivo fue cosechado después de 19 días.

Extracción:

Para cosechar el aire en el espacio superior de la bolsa wave se removió al vacío y la bolsa se colgó para permitir la sedimentación de la resina y las células. Después de 1 hora de experimentación, se removieron y se descartaron 43 litros de sobrenadante. Los 7 litros residuales contenían las células y la resina fue congelada durante la noche. Después de descongelación, las células y la resina fueron ganadas por filtración a través del papel filtro. El filtrado se descartó. El aglomerado de célula/resina (peso mojado de aproximadamente 3 kilogramos) se transfirió a un recipiente de metal y se extrajo dos veces con 15 litros de acetato de etilo, con 5 minutos de turaxing durante la primera extracción. Las

mezclas de ambos lotes se separaron a través de filtración en papel y los filtrados se unificaron. Después de separar la fase solvente orgánica de la fase de agua, la fase de solvente se lavó con 2 litros de agua pura y luego se evaporó hasta estar seco. Las fases de
5 agua se descartaron.

Aislamiento del compuesto: el extracto (5 gramos) se disolvió en diclorometano/metanol 4:1. La solución se filtró y el filtrado se adsorbió en diatom (2 gramos de diatom/1 gramo de extracto, Isolute®, International Sorbent Technology Ltd., Hengoed Mid Glam,
10 RU) seguido por evaporación. El residuo sólido se cargó en una columna de gel de sílice pre-empacada (4x18 centímetros, 100 gramos de gel de sílice 40-63) y se eluyó con un gradiente de ciclohexano, acetato de etilo y metanol. El gradiente se muestra en la Tabla 2, el gasto fue de 28 mililitros/minuto. Las fracciones en
15 volúmenes de 28 mililitros se recolectaron. Las fracciones se combinaron de acuerdo con los picos visibles en la traza de ultravioleta. La fracción que contenía los depsipéptidos cíclicos de la invención se purificaron adicionalmente utilizando cromatografía en fase inversa (Waters Sunfire RP18 10µm, 30x150 mm) usando
20 0.01 por ciento de ácido fórmico (solvente A), y acetonitrilo que contenía 0.1 por ciento de ácido fórmico (solvente B) como solventes. El gasto fue de 50 mililitros/minuto. El gradiente se muestra en la Tabla 1. Para inyección, el material fue disuelto en a.6 mililitros MeOH/DMSO 1:1. Las fracciones recolectadas se
25 analizaron mediante HPLC, las fracciones que contenían el

depsipéptido cíclico de la invención se combinaron y evaporaron en vacío hasta secarlos. La cromatografía del extracto produjo en 7 miligramos de depsipéptido cíclico de acuerdo con la fórmula (XV) y 1.2 gramos de depsipéptido cíclico puro de acuerdo con la fórmula (XVI).

Medios

Tabla 8

MD1 (medio de precultivo)

Sustancia	Concentración [g/L]
Casitona	3
$\text{CaCl}_2 \times 2 \text{ H}_2\text{O}$	0.5
$\text{MgSO}_4 \times 7 \text{ H}_2\text{O}$	2
D(+)-Glucosa sin agua	1
Cianocobalamina	0.5 mg
Antiespumante B	0.2 mL
Solución de ferrioxamina [100ng/mL]	1 mL

(Ajustado a un pH de 7.0 con HEPES 50 mM)

Tabla 9**M7/14 (medio de producción)**

5

10

15

20

25

Sustancia	Concentración [g/L]
Extracto de levadura	1
$\text{CaCl}_2 \times 2 \text{ H}_2\text{O}$	1
$\text{MgSO}_4 \times 7 \text{ H}_2\text{O}$	1
Almidón de papa	5
HEPES	12
Proteína de papa	5
D(+)-Glucosa sin agua	2
Cianocobalamina	0.1 mg
Antiespumante B	0.2 mL
Solución de ferrioxamina [100ng/mL]	3 mL
Resina XAD-16	35

(Ajustado a pH 7.4)

Caracterización de compuestos:

Datos físicos del compuesto de fórmula (XV)

FT-MS (9.4 T APEX-III): Encontrado: 1014.5272; Calculado para $C_{50}H_{73}N_9O_{12} + Na$: 1014.5276.

5 RMN 1H (600 MHz) d_6 -DMSO δ : 0.72 (3H, d, $J = 6.6$ Hz), 0.82 (3H, d, $J = 6.6$ Hz), 0.85 (6H, d, $J = 6.6$ Hz), 1.01 (1H, m), 1.02 (6H, d, $J = 6.6$ Hz), 1.17 (3H, d, $J = 6.6$ Hz), 1.21 (1H, m), 1.31 (1H, m), 1.36 (2H, m), 1.42 (1H, m), 1.49 (1H, m), 1.54 (1H, m), 1.56 (1H, m), 1.69 (3H, m), 1.79 (1H, m), 1.81 (1H, m), 2.40 (1H, m), 2.48 (1H, m),
10 2.73 (1H, m), 2.76 (3H, s), 2.87 (1H, m), 2.91 (1H, m), 2.98 (1H, m), 3.10 (1H, m), 3.63 (1H, m), 4.22 (1H, m), 4.42 (1H, td, $J = 8.1, 5.1$ Hz), 4.58 (1H, m), 4.75 (2H, m), 4.90 (1H, m), 5.06 (1H, m), 5.38 (1H, m), 5.42 (2H, amplio), 5.96 (1H, t, $J = 5.5$ Hz), 6.06 (1H, s, amplio), 6.78 (2H, d, $J = 8.1$ Hz), 6.83 (2H, d, $J = 7.3$ Hz), 7.00 (2H, d, $J = 8.1$ Hz), 7.10 (1H, d, $J = 9.5$ Hz), 7.14 (1H, t, $J = 7.3$ Hz), 7.19 (2H, t, $J = 7.3$ Hz), 7.46 (1H, d, $J = 9.5$ Hz), 7.77 (1H, d, $J = 9.5$ Hz), 7.97 (1H, d, $J = 8.1$ Hz), 8.37 (1H, d, $J = 8.8$ Hz), 9.50 (1H, s, amplio)

Datos físicos del compuesto de la fórmula (XVI)

ESI-MS: modo positivo: $m/z = 1004.4$ ($M+Na$), modo negativo:
20 $m/z = 976.5$ ($M-H$); MW monoisotópico 977.5, $C_{49}H_{71}N_9O_{12}$

RMN 1H (600 MHz) d_6 -DMSO δ_H : 0.72 (6H, d, $J = 6.6$ Hz), 0.85 (3H, d, $J = 6.6$ Hz), 0.87 (3H, d, $J = 6.6$ Hz), 1.01 (6H, d, $J = 6.6$ Hz), 1.17 (3H, d, $J = 6.6$ Hz), 1.30 (1H, m), 1.35 (2H, m), 1.43 (1H, m), 1.48 (1H, m), 1.56 (1H, m), 1.57 (1H, m), 1.69 (1H, m), 1.71 (2H, m),
25 1.79 (1H, m), 2.08 (1H, m), 2.41 (1H, m), 2.48 (1H, m), 2.77 (3H, s),

2.87 (1H, m), 2.92 (1H, m), 2.98 (1H, m), 3.09 (1H, m), 3.63 (1H, m),
 4.22 (1H, m), 4.42 (1h, td, J = 8.1, 5.1 Hz), 4.57 (1H, m), 4.74 (1, m),
 4.76 (1H, m), 4.91 (1H, m), 5.06 (1H, s), 5.39 (1H, m), 5.43 (2H, s,
 amplio), 5.96 (1H, t, J = 5.5 Hz), 6.07 (1H, s, amplio), 6.78 (2H, d, J
 5 = 8.1 Hz), 6.84 (2H, d, J = 7.3 Hz), 7.00 (2H, d, J = 8.1 Hz), 7.11
 (1H, d, J = 9.5 Hz), 7.15 (1H, t, J = 7.3 Hz), 7.19 (2H, t, J = 7.3 Hz),
 7.42 (1H, d, J = 9.5 Hz), 7.78 (1H, d, J = 9.5 Hz), 7.98 (1H, d, J =
 8.1 Hz), 8.39 (1H, d, J = 8.8 Hz), 9.52 (1H, s, amplio)

Ejemplo 2: Determinación de la actividad biológica *in vitro*

10 Los compuestos de la presente invención, por ejemplo
 incluyendo un compuesto de la fórmula II-X, exhiben una actividad
 farmacológica y por lo tanto son útiles como productos
 farmacéuticos. Por ejemplo, los compuestos de la presente
 invención se encuentra que inhiben la actividad de calicreína 7 y la
 15 actividad HNE.

Los compuestos de la presente invención tienen valores IC₅₀
 entre 1 nM y 10 µM como se determina en el siguiente ensayo:

Ejemplo 2.1: Actividad inhibidora de calicreína-7 *in vitro*

20 Materiales y reguladores

El sustrato de fluorescencia amortiguada Ac-Glu-Asp(EDANS)-
 Lys-Pro-Ile-Leu-Phe[^]Arg-Leu-Gly-Lys(DABCYL)-Glu-NH₂ (en donde ^
 indica que el enlace escindible, identificado mediante análisis MS) se
 compró de Biosyntan (Berlín, Alemania) y se mantuvo como solución
 25 de cultivo 5 mM en DMSO a -20°C. Todos los demás productos

químicos son de grado analítico.

Las reacciones enzimáticas se llevaron a cabo en 50 mM de regulador de citrato de sodio a pH 5.6 que contenía 150 mM de NaCl y 0.05 por ciento (peso/volumen) de CHAPS.

5 Todas las soluciones que contenían proteína y péptido se manejaron en tubos siliconizados (Life Systems Design, Merenschwand, Suiza). Las soluciones de compuestos así como la enzima y las soluciones de sustrato se transfirieron a placas de 384 pozos (Cliniplate negra; número de catálogo 95040020 Labsystems
10 Oy, Finlandia) por medio de un pipetor de 96 canales CyBi-Well (CyBio AG, Jena, Alemania).

Instrumentación para mediciones FI

Para las mediciones de intensidad de fluorescencia (FI) se usó
15 un lector Ultra Evolution (TECAN, Maennedorf, Suiza). El instrumento se equipa con una combinación de 350 nm (20 nm de anchura de banda) y un filtro de paso de banda de 500 nm (anchura de banda 25 nm) para la excitación de la fluorescencia y adquisición de la emisión, respectivamente. Para aumentar la proporción señal:
20 fondo, se emplea un espejo dicroico apropiado. Los filtros ópticos y el espejo dicroico se compraron de TECAN. Los fluoróforos en cada pozo fueron excitados por tres destellos para su medición.

Determinación de valores IC₅₀

25 Para la determinación de los valores IC₅₀ se realizó la prueba a

temperatura ambiente en placas de 384 pozos. Todos los volúmenes de ensayos finales fueron de 30 microlitros. Los compuestos de prueba se disolvieron en 90 por ciento (volumen/volumen) de DMSO/agua y se diluyeron en agua (que contiene 0.05 por ciento (peso/volumen) CHAPS) hasta 3 veces la concentración deseada del ensayo. Las concentraciones del compuesto final de 1 litro fueron: 0.3 nM, 1 nM, 3 nM, 10 nM, 30 nM, 100 nM, 300 nM, 1 μ M, 3 μ M, 10 μ M y 30 μ M. Para cada ensayo, se añadieron 10 microlitros de agua/CHAPS ($\pm$ el compuesto de prueba) por pozo, seguido por 10 microlitros de solución de proteasa (diluida con 1.5x regulador del ensayo). La concentración de proteasa en la solución final del ensayo es 0.2 nM (de acuerdo con las concentraciones de enzimas determinadas por el método Bradford). Después de 1 hora de incubación a temperatura ambiente, la reacción comenzó mediante la adición de 10 microlitros de solución de sustrato (sustrato disuelto en 1.5x regulador de ensayo, la concentración final fue de 2 μ M). El efecto del compuesto sobre la actividad enzimática se obtiene de las curvas de progreso lineal y se determina de dos lecturas, la primera tomada directamente después de la adición del sustrato y la segunda después de 1 hora. El valor IC_{50} se calcula de la graficación del porcentaje de inhibición contra concentración de inhibidor utilizando software de análisis de regresión no lineal (XLfit, Vers. 4.0; ID Business Solution Ltd., Guildford, Surrey, RU).

Los depsipéptidos cíclicos inhibidos por hCalicreína 7 con valores IC_{50} como se indican en la tabla 11.

Tabla 10

5

	Depsipéptido cíclico de acuerdo con la fórmula (II)	Depsipéptido cíclico de acuerdo con la fórmula (III)
Enzima	IC50 μ M	IC50 μ M
hCalicreína7	0.001	0.0004

10

Tabla 11

15

20

25

Depsipéptido cíclico de acuerdo con la fórmula:	Elastasa de neutrófilo humano IC 50 [μM]	hCalicreína7 IC 50 [μM]
fórmula II	0.01	0.001
fórmula III	0.01	0.0004
fórmula IV	0.07	0.005
fórmula V	0.06	0.006
fórmula IX	0.01	0.001
fórmula X	0.2	0.02
fórmula XII	0.05	0.004

	Depsipéptido cíclico de acuerdo con la fórmula:	Elastasa de neutrófilo humano IC 50 [μM]	hCalicreína7 IC 50 [μM]
5	fórmula XIII	0.03	0.0007
	fórmula XIV	2.7	0.2
	fórmula XV	0.08	0.004
10	ejemplo 4	0.055	0.006
	ejemplo 5	0.005	0.008
	ejemplo 6	0.055	0.095
	ejemplo 7	0.006	0.050
15	ejemplo 9	0.003	0.002
	ejemplo 10	0.009	0.0035
	ejemplo 11	0.012	0.006
20	ejemplo 12	0.006	0.0085
	ejemplo 13	0.004	0.006
	ejemplo 14	0.005	0.01
25	ejemplo 15	0.005	0.015

	Depsipéptido cíclico de acuerdo con la fórmula:	Elastasa de neutrófilo humano IC 50 [μM]	hCalicreína7 IC 50 [μM]
5	ejemplo 16	0.005	0.015
	ejemplo 17	0.0075	0.003
	ejemplo 18	0.0025	0.005
10	ejemplo 19	0.0135	0.0065
	ejemplo 20	0.008	0.0015
	ejemplo 21	0.009	0.0025
	ejemplo 22	0.04	0.006
15	ejemplo 23	0.003	0.005
	ejemplo 24	0.004	0.007
	ejemplo 25	0.0025	0.00375
20	ejemplo 26	0.0045	0.00085
	ejemplo 27	0.02	0.003
	ejemplo 28	0.03	0.0025
25	ejemplo 29	0.025	0.003

	Depsipéptido cíclico de acuerdo con la fórmula:	Elastasa de neutrófilo humano IC 50 [μM]	hCalicreína7 IC 50 [μM]
5	ejemplo 30	4.55	1.05
	ejemplo 31	0.3	0.2
	ejemplo 32	0.03	0.1
10	ejemplo 33	0.035	0.0045
	ejemplo 34	0.005	0.004
	ejemplo 35	0.003	0.0085
	ejemplo 36	0.0035	0.0085
15	ejemplo 37	0.0025	0.0045
	ejemplo 38	0.0015	0.004
	ejemplo 39	0.0035	0.0085
20	ejemplo 40	0.0025	0.0065
	ejemplo 41	0.001	0.002
	ejemplo 42	0.001	0.001
25	ejemplo 43	0.001	0.0002

	Depsipéptido cíclico de acuerdo con la fórmula:	Elastasa de neutrófilo humano IC 50 [μM]	hCalicreína7 IC 50 [μM]
5	ejemplo 44	0.009	0.0035
	ejemplo 45	0.003	0.002
	ejemplo 46	0.1	0.01
10	ejemplo 47	0.01	0.1

Ejemplo 2.2: Actividad inhibidora de HNE *in vitro*

Materiales y reguladores

La elastasa de neutrófilos humanos (número de catálogo
 15 SE563) se compra de Elastin Products Company, Inc. (EPC,
 Owensville, EUA). El polvo seco (pureza >95 por ciento según el
 proveedor) se disuelve en 20 mM de regulador de acetato de sodio,
 pH 5.0, 50 por ciento (volumen/volumen) glicerol, y se congela a –
 80°C en alícuotas.

20 El sustrato desviado con fluorescencia (DABCYL-Ser-Glu-
 Val^Asn-Leu-Asp-Ala-Glu-Phe-EDANS, en donde ^ indica el enlace
 escindible, identificado por análisis MS) fue comprada en Bachem
 AG (Bubendorf, Suiza), y se mantuvo en una solución de caldo de 5
 mM en DMSO a -20°C. Todos los demás productos químicos fueron
 25 de grado analítico.

Las reacciones enzimáticas se llevaron a cabo en 100 mM de regulador Tris/HCl a pH 7.5, que contenía 500 mM NaCl, y 0.05 por ciento (peso/volumen) de CHAPS.

5 Todas las soluciones que contenían proteínas y péptidos se manejaron en tubos siliconizados (Life Systems Design, Merenschwand, Suiza).

Las soluciones de compuestos así como las soluciones de enzimas y sustratos se transfirieron a placas de 384 pozos (Cliniplate negro; número de catálogo 95040020 Labsystems Oy, 10 Finlandia) por medio de un pipetor de 96 canales CyBi-Well (CyBio AG, Jena, Alemania).

Instrumentación para las mediciones de FI

Para las mediciones de la intensidad de fluorescencia (FI) se usó un lector Ultra Evolution (TECAN, Maennedorf, Suiza). El 15 instrumento se ha equipado con una combinación de 350 nm (20 nm de anchura de banda) y un filtro de paso de banda de 500 nm (25 nm de anchura de banda) para la excitación de fluorescencia y la adquisición de la emisión, respectivamente. Para aumentar la proporción señal: fondo, se emplea un espejo dicróico apropiado. 20 Los filtros ópticos y el espejo dicróico se compran en TECAN. Los fluoróforos en cada pozo se excitan mediante tres destellos por medición.

Los depsipéptidos cíclicos inhibieron la elastasa de neutrófilos humanos con los valores IC₅₀ como se indica en la Tabla 11.

25 Además los depsipéptidos cíclicos inhibieron la quimotripsina

humana con un IC₅₀ variante de 0.001 μ M hasta 0.02 μ M.

La actividad biológica del depsipéptido cíclico de acuerdo con la fórmula (VIII) se determinó con calicreína 7. Este depsipéptido cíclico de la invención inhibe la calicreína humana 7 con un IC₅₀ menor de 3 nM. Este depsipéptido cíclico inhibió la quimotripsina humana y la elastasa de neutrófilos humanos con un IC₅₀ alrededor de 0.004 μ M y alrededor de 0.0025 μ M, respectivamente.

Ejemplo 3: Determinación de la actividad inhibidora de calicreína 7 en vivo

A) Prueba en recuperación de la interrupción de la barrera de la piel en ratones.

Método: La interrupción de la barrera de la piel se logra en grupos de ratones SKH1 sin pelo con peladura repetida de la piel con discos de muestra de piel S-Sqame[®]. El procedimiento se completó cuando se logró la pérdida de agua transepidérmica (TEWL) $\geq$ 40 miligramos/centímetro cuadrado/hora. La TEWL fue valorada con un Tewameter TM210 (Courage Khazaka, Cologne, DE). Inmediatamente después de la interrupción de barrera, 30 microlitros del compuesto de prueba se aplicó a una concentración de 10 mM. Los animales de control fueron tratados igualmente con el solvente (etanol/propilenglicol, 3/7 (volumen/volumen)) solo. La TEWL se midió antes, inmediatamente después y 3 horas después de la interrupción de barrera. En cada animal, la recuperación porcentual se calculó usando la fórmula: $(1 - [\text{TEWL a las 3 horas} - \text{línea base TEWL}] / [\text{TEWL inmediatamente después del pelado} - \text{línea base$

TEWL]) x 100%.

Resultados:

Una sola aplicación del compuesto de prueba (el depsipéptido
5 cíclico de acuerdo con la fórmula II) aceleró la reparación de barrera
en un 57 por ciento en comparación con la reparación en los ratones
tratados con el solvente solamente ($p < 0.05$), Tabla 12.

Tabla 12

10	Animales	% recuperación en interrupción de barrera Media (valores DE), n: 4 animales por grupo)
15	Tratado con compuesto de prueba (el depsipéptido cíclico de acuerdo con la fórmula II) a 10 mM	72.0 (9.1)
	Tratado con solvente solo	45.8 (8.0)

20 B) Pruebas sobre la actividad anti-inflamatoria en modelo murino de
dermatitis alérgica de contacto (ACD).

Métodos: Ratones Crl: NMRI se sensibilizaron sobre el
abdomen rasurado con 50 microlitros del 2 por ciento de oxazolona
el día 1 y se estimularon con 10 microlitros de oxazolona sobre la
25 superficie interna de la oreja derecha en el día 8. Las orejas

izquierdas en cambio sirvieron como controles normales y se evaluó la dermatitis de la diferencia en el peso auricular (tomado como una medida de la hinchazón inflamatoria) en el día 9. Los animales fueron tratados tópicamente con 10 microlitros del compuesto de prueba o del solvente solamente 30 minutos después del estímulo. La eficacia del tratamiento se calculó como la inhibición porcentual de la hinchazón auricular inflamatoria relativa a los animales tratados con el vehículo solamente.

Resultados: Una sola aplicación del compuesto de prueba (el depsipéptido cíclico de acuerdo con la fórmula II) inhibió la hinchazón inflamatoria en ACD en el 40 por ciento a 10 mM) y por 46 por ciento a 30 mM de concentración ($p < 0.001$ contra los animales tratados con solvente (Tabla 13/14).

Tabla 13

Animales	Δ Pesos auriculares Media (DE), n: 8 animales por grupo	% Inhibición de hinchazón inflamatoria Media ± DE
Tratado con compuesto de prueba (el depsipéptido cíclico de acuerdo con la fórmula II) a 30 mM	15.3 (5.4)	46 ± 7.5

5	Animales	Δ Pesos auriculares Media (DE), n: 8 animales por grupo	% Inhibición de hinchazón inflamatoria Media $\pm$ DE
10	Tratado con compuesto de prueba (el depsipéptido cíclico de acuerdo con la fórmula II) a 10 mM	17.0 (4.8)	40 $\pm$ 6.9
	Tratado con solvente+ solo	28.1 (4.6)	-

+: Mezcla de dimetilacetamida/etanol/acetona (1/2/2)

Tabla 14

15		% Inhibición de hinchazón inflamatoria	% Inhibición de hinchazón inflamatoria
20		Concentración del compuesto de prueba	Concentración del compuesto de prueba
25	Compuesto de acuerdo con la fórmula	30 mM	10 mM

		% Inhibición de hinchazón inflamatoria	% Inhibición de hinchazón inflamatoria
5		Concentración del compuesto de prueba	Concentración del compuesto de prueba
	ejemplo 9	38	42
10	ejemplo 10	25	22
	ejemplo 23	40	48
	ejemplo 25	38	39
15	ejemplo 43	55	42

C) Prueba sobre la actividad antiinflamatoria en el modelo de cerdo de dermatitis alérgica de contacto (ACD)

Ocho días antes de la provocación de la ACD, 500 microlitros de 10 por ciento de 2,4-dinitrofluorobenceno (DNFB, disuelto en DMSO/acetona/aceite de oliva [1/5/3, v/v/v]) se aplicaron epicutáneamente en volúmenes divididos sobre la base de ambas orejas y sobre ambas ingles (100 microlitros/sitio) para sensibilización. Las reacciones de estímulo fueron provocadas con 15 microlitros de DNFB (1.0 por ciento) en sitios de prueba

contralateral (cada uno de un 7 centímetros cuadrados) del lomo dorsolateral rasurado. Para el tratamiento, el compuesto de prueba y el placebo (solvente solamente) se aplicaron contralateralmente en 2 sitios de prueba en cada animal 0.5 y 6 horas después del estímulo. Los sitios de prueba se examinaron clínicamente 24 horas después del estímulo cuando la inflamación alcanzó su máximo. Los cambios se calificaron en una escala del 0 al 4 (Tabla 15), permitiendo una calificación máxima combinada de 12 por sitio designado. El enrojecimiento de la piel se midió reflectométricamente usando valores a^* .

Tabla 15: Calificación de signos clínicos de los sitios de prueba afectados con ACD

Calificación	Eritema/ intensidad	Eritema/ extensión	Induración
0	Ausente	Ausente	Ausente
1	Difícilmente visible	Pequeños puntos	difícilmente palpable
2	Regular	Grandes manchas	Endurecimiento ligero
3	Pronunciado	Confluente	Endurecimiento pronunciado
4	Severo (o	Enrojecimiento	Endurecimiento

5

Califi- cación	Eritema/ intensidad	Eritema/ extensión	Induración
	descoloramiento lívido)	homogéneo	pronunciado y elevado

Resultados: El tratamiento de los sitios de prueba afectados con ACD dos veces con una solución al 1 por ciento del compuesto de prueba (el depsipéptido cíclico de acuerdo con la fórmula II) inhibió los cambios inflamatorios clínicos en 30 por ciento ($p < 0.01$) y medida el enrojecimiento de la piel en 27 por ciento ($p < 0.05$) (Tabla 16).

Tabla 16

15

20

25

Sitios de prueba	Calificación clínica (Media, DE, n: 8+)	Valor A* (Media, DE, n: 8+)
Tratado con 1% de compuesto de prueba (el depsipéptido cíclico de acuerdo con la fórmula II)	5.1 (1.7)	8.6 (1.4)

	Sitios de prueba	Calificación clínica (Media, DE, n: 8+)	Valor A* (Media, DE, n: 8+)
5	Tratado con placebo (solvente)	7.2 (1.9)	12.0 (2.5)
10	Inhibición contra sitios tratados con placebo	29.9 (11.7)	27.0 (2.5)

+: 2 sitios de prueba en cada 4 animales.

Ejemplo 4: Derivación del depsipéptido cíclico de la invención

15 a) Procedimiento de un solo paso: A una solución de 20 miligramos de depsipéptido cíclico de acuerdo con la fórmula (II) y 0.027 mililitros de trietilsilano en 2 mililitros de diclorometano/acetonitrilo (1:1) a -50 °C 0.014 mililitros de eterato de trifluoruro de boro se añadieron lentamente. La mezcla de la

20 reacción se dejó calentarse hasta -5°C y se mantuvo a esa temperatura durante 30 minutos adicionales. Se vertió en una solución de NaHCO₃ saturada, y se extrajo con EtOAc. La capa orgánica se secó sobre sulfato de sodio y el solvente se removió al vacío. La purificación del residuo obtenido mediante HPLC (XTerra

25 [5 centímetros]; regulador acetonitrilo/carbonato de amonio pH 10

gradiente) proporciona 9.8 miligramos de un derivado del depsipéptido cíclico de acuerdo con la fórmula (II) en donde Ahp se ha convertido en 3-amino-piperidin-2-ona. ESI MS: 935.36 [M+Na]⁺.

b) Procedimiento de dos pasos: A una solución de 1 gramo de
5 depsipéptido cíclico de acuerdo con la fórmula (II) en 300 mililitros de diclorometano/acetonitrilo (1:1) a -50 °C se añadió lentamente 0.68 mililitros de eterato de trifluoruro de boro. La mezcla de la reacción se dejó calentarse hasta -20°C. Luego lentamente se añadieron 0.68 mililitros de eterato de trifluoruro de boro, la mezcla
10 de la reacción se mantuvo a esa temperatura hasta que no se pudo observar más material inicial (HPLC). Luego, la mezcla de la reacción se vertió en una solución de NaHCO₃ saturada, y se extrajo con EtOAc. La capa orgánica se secó sobre sulfato de sodio y el solvente se removió al vacío proporcionando un derivado del
15 depsipéptido cíclico de acuerdo con la fórmula (II) en donde Ahp se ha convertido en 3-amino-3,4-dihidro-1H-piridin-2-ona. ESI MS: 933.28 [M+Na]⁺.

El material crudo se disolvió en 400 mililitros de 2-propanol, 115 miligramos de Pd/C (10 por ciento) se añadieron y la mezcla se
20 hidrogenó bajo presión atmosférica hasta que el material inicial fue consumido (HPLC). El residuo obtenido se purificó mediante cromatografía (SiO₂; cHex/EtOAc (1:1) + 10 % MeOH) proporcionando 684 miligramos del depsipéptido cíclico de acuerdo con la fórmula (II) en donde Ahp se ha convertido en 3-amino-
25 piperidin-2-ona.

Ejemplo 5: Derivación de un depsipéptido cíclico de la invención

A una solución de 75 miligramo (0.081 mmol) del depsipéptido cíclico de acuerdo con la fórmula (II) en 5 mililitros de 1-PrOH 30 microlitros de ácido sulfúrico se añadieron y la mezcla de la reacción se agitó a temperatura ambiente durante 48 horas. Para preparar la mezcla de la reacción se diluyó con diclorometano y se lavó con una solución de bicarbonato saturada. Después de secar la capa orgánica sobre sulfato de sodio, el solvente se removió y el residuo obtenido se purificó mediante cromatografía sobre gel de (cHex/EtOAc (1:1) + 10% MeOH). Rendimiento: 65 miligramos (83 por ciento) de un derivado del depsipéptido cíclico de acuerdo con la fórmula (II) en donde Ahp se ha convertido en 3-amino-6-propoxi-piperidin-2-ona. ESI MS: 993.37 [M+Na]⁺.

De manera semejante, el tratamiento con el alcohol correspondientes proporcionó los siguientes compuestos:

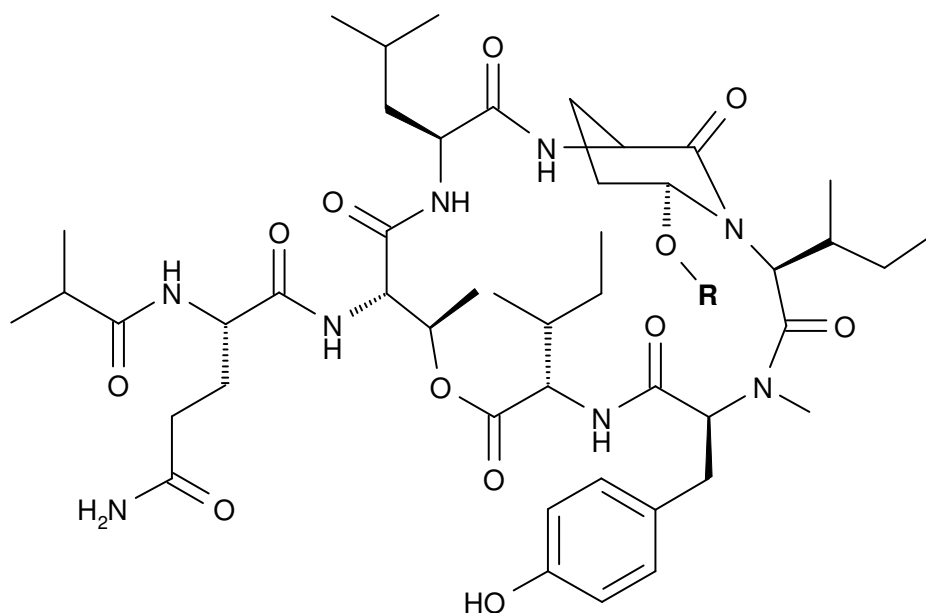
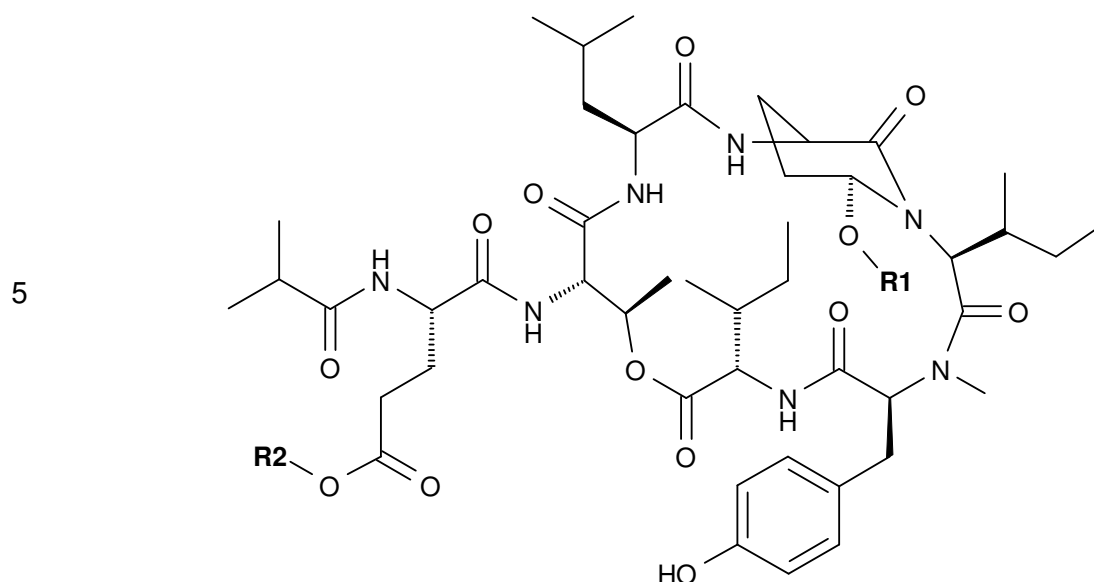


Tabla 17

	Ejemplo	R	ESI MS [M+Na]⁺
	6	1-octilo	1063.41
5	7	2,2,2-trifluoroetilo	1033.30
	8	2-propilo	993.43
	9	bencilo	1041.16
10	10	etilo	979.22
	11	1-butilo	1007.29
	12	isobutilo	1007.35
	13	2-metoxietilo	1009.31
15	14	2-hidroxietilo	995.28
	15	2-(2-hidroxietoxil)etilo	1039.31
	16	2-(2-metoxietoxi)etilo	1053.33
20	17	metilo	965.27
	18	Propargilo	989.21

Simultáneamente, los compuestos del siguiente tipo se
 25 obtuvieron bajo las mismas condiciones:



10 **Tabla 18**

Ejemplo	R1, R2	ESI MS [M+Na] ⁺
19	1-propilo	1136.33
20	Metilo	980.21

15

Ejemplo 21: Derivación de un depsipéptido cíclico de la invención

20 Una solución de 25 miligramos (0.027 mmol) de depsipéptido cíclico de acuerdo con la fórmula (II) en 2 mililitros de diclorometano se enfrió a 0 °C. Después se añadieron DIPEA y anhídrido de ácido trifluoroacético (TFAA). La mezcla de la reacción se calentó lentamente hasta la temperatura ambiente y se agitó durante 4 horas

25 adicionales. Para preparar la mezcla de la reacción se diluyó con

diclorometano y se lavó con ácido clorhídrico y una solución de bicarbonato saturada. Después de secar sobre sulfato de sodio, el solvente se removió y el residuo obtenido se purificó mediante cromatografía sobre gel de sílice (cHex/EtOAc (1:1) + 10 por ciento MeOH). Producción: 14 miligramos (57 por ciento) de un derivado del depsipéptido cíclico de acuerdo con la fórmula (II) en donde la amida y la cadena lateral de A1 se ha convertido en un nitrilo. ESI MS: 933.30 $[M+Na]^+$.

Similarmente, los compuestos del siguiente tipo se obtuvieron:

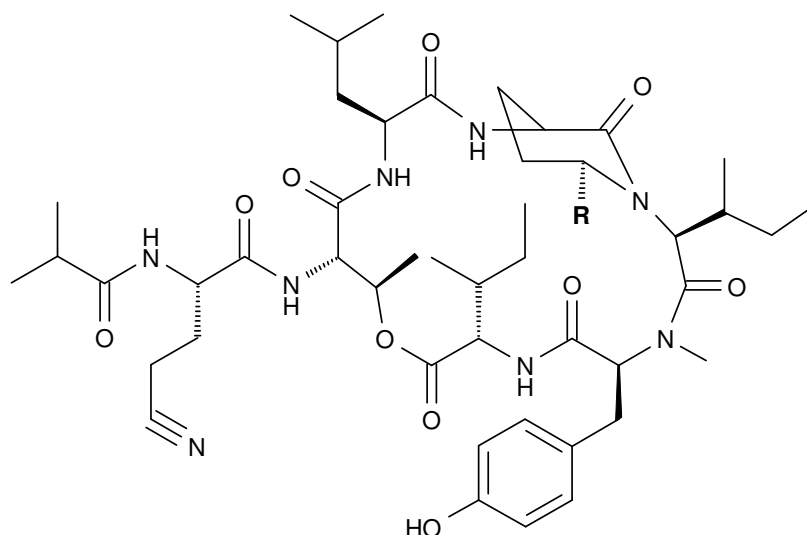


Tabla 19

Ejemplo	R	ESI MS $[M+Na]^+$
22	H	917.30
23	Etilo	961.20

5

Ejemplo	R	ESI MS [M+Na] ⁺
24	1-propilo	975.29
25	Bencilo	1023.14

Ejemplo 26: Derivación de un depsipéptido cíclico de la invención

10 Una solución de 25 miligramos (0.027 mmol) de un depsipéptido cíclico de acuerdo con la fórmula (II) en 2 mililitros de diclorometano (MC) se enfrió a 0°C. Después 24 microlitros de DIPEA y 14 microlitros de cloroformato de hexilo se añadieron lentamente. La mezcla de la reacción se dejó calentarse a

15 temperatura ambiente y se agitó durante 4 horas adicionales. Para preparar la mezcla de la reacción se diluyó con diclorometano y se lavó con ácido clorhídrico y una solución de bicarbonato saturada, y salmuera. Después de secarse sobre sulfato de sodio, el solvente se removió y el residuo obtenido se purificó mediante cromatografía

20 sobre gel de sílice (cHex/EtOAc (1:1) + 10 por ciento MeOH). Producción: 20 miligramos (70 por ciento) de un derivado del depsipéptido cíclico de acuerdo con la fórmula (II) en donde la fracción fenol de A6 se ha transformado en el éster hexílico de ácido carbónico correspondiente. ESI MS: 1079.41 [M+Na]⁺.

25 Análogamente, usando un compuesto descrito en el Ejemplo 4

como material inicial, se obtuvieron los siguientes compuestos:

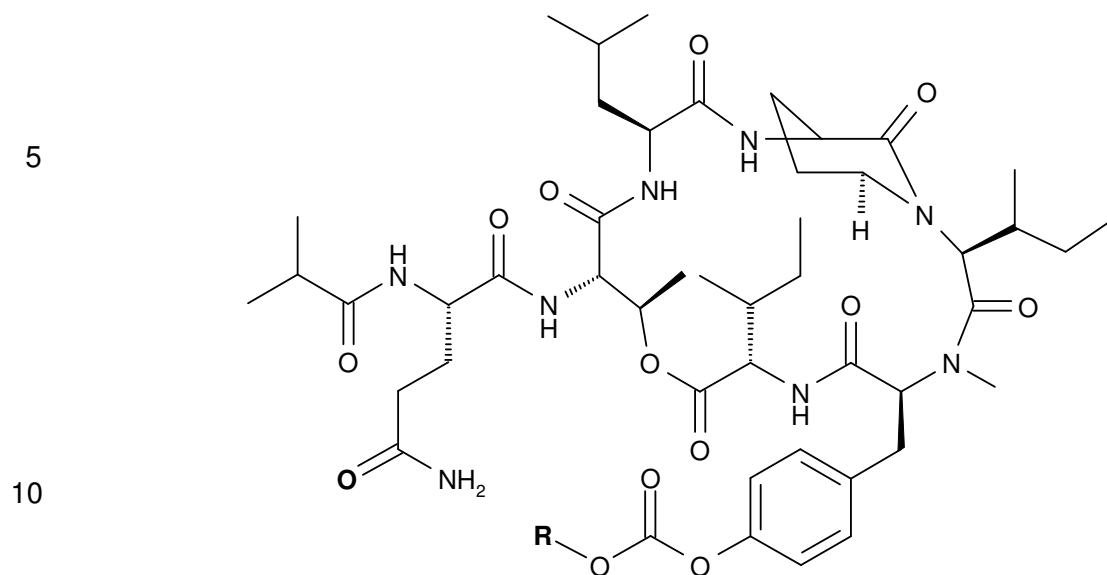
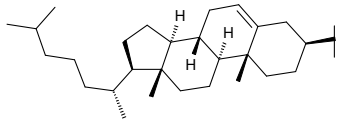


Tabla 20

Ejemplo	R	ESI MS [M+Na] ⁺
27	isobutilo	1035.38
28	2-metoxietilo	1037.36
29	etilo	1007.35
30		1347.63
31	1-octilo	1091.42

Ejemplo 32: Derivación de un depsipéptido cíclico de la invención

A una mezcla de 200 miligramos (0.21 mmol) del depsipéptido cíclico de acuerdo con el Ejemplo 5, 57.5 miligramos (0.41 mmol) de K_2CO_3 en 2 mililitros de acetona seca 60.5 miligramos (0.31 mmol) de bromuro de (E)-3-fenil-2-propenilo se añadieron y se trataron con ultrasonido durante la noche (la temperatura se elevó hasta aproximadamente 50 °C). Para preparar la mezcla de la reacción, se diluyó con diclorometano y se lavó con agua. Después de secar la capa orgánica sobre sulfato de sodio, se removió el solvente y el residuo se obtuvo purificado mediante HPLC (15 centímetros Zorbax; acetonitrilo/Regulador NH_4OAc acuoso: 20→95por ciento). Producción: 100 miligramos (45 por ciento) de un derivado de depsipéptido cíclico de acuerdo con el Ejemplo 5 presentando O-((E)-3-fenil-2-propen-1-il)-L-tirosina en A6. ESI MS: 1109.37 $[M+Na]^+$.

Análogamente, el tratamiento de los depsipéptidos cíclicos de acuerdo con el Ejemplo 4 ó 5, con el agente alquilante apropiado, proporciona los siguientes compuestos:

20

25

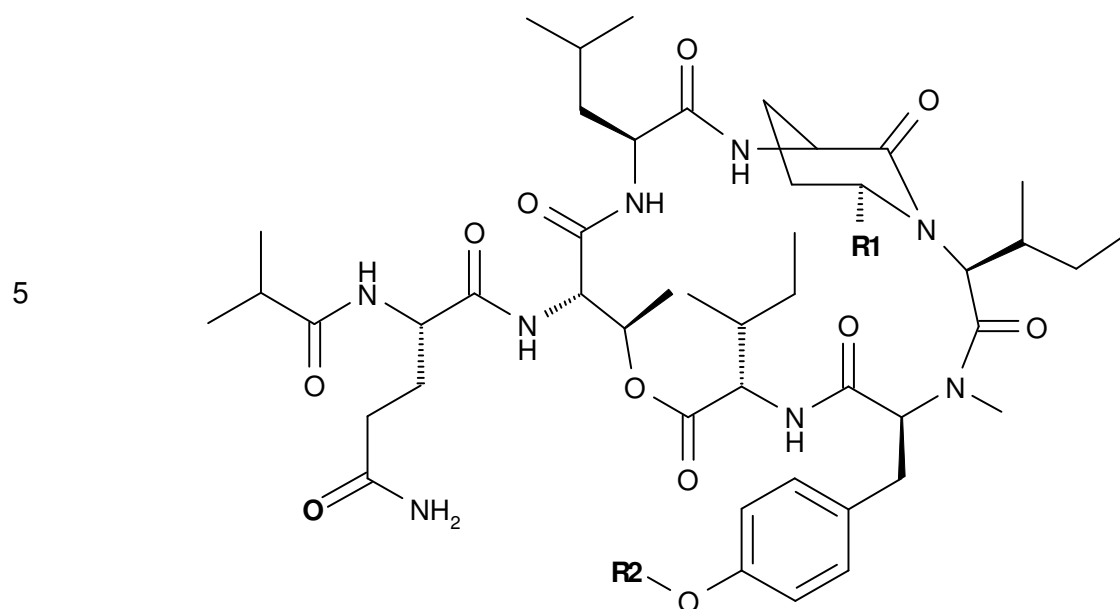


Tabla 21

Ejemplo	R1	R2	ESI MS [M+Na] ⁺
33	H	t-butoxicarbonilmetilo	1049.33
34	Propoxi	t-butoxicarbonilmetilo	1107.33
35	Propoxi	1-(E)-pent-2-enilo	1061.36
36	Propoxi	1-(E)-4,4,4-trifluoro-but-2-enilo	1101.25
37	Propoxi	metilo	1007.29
38	propoxi	3-metil-but-2-enilo	1061.36
39	Propoxi	Bencilo	1083.38

5

Ejemplo	R1	R2	ESI MS [M+Na] ⁺
40	Propoxi	Alilo	1033.37
41	Propoxi	Propargilo	1031.25

Ejemplo 42: Derivación de un depsipéptido cíclico de la invención

A una mezcla de 200 miligramos (0.21 mmol) de depsipéptido cíclico de acuerdo con el Ejemplo 5, se añadieron 46.5 miligramos (0.31 mmol) de yoduro de sodio, y 57.5 miligramos (0.41 mmol) de K₂CO₃ en 2 mililitros de acetona seca 44 miligramos (0.31 mmol) de 3-(clorometil)-1,5-dimetil-1H-pirazol y se trataron con ultrasonido durante la noche (la temperatura se eleva a aproximadamente 50°C).

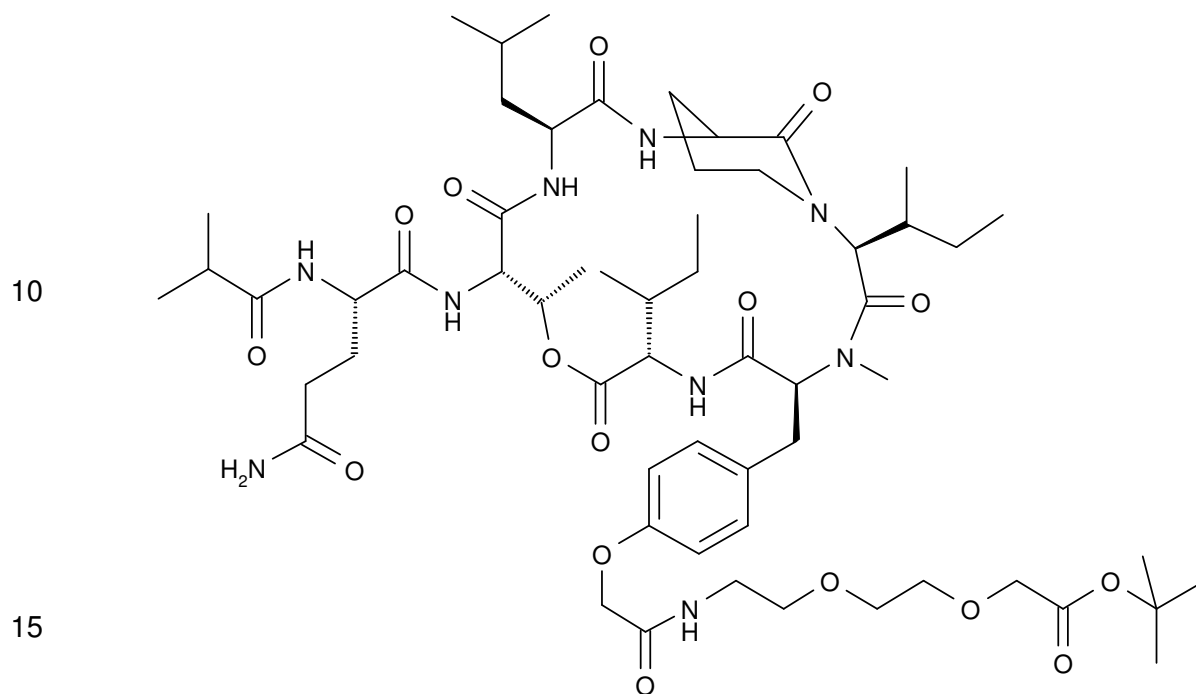
Para preparar la mezcla de la reacción, se diluyó con diclorometano y se lavó con agua. Después de secar la capa orgánica sobre sulfato de sodio, el solvente se removió y el residuo obtenido se purificó mediante HPLC (15 centímetros de Zorbax; acetonitrilo/regulador NH₄OAc acuoso: 20→95por ciento). Producción: 90 miligramos (40.5 por ciento) de un derivado de depsipéptido cíclico de acuerdo con el Ejemplo 5 presentando O-(1,5-dimetil-1H-pirazol-3-il)metil-L-tirosina en A6. ESI MS: 1101.39 [M+Na]⁺.

Ejemplo 43:

Análogamente, el tratamiento del depsipéptido cíclico del depsipéptido cíclico de acuerdo con la fórmula (II) con 3-(clorometil)-

1,5-dimetil-1H-pirazol proporciona un compuesto que presenta O-(1,5-dimetil-1H-pirazol-3-il)metil-L-tirosina en A6. ESI MS: 1059.19 [M+Na]⁺.

Ejemplo 44: Derivación de un depsipéptido cíclico de la invención



A una solución de 17 miligramos (0.0165 mmol) de depsipéptido cíclico de acuerdo con el Ejemplo 33 en 2 mililitros de diclorometano, se añadieron 845 microlitros de ácido trifluoroacético y se agitó a temperatura ambiente durante 4 horas. La mezcla de la reacción se diluyó con tolueno y el solvente se removió al vacío proporcionando 22.5 miligramos del ácido crudo correspondiente.

20 miligramos del ácido antes mencionado, 6.81 miligramos (0.031 mmol) de ter-butiléster del ácido 8-amino-3,6-dioxaoctanoico, y 15.8 miligramos (0.041 mmol) de HATU se disolvieron en 2

mililitros de DMF seco y 11 microlitros de DIEPA se añadieron y se agitaron a temperatura ambiente durante la noche. Para preparación, la mezcla de la reacción se diluyó con EtOAc y se lavó con soluciones NaHSO_4 saturada y NaHCO_3 y salmuera. Después de
 5 secar la capa orgánica sobre sulfato de sodio, el solvente se removió y el residuo obtenido se purificó mediante HPLC (15 centímetros de Zorbax; acetonitrilo/regulador NH_4OAc acuoso: 20→95 por ciento). Producción: 7 miligramos (29 por ciento) del compuesto del título. ESI MS: 1194.32 $[\text{M}+\text{Na}]^+$.

10 Ter-butiléster de ácido 8-amino-3,6-dioxaoctanoico

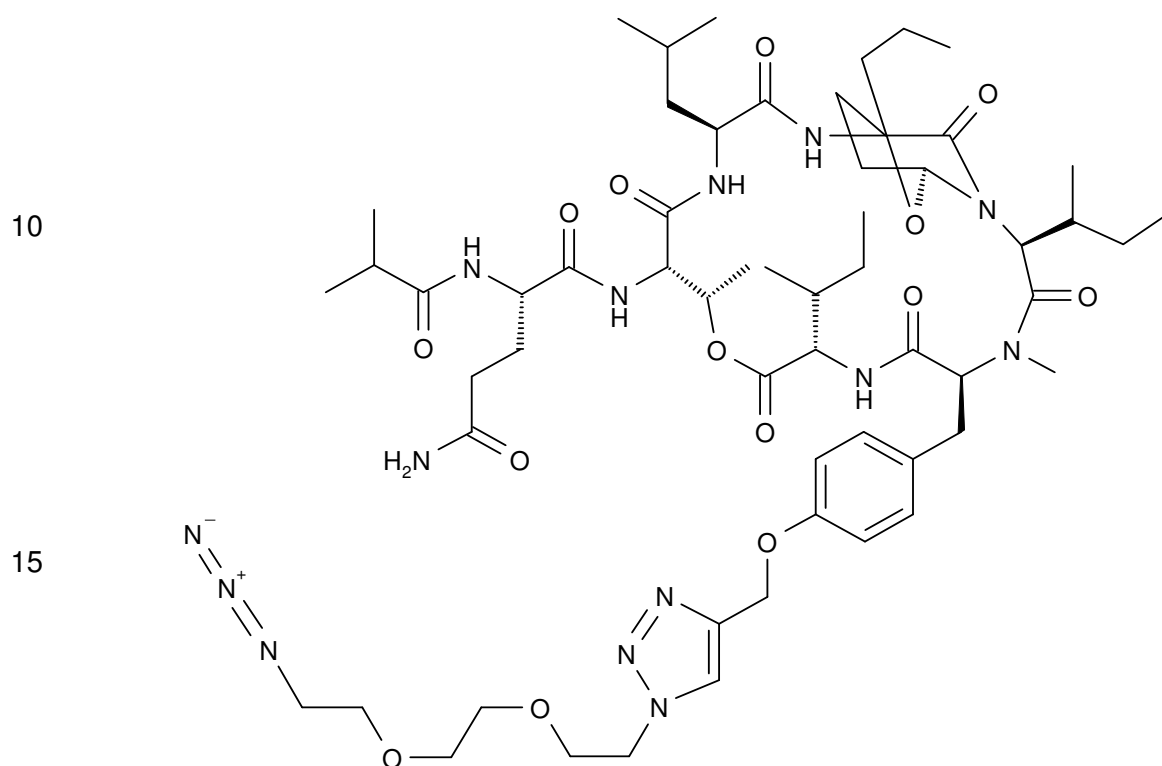
100 miligramos (0.226 mmol) de ter-butiléster del ácido 8-(9-fluorenilmtoxycarbonilamino)-3,6-dioxaoctanoico en 1 mililitro de DMF seco se trataron con piperidina (89.5 microlitros; 0.862 mmol) a temperatura ambiente durante 3 horas. El solvente se evaporó y el
 15 residuo se purificó mediante cromatografía sobre gel de sílice con un gradiente $\text{cHex} \rightarrow \text{EtOAc} \rightarrow \text{EtOAc/MeOH}(1:1) + 3$ por ciento MeOH. Producción: 12 miligramos (24 por ciento) del compuesto del título. ESI MS: 220.08 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

20 Ter-butiléster de ácido 8-(9-fluorenilmtoxycarbonilamino)-3,6-dioxaoctanoico

Una solución de 150 miligramos (0.389 mmol) del ácido 8-(9-fluorenilmtoxycarbonilamino)-3,6-dioxaoctanoico, 546 miligramos (9.73 mmol) isobutileno, y 4.3 microlitros de 95-98 por ciento de H_2SO_4 se agitó a temperatura ambiente durante 3 días. Para
 25 preparar la solución de la reacción, se diluyó con diclorometano y se

lavó con solución de bicarbonato saturada. Después de secarse sobre sulfato de sodio, el solvente se removi6 y el residuo obtenido se purific6 mediante cromatografía en gel de sílice con gradiente cHex/EtOAc proporcionando 145 miligramos (84.4 por ciento) del compuesto del título. ESI MS: 464.12 [M+Na]⁺.

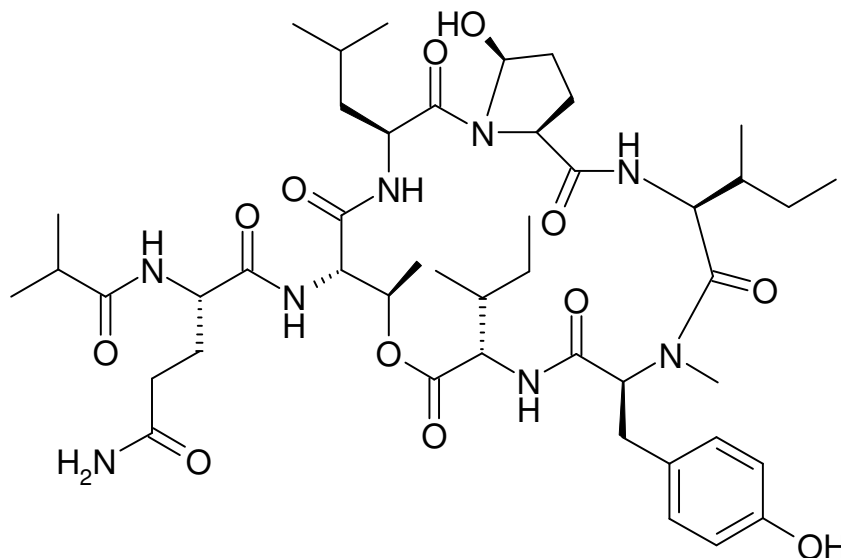
Ejemplo 45: Derivación del depsipéptido cíclico de la invención



A una mezcla de 101 miligramos (0.1 mmol) de un compuesto del Ejemplo 41 y 40 miligramos CuI en 11 mililitros de tolueno/DMF (10:1) 50 litros de DIEPA y 1 mililitro de una solución de 1M de 1-azido-2-[2-(2-azido-etoxi)-etoxi]-etano se ańadi6 y se agitó a 45°C durante 6 horas. Luego la mezcla de la reacción se lav6 con una solución de NaH₂PO₄ saturada, se sec6 sobre sulfato de sodio, y el solvente se evapor6. El residuo obtenido se purific6 mediante

cromatografía (SiO₂; cHex/EtOAc (1:1) + 20 por ciento MeOH) proporcionando 14 miligramos (11.7 por ciento) del compuesto del título. ESI MS: 1231.34 [M+Na]⁺.

Ejemplo 46: Derivación de un depsipéptido cíclico de la invención

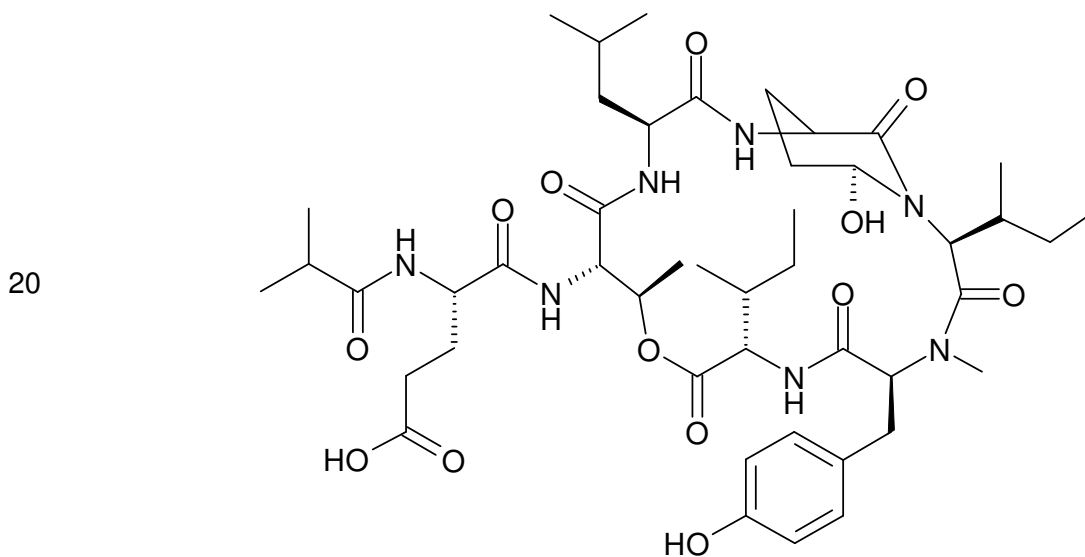


Una solución de 25 miligramos de depsipéptido de acuerdo con la fórmula (II) en 25 mililitro de agua se agitó a temperatura ambiente. En esta solución, se observó un pico adicional en el análisis HPLC, el cual forma un equilibrio con el depsipéptido de acuerdo con la fórmula (II). Después de 20 días, la solución se secó usando liofilización y el pico adicional se aisló usando cromatografía en fase inversa como se describe en el Ejemplo 1. Esto proporcionó 0.75 miligramos de depsipéptido cíclico de acuerdo con el Ejemplo 46, en donde Ahp se ha convertido en 5-hidroxiprolina.

ESI-MS: modo positivo: m/z = 951.5 (M+Na), modo negativo: m/z = 927.4 (M-H); MW monoisotópico 928.5, C₄₆H₇₂N₈O₁₂

RMN ^1H (600 MHz) $\text{d}_6\text{-DMSO}$ δ : 0.00 (1H, m), 0.50 (3H, t, J = 7.3 Hz), 0.71 (3H, m), 0.76 (3H, t, J = 7.0 Hz), 0.76 (3H, d, J = 7.3 Hz), 0.85 (6H, d, J = 6.6 Hz), 0.88 (1H, m), 1.00 (1H, m), 1.03 (3H, d, J = 6.6 Hz), 1.06 (6H, d, J = 6.6 Hz), 1.10 (1H, m), 1.16 (1H, m), 1.26 (1H, m), 1.36 (1H, m), 1.43 (1H, m), 1.51 (2H, m), 1.79 (1H, m), 1.83 (1H, m), 1.97 (1H, m), 1.99 (1H, m), 2.17 (2H, t, J = 7.7 Hz), 2.39 (1H, m), 2.48 (1H, m), 2.67 (3H, s), 2.78 (1H, m), 3.43 (1H, m), 4.32 (1H, m), 4.33 (1H, m), 4.45 (1H, m), 4.48 (1H, m), 4.58 (1H, m), 4.61 (1H, m), 4.67 (1H, m), 5.09 (1H, m), 5.47 (1H, m), 6.66 (2H, d, J = 8.1 Hz), 6.74 (1H, s, amplio), 7.03 (2H, d, J = 8.1 Hz), 7.31 (1H, s, amplio), 7.33 (1H, d, J = 9.5 Hz), 8.04 (1H, d, J = 9.5 Hz), 8.17 (1H, d, J = 8.1 Hz), 8.23 (1H, d, J = 2.9 Hz), 8.43 (1H, d, J = 9.5 Hz), 9.25 (1H, s, amplio), (grupo OH de hidroxiprolina no visible).

Ejemplo 47: Derivación de un depsipéptido cíclico de la invención



Una solución de 25 miligramos de depsipéptido de acuerdo con

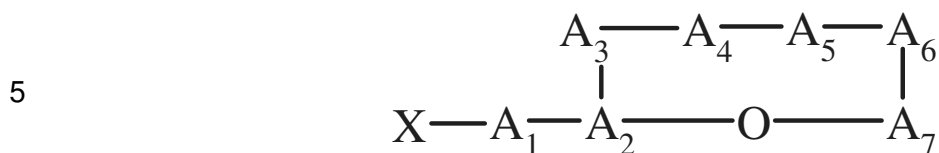
la fórmula (II) en 25 mililitro 0.5 N HCl se agitó a 50°C durante 24 horas. Para separar el pH de la mezcla de la reacción, se ajustó a pH 7 con 5 N de NaOH y se extrajo con acetato de etilo. La capa orgánica se secó sobre sulfato de sodio y el solvente se removió al vacío. El residuo obtenido se purificó mediante cromatografía en fase inversa (las mismas condiciones como se describen en el Ejemplo 1) proporcionando 17 miligramos de depsipéptido cíclico de acuerdo con el Ejemplo 47, en donde la glutamina en A1 se ha reemplazado por ácido glutámico.

ESI-MS: modo positivo: $m/z = 952.8$ ($M+Na$), modo positivo: $m/z = 928.5$ ($M-H$); MW monoisotópico 929.5, $C_{46}H_{71}N_7O_{13}$

RMN 1H (600 MHz, d_6 -DMSO) δ : -0.11 (3H, d, $J = 6.6$ Hz), 0.64 (4H, m), 0.77 (3H, d, $J = 6.6$ Hz), 0.81 (3H, t, $J = 7.3$ Hz), 0.84 (3H, d, $J = 6.6$ Hz), 0.88 (3H, d, $J = 6.6$ Hz), 1.02 (6H, m), 1.05 (1H, m), 1.10 (1H, m), 1.19 (3H, d, $J = 5.9$ Hz), 1.24 (1H, m), 1.40 (1H, m), 1.51 (1H, m), 1.75 (1H, m), 1.78 (5H, m), 1.85 (2H, m), 2.10 (2H, m), 2.45 (1H, m), 2.60 (1H, m), 2.67 (1H, m), 2.71 (3H, s), 3.20 (1H, m), 4.28 (1H, m), 4.29 (1H, m), 4.44 (2H, m), 4.63 (1H, d, $J = 9.5$ Hz), 4.69 (1H, m), 4.93 (1H, m), 5.04 (1H, m), 5.47 (1H, m), 6.24 (1H, s, amplio), 6.64 (2H, d, $J = 8.8$), 6.99 (2H, d, $J = 8.8$ Hz), 7.37 (1H, d, $J = 9.5$ Hz), 7.69 (1H, d, $J = 9.5$ Hz), 7.80 (1H, d, $J = 9.5$ Hz), 8.51 (1H, d, $J = 8.8$ Hz), 8.57 (1H, d, $J = 5.1$ Hz), grupo OH de tirosina y ácido glutámico no visible).

La presente invención también proporciona:

1. Un depsipéptido cíclico, o un derivado del mismo, que tiene la estructura de la fórmula (I):



en donde se forma un enlace éster entre un grupo carboxilo de A7 y un grupo hidroxilo de A2,

10 en donde X y A₁ cada uno independientemente es opcional,

y en donde

X es cualquier residuo químico,

A₁ es un aminoácido estándar que no es ácido aspártico;

A₂ es treonina o serina,

15 A₃ es un aminoácido estándar no básico o un derivado no básico del mismo,

A₄ es Ahp, deshidro-AHP, prolina, o un derivado de los mismos

A5 es isoleucina o valina,

20 A6 es tirosina o un derivado de la misma,

A7 es leucina, isoleucina o valina,

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

2. El depsipéptido cíclico, o un derivado del mismo, de la reivindicación 1 en donde el átomo de nitrógeno del enlace amida
25 entre A5 y A6 se sustituye con un metilo.

3. El depsipéptido cíclico, o derivado del mismo, de cualquiera de las reivindicaciones 1 o 2 en donde X es H o un residuo acilo.

4. El depsipéptido, o un derivado del mismo, de cualquiera de las reivindicaciones 1-3 en donde X es $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CO}$, $(\text{CH}_3)_2\text{CHCH}_2\text{CO}$, o $(\text{CH}_3)_2\text{CHCO}$.

5. El depsipéptido cíclico, o un derivado del mismo, de cualquiera de las reivindicaciones de la 1 a la 4, en donde A1 es glutamina.

6. El depsipéptido cíclico, o un derivado del mismo, de cualquiera de las reivindicaciones de la 1 a la 5, en donde A2 es treonina.

7. El depsipéptido cíclico, o un derivado del mismo, de cualquiera de las reivindicaciones de la 1 a la 6, en donde A3 es leucina.

8. El depsipéptido cíclico, o un derivado del mismo, de cualquiera de las reivindicaciones de la 1 a la 7, en donde A6 es tirosina.

9. El depsipéptido cíclico, o un derivado del mismo, de cualquiera de las reivindicaciones de la 1 a la 8, en donde A4 es el derivado de Ahp 3 amino-2-piperidona.

10. El depsipéptido cíclico, o un derivado del mismo, de cualquiera de las reivindicaciones de la 1 a la 4, en donde X es $(\text{CH}_3)_2\text{CHCO}$

A₁ es glutamina,

A₂ es treonina,

A₃ es leucina,

A₄ es AHP, o un derivado del mismo,

A₅ es isoleucina o valina,

5 A₆ es tirosina o un derivado de la misma,

A₇ es isoleucina o valina.

11. El depsipéptido cíclico, o un derivado del mismo, de cualquiera de las reivindicaciones de la 1 a la 4, en donde X es $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CO}$

10 A₁ es glutamina,

A₂ es treonina,

A₃ es leucina,

A₄ es AHP, o un derivado del mismo,

A₅ es isoleucina,

15 A₆ es tirosina o un derivado de la misma,

A₇ es isoleucina.

12. El depsipéptido cíclico, o un derivado del mismo, de cualquiera de las reivindicaciones de la 1 a la 4, en donde X es $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CO}$

20 A₁ es glutamina,

A₂ es treonina,

A₃ es leucina,

A₄ es deshidro-AHP, o un derivado del mismo,

A₅ es isoleucina,

25 A₆ es tirosina o un derivado de la misma,

A7 es isoleucina.

13. El depsipéptido cíclico, o un derivado del mismo, de cualquiera de las reivindicaciones de la 1 a la 4, en donde X es $(\text{CH}_3)_2\text{CHCH}_2\text{CO}$

5

A₁ es glutamina,

A₂ es treonina,

A₃ es leucina,

A₄ es deshidro-AHP, o un derivado del mismo,

A5 es isoleucina,

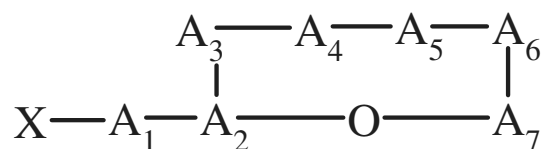
10

A6 es tirosina o un derivado de la misma,

A7 es isoleucina.

14. Un depsipéptido cíclico, o un derivado del mismo, que tiene la estructura de la fórmula (I):

15



en donde se forma un enlace éster entre un grupo carboxilo de A7 y un grupo hidroxilo de A2,

y en donde

20

X es $(\text{CH}_3)_2\text{CHCH}_2\text{CO}$

A₁ es glutamina,

A₂ es treonina,

A₃ es leucina,

A₄ es Ahp o prolina, o un derivado de la misma,

25

A5 es fenilalanina,

- A6 es tirosina o un derivado de la misma,
A7 es valina,
o una sal farmacéuticamente aceptable del depsipéptido
cíclico un derivado del mismo.
- 5 15. El depsipéptido cíclico, o derivado del mismo, de la
reivindicación 14 en donde
- X es $(\text{CH}_3)_2\text{CHCH}_2\text{CO}$
A₁ es glutamina,
A₂ es treonina,
10 A₃ es leucina,
A₄ es Ahp o un derivado del mismo,
A5 es fenilalanina,
A6 es prolina o un derivado de la misma,
A7 es valina.
- 15 16. El depsipéptido cíclico, o derivado del mismo, de la
reivindicación 14 en donde
- X es $(\text{CH}_3)_2\text{CHCH}_2\text{CO}$
A₁ es glutamina,
A₂ es treonina,
20 A₃ es leucina,
A₄ es prolina, o un derivado de la misma,
A5 es fenilalanina,
A6 es tirosina o un derivado de la misma,
A7 es valina.
- 25 17. El depsipéptido cíclico, o un derivado del mismo, de la

reivindicación 14, en donde el átomo de nitrógeno del enlace amida entre A5 y A6 se sustituye con un metilo.

18. El depsipéptido cíclico, o un derivado del mismo, de cualquiera de las reivindicaciones de la 1 a la 17 en donde A1, A2, 5 A3, A5, A6 y A7 son aminoácidos L.

19. El depsipéptido cíclico, o un derivado del mismo, de cualquiera de las reivindicaciones de la 1 a la 18, en donde A4 es 3S,6R Ahp.

20. El depsipéptido cíclico, o un derivado del mismo, de 10 cualquiera de las reivindicaciones de la 1 a la 19 para su uso como un medicamento.

21. El depsipéptido cíclico, o un derivado del mismo, de cualquiera de las reivindicaciones de la 1 a la 21 para uso como un medicamento para el tratamiento del cáncer, en particular cáncer de 15 ovario, o para el tratamiento de enfermedades de la piel inflamatorias y/o hiperproliferativas y pruríticas tales como queloides, escaras hipertróficas, acné, dermatitis atópica, soriasis, soriasis pustular, rosácea, síndrome de Netherton u otras dermatosis pruríticas tales como prurigo nodularis, comezón no especificada de 20 los ancianos así como otras enfermedades con mal funcionamiento de la barrera epitelial tal como piel envejecida, enfermedad inflamatoria del intestino y enfermedad de Crohn, así como pancreatitis, o de cáncer, en particular cáncer de ovario.

22. Una composición farmacéutica que comprende un 25 depsipéptido cíclico, o un derivado del mismo, de cualquiera de las

reivindicaciones de la 1 a la 19.

23. Un método para tratar a un sujeto que padece de enfermedades de la piel inflamatorias y/o hiperproliferativas y pruríticas tales como queloides, escaras hipertróficas, acné, dermatitis atópica, soriasis, soriasis pustular, rosácea, síndrome de Netherton u otras dermatosis pruríticas tales como prurigo nodularis, comezón no especificada de los ancianos así como otras enfermedades con mal funcionamiento de la barrera epitelial tal como piel envejecida, enfermedad inflamatoria del intestino y enfermedad de Crohn, así como pancreatitis, o de cáncer, en particular cáncer de ovario, que comprende administrar al sujeto una cantidad terapéuticamente efectiva de un depsipéptido cíclico, o derivado del mismo de cualquiera de las reivindicaciones de la 1 a la 20.

24. Un proceso para producir el depsipéptido cíclico, o derivado del mismo, de cualquiera de las reivindicaciones de la 1 a la 19 que comprende el cultivo de una cepa de *Chondromyces*, una variante o una mutante de la misma, en un medio conveniente, y opcionalmente la derivación química del depsipéptido cíclico así producido.

25. Un proceso para producir el depsipéptido cíclico, o derivado del mismo, de cualquiera de las reivindicaciones de a 1 a la 19 que comprende expresar los genes de biosíntesis de una cepa de *Chondromyces*, una variante o una mutante de la misma, en una cepa anfitriona microbiana heteróloga, y opcionalmente la derivación

química del depsipéptido cíclico así producido.

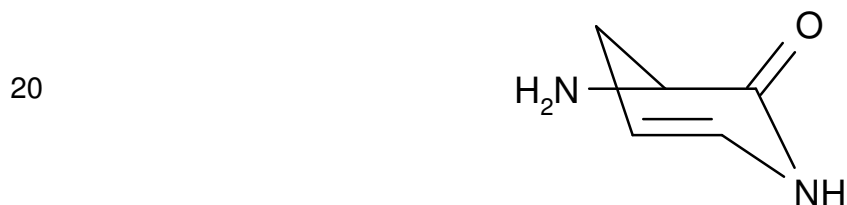
26. El proceso de las reivindicaciones 24 o 25, en donde la cepa es *Chondromyces crocatus* (DSM 19329) o *Chondromyces robustus* (DSM 19330).

5 27. Un microorganismo *Chondromyces* aislado que produce el depsipéptido cíclico, o derivado del mismo, de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 19, depositados bajo el número de acceso DSM 19329 o DSM 19330.

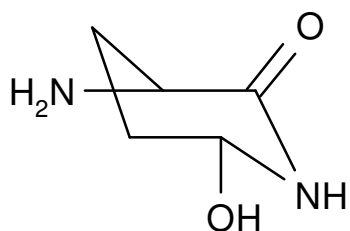
10 28. Un depsipéptido cíclico, o derivado del mismo, producido por el microorganismos *Chondromyces* aislado de la reivindicación 27 u obtenido mediante un proceso de acuerdo con las reivindicaciones de la 24 a la 26.

15 29. Un proceso para la preparación de un derivado de un depsipéptido cíclico, o derivado del mismo, de acuerdo con la reivindicación 1, el cual comprende alternativamente

a) la preparación de un derivado de un depsipéptido cíclico, o derivado del mismo, de acuerdo con la reivindicación 1, en donde A4 es



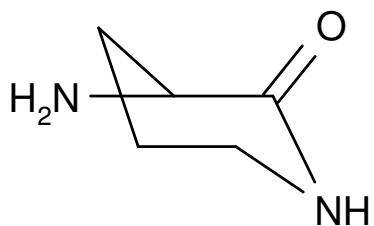
mediante el tratamiento de un compuesto en donde A4 es



5 con un ácido orgánico o inorgánico, o un ácido de Lewis a una temperatura entre -78°C y 150°C;

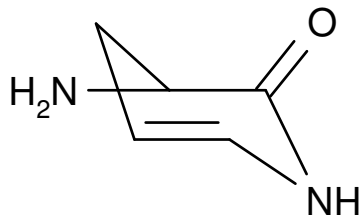
b) la preparación de un derivado de un depsipéptido cíclico, o derivado del mismo, de acuerdo con la reivindicación 1 en donde A4 es

10



mediante el tratamiento de un compuesto en donde A4 es

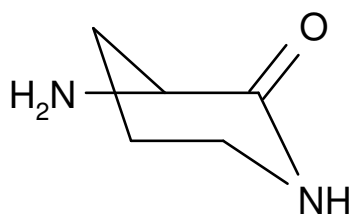
15



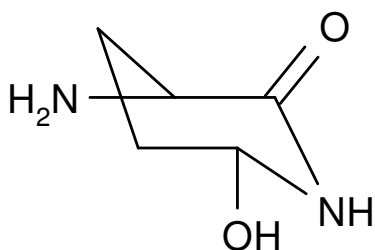
20 con el hidrógeno molecular o fuente del mismo en presencia de un catalizador en un solvente a una temperatura entre -50 y 100°C;

c) la preparación de un derivado de un depsipéptido cíclico, o derivado del mismo, de acuerdo con la reivindicación 1, en donde A4 es

25



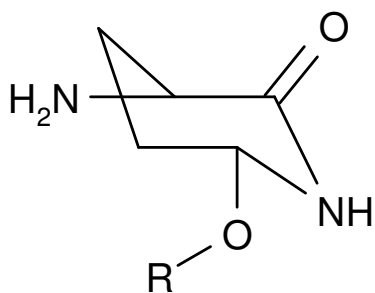
5 mediante el tratamiento de un compuesto, en donde A4
es



10

con un ácido orgánico o inorgánico o un ácido de Lewis,
en presencia de un agente de reducción a una temperatura de entre -
78°C y 150°C; o

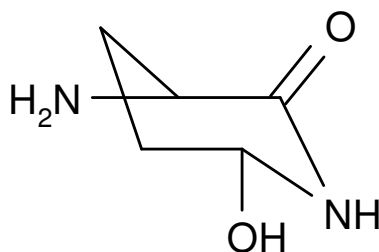
15 d) la preparación de un derivado de un depsipéptido
cíclico, o derivado del mismo, de acuerdo con la reivindicación 1 en
donde A4 es



20

mediante el tratamiento de un compuesto en donde A4 es

25



5

con un alcohol sustituido o no sustituido y un ácido orgánico o inorgánico, o un ácido de Lewis, a una temperatura entre -78 °C y 150 °C.

Referencias

10

[Bode HB, Zeggel B, Silakowski B, Wenzel SC, Reichenbach H, Müller R (2003)] Steroid biosynthesis in prokaryotes: identification of myxobacterial steroids and cloning of the first bacterial 2,3(S)-oxidosqualene cyclase from the myxobacterium *Stigmatella aurantiaca*. Mol Microbiol 47:471-481.

15

[Das SK, Mishra AK, Tindall BJ, Rainey FA, Stackebrandt E (1996)] Oxidation of thiosulfate by a new bacterium, *Bosea thiooxidans* (strain BI-42) gen. nov., sp. nov.: Analysis of phylogeny based on chemotaxonomy and 16S ribosomal DNA sequencing. Int J Syst Bacteriol 46:981-987.

20

[Dictionary of Natural Products (2007)] Dictionary of Natural products on CD-ROM, version 15.2, 2007, Hampen Data services Ltd.

[DSMZ (2007)] Description of biological risk group for *Chondromyces* strains available on the website <http://www.dsmz.de/>.

25

[Gerth K, Pradell A, Perlova O, y colaboradores, (2003)] Myxobacteria: proficient producers for novel natural products with various biological activities – past and future biotechnological

aspects with the focus on the genus *Sorangium*. *J Biotechnol* 106:233-253.

[Hansson L, Backman A, Ny A, Edlund M, Ekholm E, Ekstrand Hammarstrom B, Tornell J, Wallbrandt P, Wennbo H, Egelrud T
5 (2002)] Epidermal overexpression of stratum corneum chymotryptic enzyme in mice: a model for chronic itchy dermatitis. *J Invest Dermatol* 118:444-449.

[Ishida K, Matsuda H, Murakami M, Yamaguchi K (1996)] The Absolute Stereochemistry of micropeptin 90. *Tetrahedron letters*
10 37:51-52.

[Jacobi CA, Reichenbach H, Tindall BJ, Stackebrandt E (1996)] "Candidatus comitans," a bacterium living in coculture with *Chondromyces crocatus* (Myxobacteria). *Int J Syst Bacteriol* 46: 119-122.

15 [Jacobi CA, Assmus B, Reichenbach H, Stackebrandt E (1997)] Molecular evidence for association between the *Sphingobacterium*-like organism "Candidatus comitans" and the myxobacterium *Chondromyces crocatus*. *Appl Environ Microbiol* 63:719-723.

20 [Jansen R, Kunze B, Reichenbach H, Höfle G (2002)] The ajudazols A and B, novel isochromanones from *Chondromyces crocatus* (Myxobacteria): Isolation and structure elucidation. *Eur J Org Chem* 2002:917-921.

[Kaiser D (2003)] Coupling cell movement to multicellular development in myxobacteria. *Nature Reviews Microbiol* 1:45-54.

25 [Kunze B, Jansen R, Sasse F, et al. (1995)] Chondramides A ~

D, new antifungal and cytostatic depsipeptides from *Chondromyces crocatus* (Myxobacteria): Production, physicochemical and biological properties. *J Antibiotics* 48:1262-1266.

[La Scola B, Mallet M-N, Grimont PAD, Raoult D (2003)] *Bosea* 5
eneae sp. nov., *Bosea massiliensis* sp. nov. and *Bosea vestrisii* sp.
 nov., isolated from hospital water supplies, and emendation of the
 genus *Bosea* (Das et al. 1996). *Int J Syst Evol Microbiol* 53:15-20.

[Lee AY, Smitka TA, Bonjouklian R, Clardy J (1994)] Atomic
 structure of the trypsin- A90720A complex: a unified approach to
 10 structure and function. *Chemistry & Biology* 1:113- 117.

[Matern U, Schleberger C, Jelakovic S, Weckesser J, Schulz GE
 (2003)] Binding structure of elastase inhibitor scryptolin A. *Chemistry
 & Biology* 10:997-1001.

[Rahid S, y colaboradores, (2006)] Molecular and biochemical
 15 studies of chondramide formation – highly cytotoxic natural products
 from *Chondromyces crocatus* Cm c5. *Chem & Biol* 14:667-681.

[Rouhiainen L, Paulin L, Suomalainen S, Hyytiäinen H, Buikema
 W, Haselkorn R, Sivonen K (2000)] Genes encoding for synthetases
 of cyclic depsipetides, anabaenopeptilides, in *Anabaena* strain 90.
 20 *Molecular Microbiology* 37:156-167.

[Vasilopoulos Y, Cork MJ, Murphy R, y colaboradores, (2004)]
 Genetic association between an AACC insertion in the 3'UTR of the
 stratum corneum chymotryptic enzyme gene and atopic dermatitis. *J
 Invest Dermatol* 123:62-66.

RESUMEN

La presente solicitud se relaciona con los depsipéptidos
cíclicos, o derivados de los mismos, que tienen la estructura de la
5 fórmula (I), y los usos de los mismos, por ejemplo como inhibidores
de calicreína 7 y elastasa de neutrófilos humanos.

* * * * *

10

15

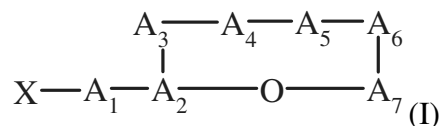
20

25

CAPÍTULO REIVINDICATORIO

(Solicitud Divisional A)

1. Una composición farmacéutica que comprende un depsipéptido cíclico que tiene la estructura de la Fórmula (I):



en donde se forma un enlace éster entre un grupo carboxilo de A₇ y un grupo hidroxilo de A₂;

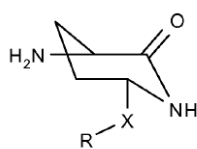
en donde el residuo acilo X es CH₃CH₂CH(CH₃)CO o (CH₃)₂CHCO;

A₁ es glutamina, ácido glutámico, nitrilo glutámico, alquiloC₁₋₁₂ éster del ácido glutámico o arilo C₆₋₂₄ éster del ácido glutámico;

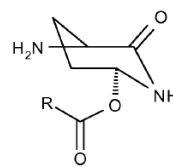
A₂ es treonina;

A₃ es leucina;

A₄ es Ahp, 3-amino-piperidin-2-ona, prolina, 5-hidroxi-prolina, 3-amino-3,4-dihidro-1H-piridin-2-ona,



(Ahp-I) donde X = O o un enlace, o



(Ahp-II);

donde R es alquilo C₁₋₁₂ o alquilo C₁₋₁₂ sustituido seleccionado entre 2,2,2-trifluoroetilo, bencilo, 2-metoxietilo, 2-hidroxietilo, 2-(2-hidroxietoxi)etilo, 2-(2-metoxietoxi)etilo o propargilo; en donde Ahp es 3-amino-6-hidroxi-piperidin-2-ona;

A₅ es isoleucina;

A₆ es tirosina, N-Me-tirosina en donde el grupo OH de la tirosina o N-Me-tirosina es OR, en donde R se selecciona del grupo que comprende hidrógeno, alquilo C₁₋₁₂, alqueno C₂₋₁₂, alquino C₂₋₁₂, haloalquilo C₁₋₁₂, haloalqueno C₂₋₁₂, haloalquino C₂₋₁₂, alcoxiC₁₋₁₂carbonilo, alcoxi C₁₋₁₂carbonilo-alquilo C₁₋₁₂, alquilaminocarbonilo C₁₋₁₂, en donde los grupos alquilo, alqueno y alquino de R pueden estar además no sustituidos o sustituidos por un arilo, arilalquilo C₁₋₆, arilalqueno C₂₋₁₂, o arilalquino C₂₋₁₂, heterociclilo y heterociclil-alquilo C₁₋₁₂;

en donde el término arilo se refiere a un sistema de anillo carbocíclico mono o bicíclico que tiene uno o dos anillos aromáticos y presenta entre 6 y 10 átomos de carbono;

en donde el término heterociclilo se refiere a un anillo no aromático de 5, 6 o 7 miembros o un sistema fusionado bicíclico o tricíclico, donde i) cada anillo contiene entre 1 y 3 heteroátomos seleccionados independientemente entre oxígeno, azufre y nitrógeno, ii)

cada anillo de 5 miembros tiene 0 o 1 dobles enlaces y cada anillo de 6 miembros tiene entre 0 y 2 dobles enlaces, iii) los heteroátomos nitrógeno y azufre pueden estar opcionalmente oxidados, iv) cualquiera de los anillos anteriores puede estar fusionado a un anillo benceno y v) los átomos restantes del anillo son átomos de carbono que pueden estar opcionalmente sustituidos por oxo;

A₇ es isoleucina o valina;

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

en combinación con un vehículo farmacéuticamente aceptable.

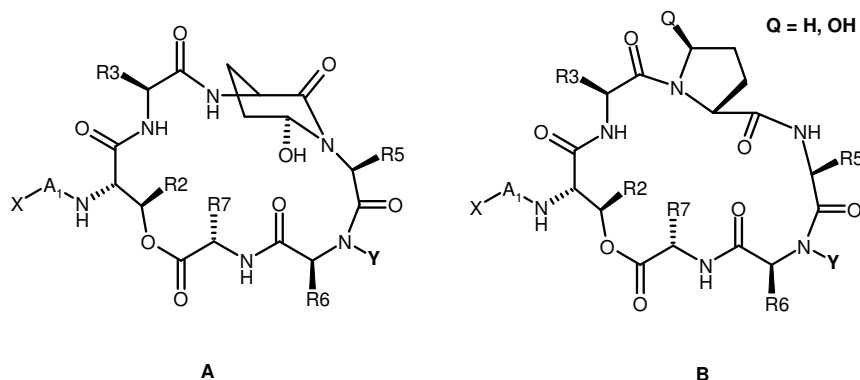
2. La composición farmacéutica de acuerdo con la Reivindicación 1, que comprende un depsipéptido cíclico que tiene la estructura de la fórmula (I), en donde A₆ es N-Me-tirosina y el grupo OH de la tirosina es OR, en donde R se selecciona del grupo que consiste en hidrógeno, alquilo C₁₋₁₂, alquenilo C₂₋₁₂, alquinilo C₂₋₁₂, haloalquilo C₁₋₁₂, haloalquenilo C₂₋₁₂, haloalquinilo C₂₋₁₂, alcoxiC₁₋₁₂carbonilo, alcoxiC₁₋₁₂carbonil-alquiloC₁₋₁₂, alquilC₁₋₁₂aminocarbonilo no sustituido o sustituido adicionalmente por arilo, arilalquilo C₁₋₆, arilalquenilo C₂₋₁₂ o arilalquinilo C₂₋₁₂, heterociclilo y heterociclilalquilo C₁₋₁₂;

en donde el término arilo se refiere a un sistema de anillo carbocíclico mono o bicíclico que tiene uno o dos anillos aromáticos y presenta entre 6 y 10 átomos de carbono;

en donde el término heterociclilo se refiere a un anillo no aromático de 5, 6 o 7 miembros o un sistema fusionado bicíclico o tricíclico, donde i) cada anillo contiene entre 1 y 3 heteroátomos seleccionados independientemente entre oxígeno, azufre y nitrógeno, ii) cada anillo de 5 miembros tiene 0 o 1 doble enlace y cada anillo de 6 miembros tiene entre 0 y 2 dobles enlaces, iii) los heteroátomos nitrógeno y azufre pueden estar opcionalmente oxidados, iv) cualquiera de los anillos anteriores puede estar fusionado a un anillo benceno y v) los átomos restantes del anillo son átomos de carbono que pueden estar opcionalmente sustituidos por oxo.

3. La composición farmacéutica de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones anteriores, que comprende un depsipéptido cíclico que tiene la estructura de la fórmula (I), en donde A₁ es ácido glutámico, nitrilo glutámico, éster de ácido glutámico seleccionado entre éster de alquilo C₁₋₁₂ o éster de arilo C₆₋₂₄.

4. Una composición farmacéutica que comprende un depsipéptido el cual es un compuesto de acuerdo con las fórmulas A o B,



en donde

X es $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CO}$ o $(\text{CH}_3)_2\text{CHCO}$;

A_1 es es glutamina, ácido glutámico, nitrilo glutámico, alquilo C_{1-12} éster del ácido glutámico o arilo C_{6-24} éster del ácido glutámico;

R2 es metilo;

R3 es la cadena lateral de leucina;

R5 es la cadena lateral del aminoácido isoleucina;

R6 es la cadena lateral de tirosina o la cadena lateral de tirosina en donde el grupo OH de la tirosina es OR, en donde R se selecciona del grupo que comprende hidrógeno, alquilo C_{1-12} , alquenilo C_{2-12} , alquinilo C_{2-12} , haloalquilo C_{1-12} , haloalquenilo C_{2-12} , haloalquinilo C_{2-12} , alcoxi C_{1-12} carbonilo, alcoxi C_{1-12} carbonil-alquilo C_{1-12} , alquilaminocarbonilo C_{1-12} , en donde los grupos alquilo, alquenilo y alquinilo de R pueden estar además no sustituidos o sustituidos por un arilo, arilalquilo C_{1-6} , arilalquenilo C_{2-12} , o arilalquinilo C_{2-12} , heterociclilo y heterociclil-alquilo C_{1-12} ;

en donde el término arilo se refiere a un sistema de anillo carbocíclico mono o bicíclico, que tiene uno o dos anillos aromáticos y presenta entre 6 y 10 átomos de carbono;

en donde el término heterociclilo se refiere a un anillo no aromático de 5, 6 o 7 miembros o un sistema fusionado bicíclico o tricíclico, donde i) cada anillo contiene entre 1 y 3 heteroátomos seleccionados independientemente entre oxígeno, azufre y nitrógeno, ii) cada anillo de 5 miembros tiene 0 o 1 doble enlace y cada anillo de 6 miembros tiene entre 0 y 2 dobles enlaces, iii) los heteroátomos nitrógeno y azufre pueden estar opcionalmente oxidados, iv) cualquiera de los anillos anteriores puede estar fusionado a un anillo benceno y v) los átomos restantes del anillo son átomos de carbono que pueden estar opcionalmente sustituidos por oxo.

R7 es la cadena lateral del aminoácido isoleucina o valina;

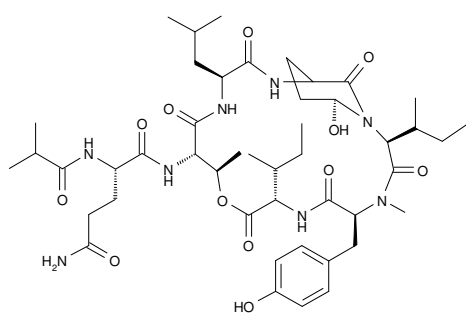
Y es hidrógeno o metilo.

en combinación con una vehículo farmacéuticamente aceptable.

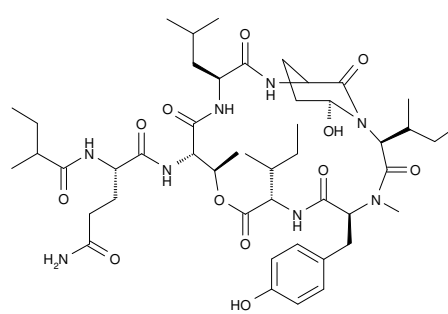
5. La composición farmacéutica de acuerdo con la Reivindicación 4 que comprende un depsipéptido el cual es un compuesto de acuerdo con las fórmulas A o B, en donde X es

$(\text{CH}_3)_2\text{CHCO}$.

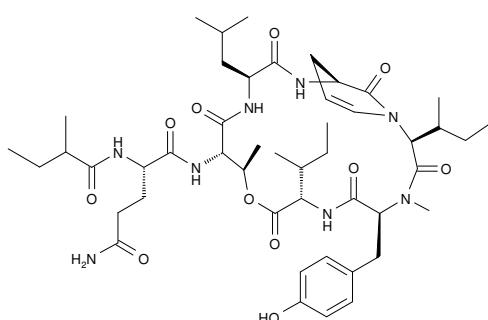
6. La composición farmacéutica de acuerdo con la Reivindicación 4 que comprende un depsipéptido el cual es un compuesto de acuerdo con las fórmulas A o B, en donde R7 es la cadena lateral del aminoácido isoleucina.
7. La composición farmacéutica de acuerdo con las Reivindicaciones 1-3, en donde A₁, A₂, A₃, A₅, A₆ y A₇ son aminoácidos L.
8. La composición farmacéutica de acuerdo con las Reivindicaciones 1-3, en donde A₄ es 3S,6R Ahp.
9. La composición farmacéutica de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones anteriores que comprende un depsipéptido seleccionado a partir de:



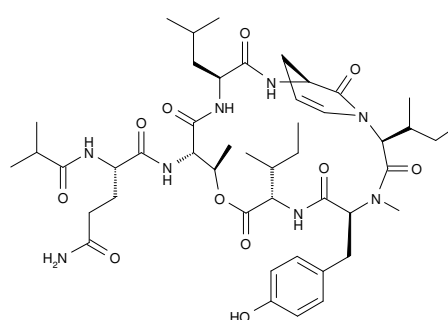
Fórmula (II)



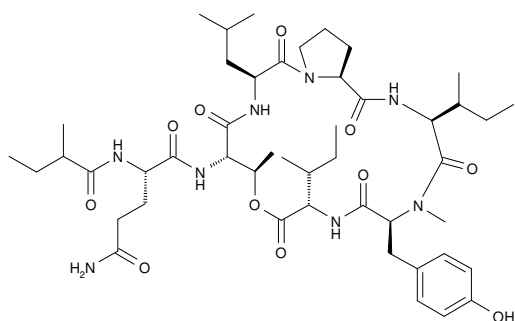
Fórmula (III)



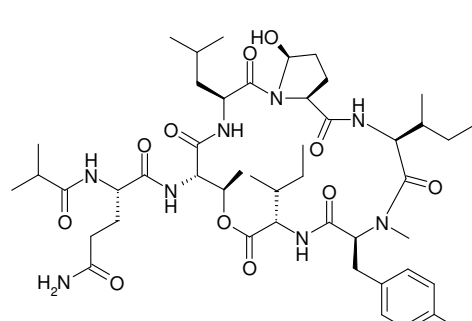
Fórmula (IV)

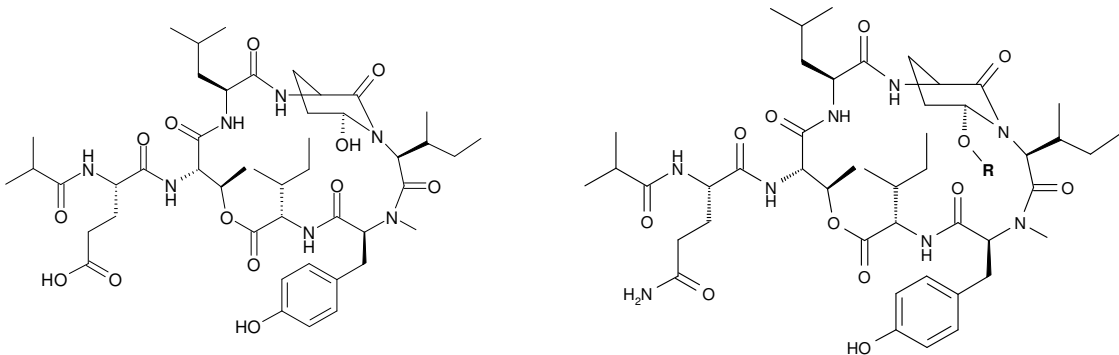


Fórmula (V)

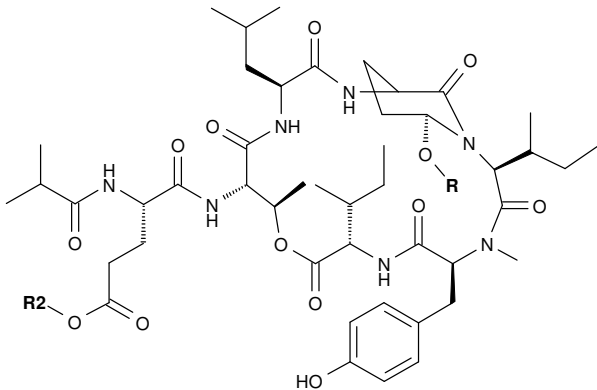


Fórmula (XIV)

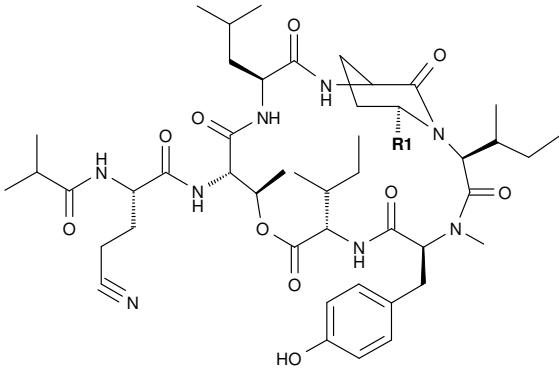




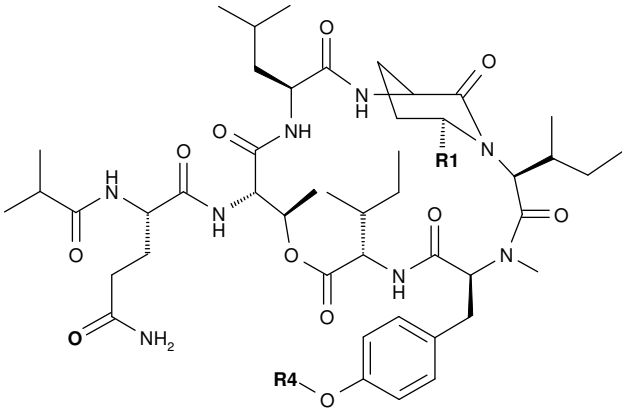
en donde R se selecciona a partir de 1-octilo, 2,2,2-trifluoroetilo, 2-propilo, bencilo, etilo, 1-butilo, isobutilo, 2-metoxietilo, 2-hidroxietilo, 2-(2-hidroxietoxi)etilo, 2-(2-metoxietoxi)etilo, metilo y propargilo;



en donde R y R2 se seleccionan a partir de 1-propilo y metilo;



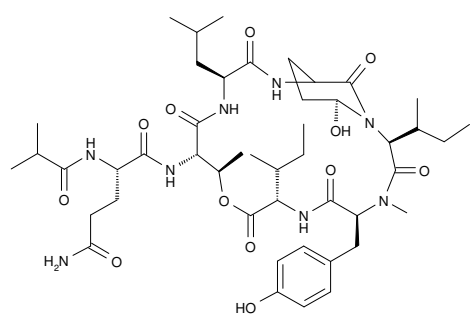
en donde R1 se selecciona a partir de H, etilo, 1-propilo y bencilo;



en donde R1 y R4 se seleccionan a partir de:

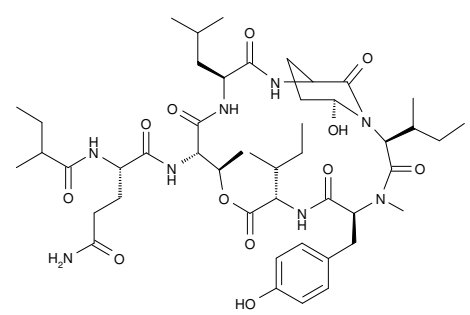
R1	R4
H	t-butoxicarbonilmetilo
propoxilo	t-butoxicarbonilmetilo
propoxilo	1-(E)-pent-2-enilo
propoxilo	1-(E)-4,4,4-trifluoro-but-2-enilo
propoxilo	metilo
propoxilo	3-metil-but-2-enilo
propoxilo	bencilo
propoxilo	alilo
propoxilo	propargilo

10. La composición farmacéutica de acuerdo con las Reivindicaciones 1 a 9, que comprende un depsipéptido de fórmula:



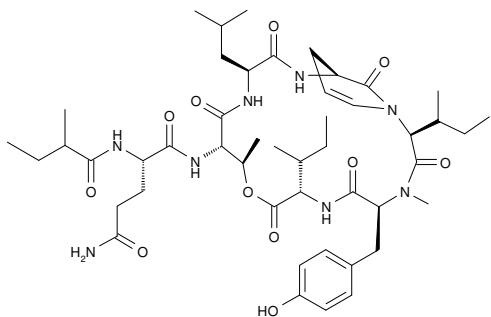
Fórmula (II).

11. La composición farmacéutica de acuerdo con las Reivindicaciones 1 a 9, que comprende un depsipéptido de fórmula:



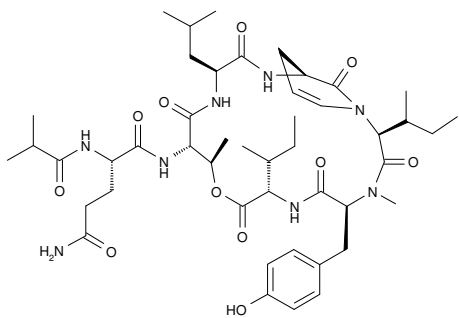
Fórmula (III).

12. La composición farmacéutica de acuerdo con las Reivindicaciones 1 a 9, que comprende un depsipéptido de fórmula:



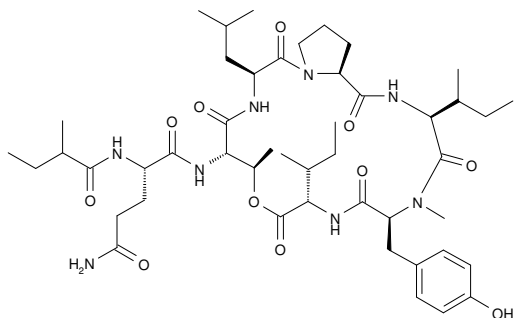
Fórmula (IV).

13. La composición farmacéutica de acuerdo con las Reivindicaciones 1 a 9, que comprende un depsipéptido de fórmula:



Fórmula (V).

14. La composición farmacéutica de acuerdo con las Reivindicaciones 1 a 9, que comprende un depsipéptido de fórmula:



Fórmula (XIV).

FIGURA 1

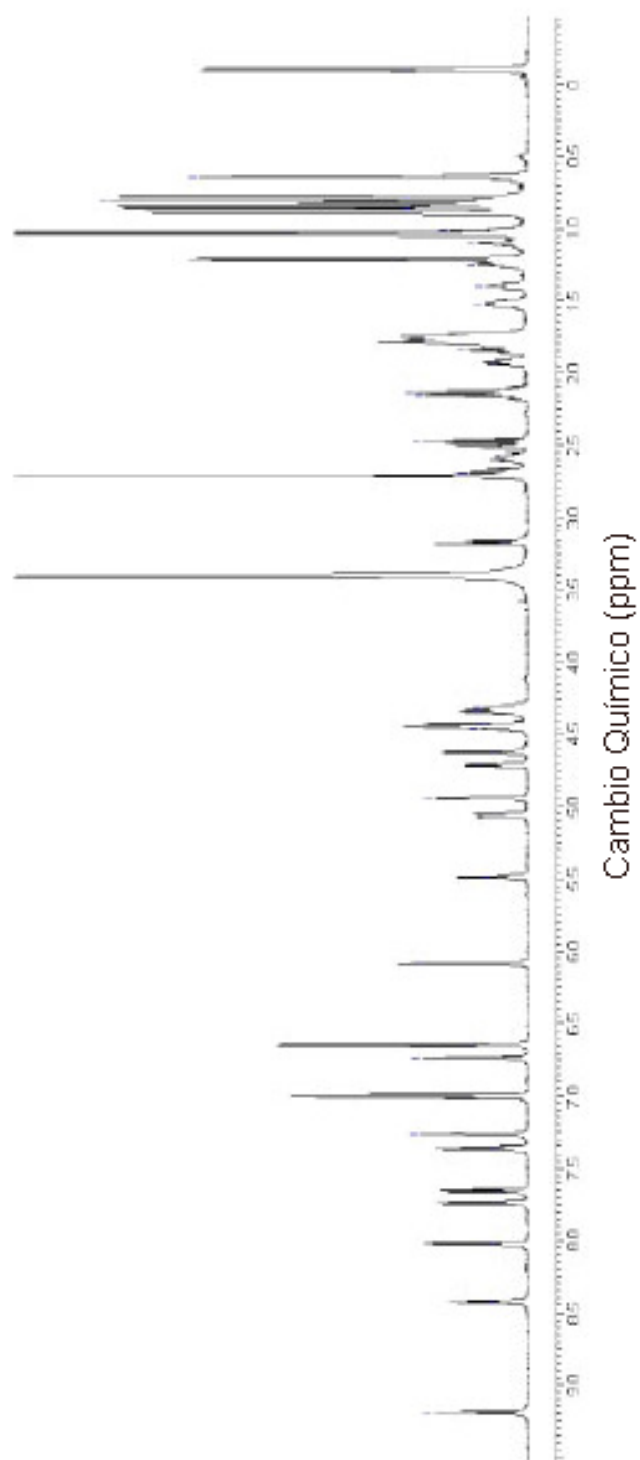


FIGURA 2

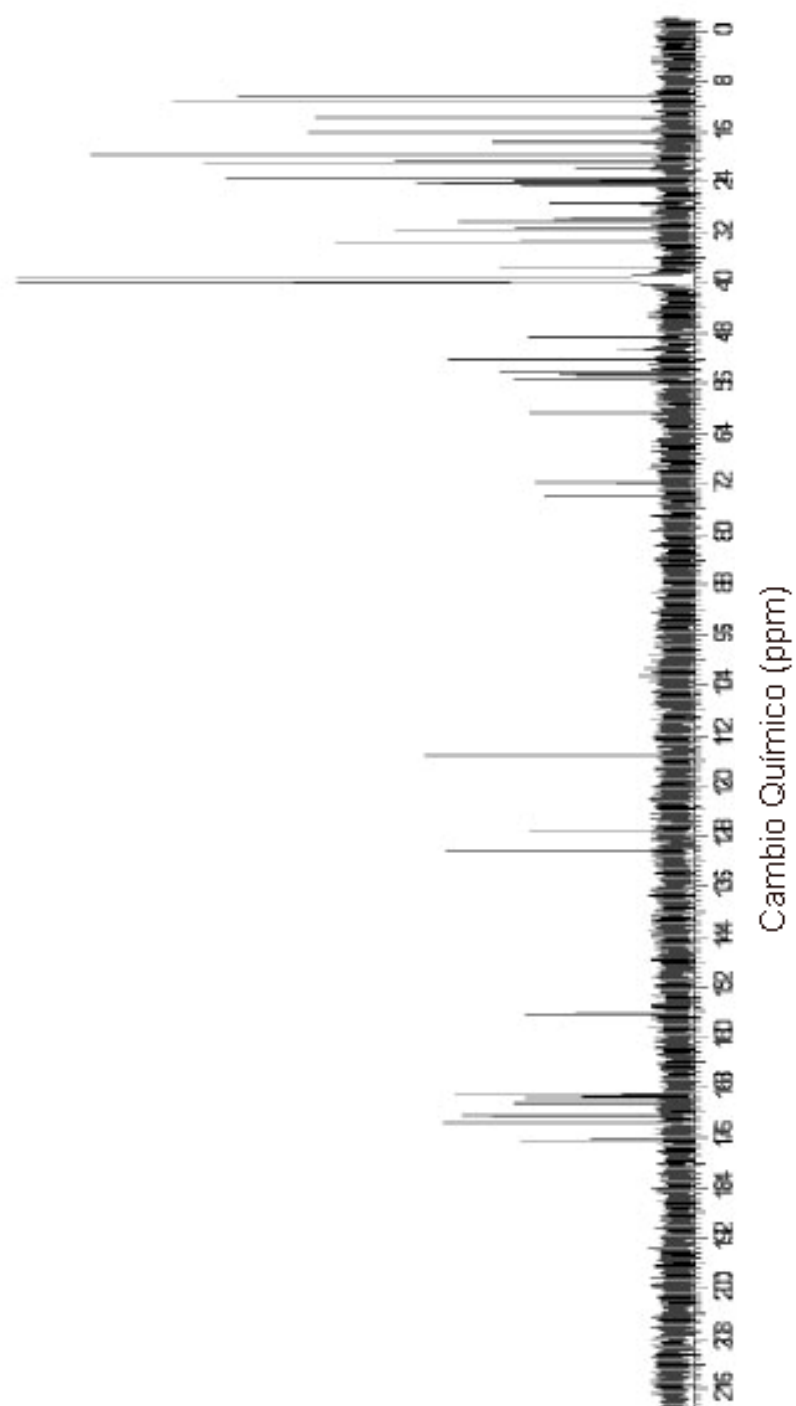


FIGURA 3

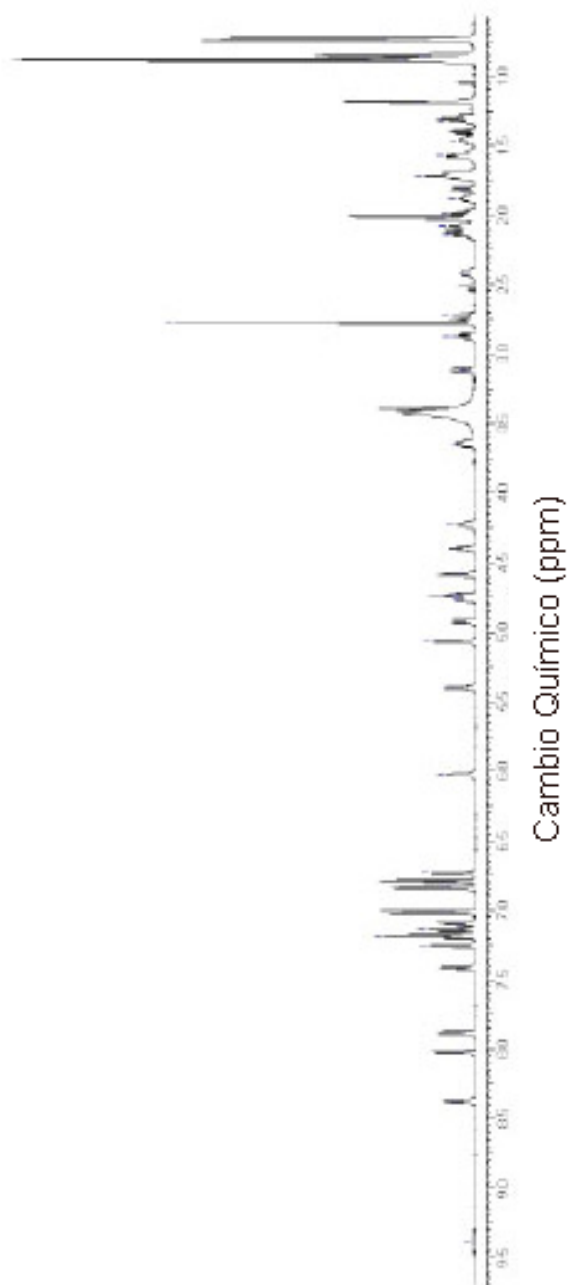


FIGURA 4

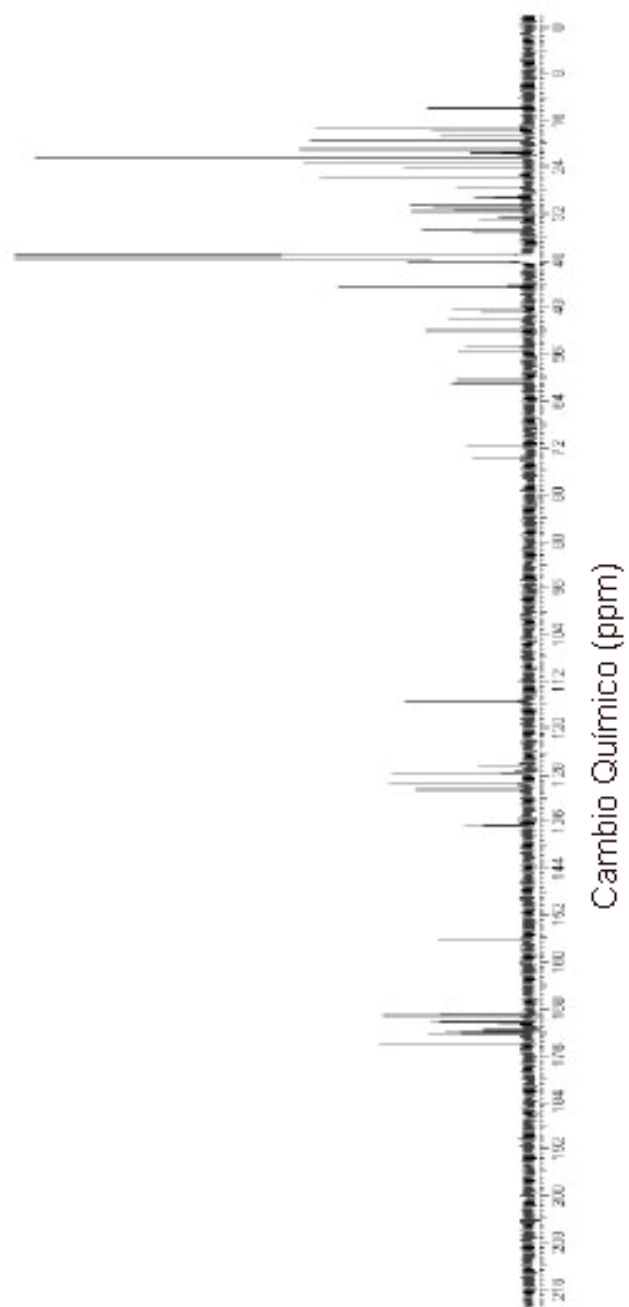


FIGURA 5

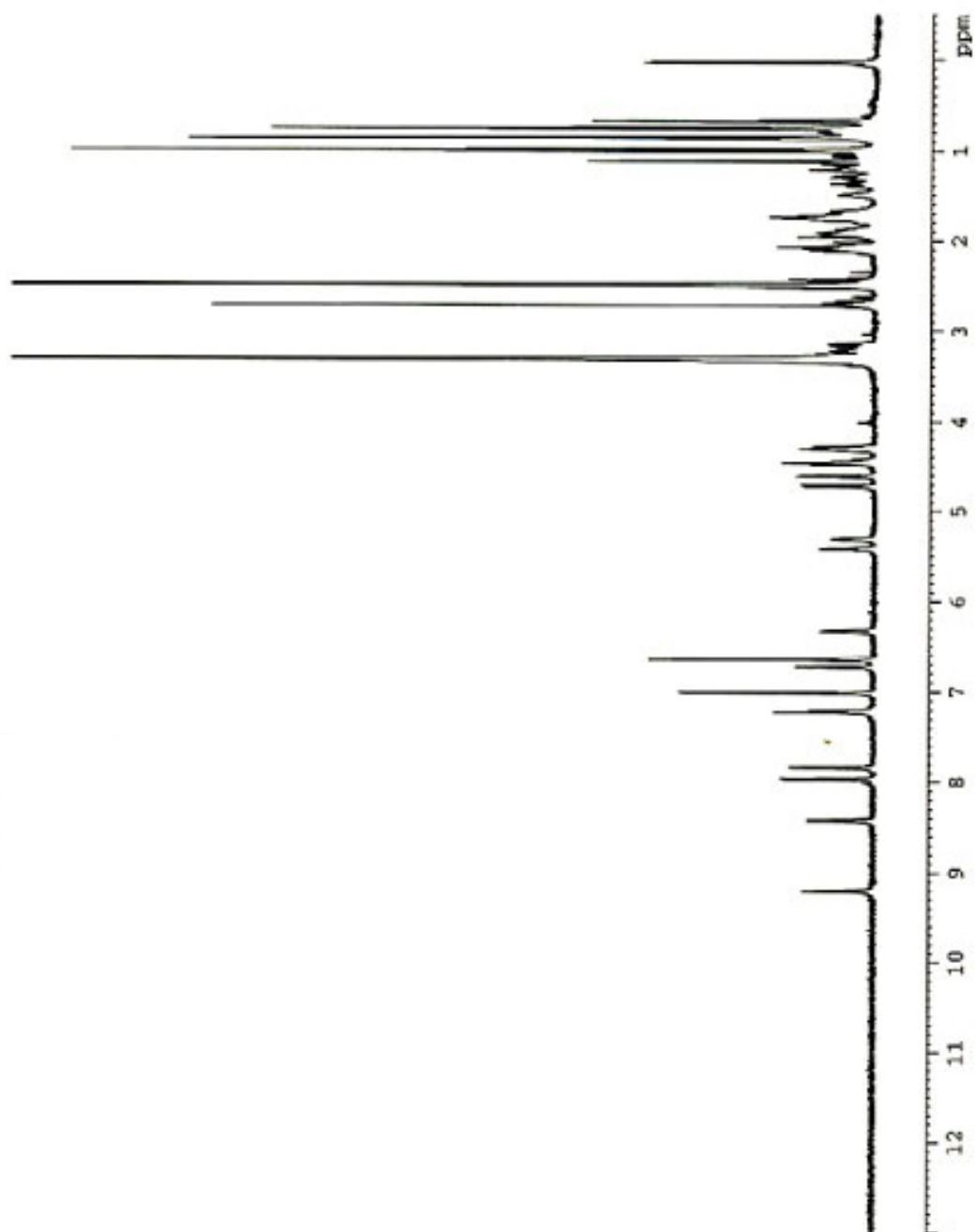


FIGURA 6

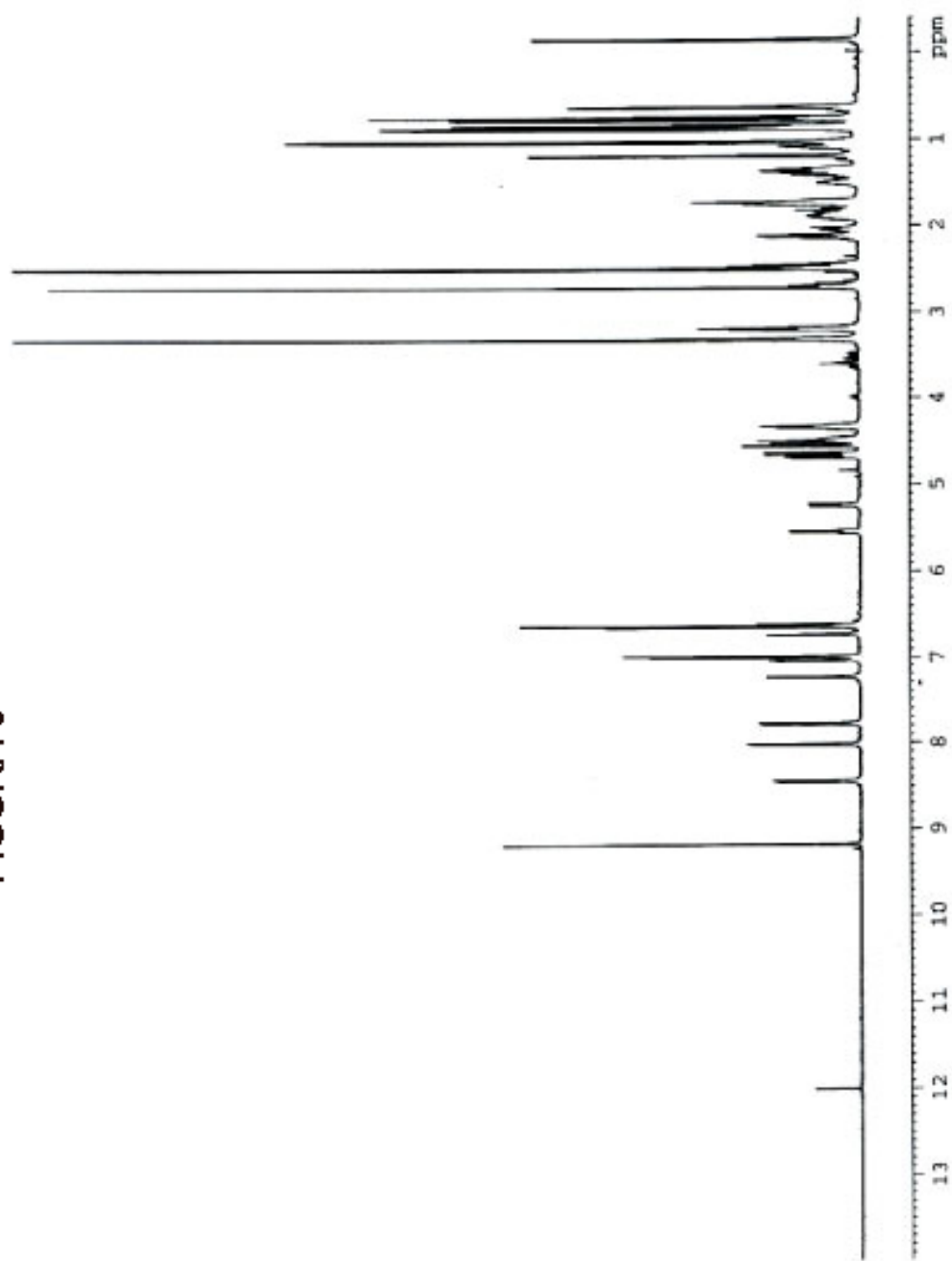
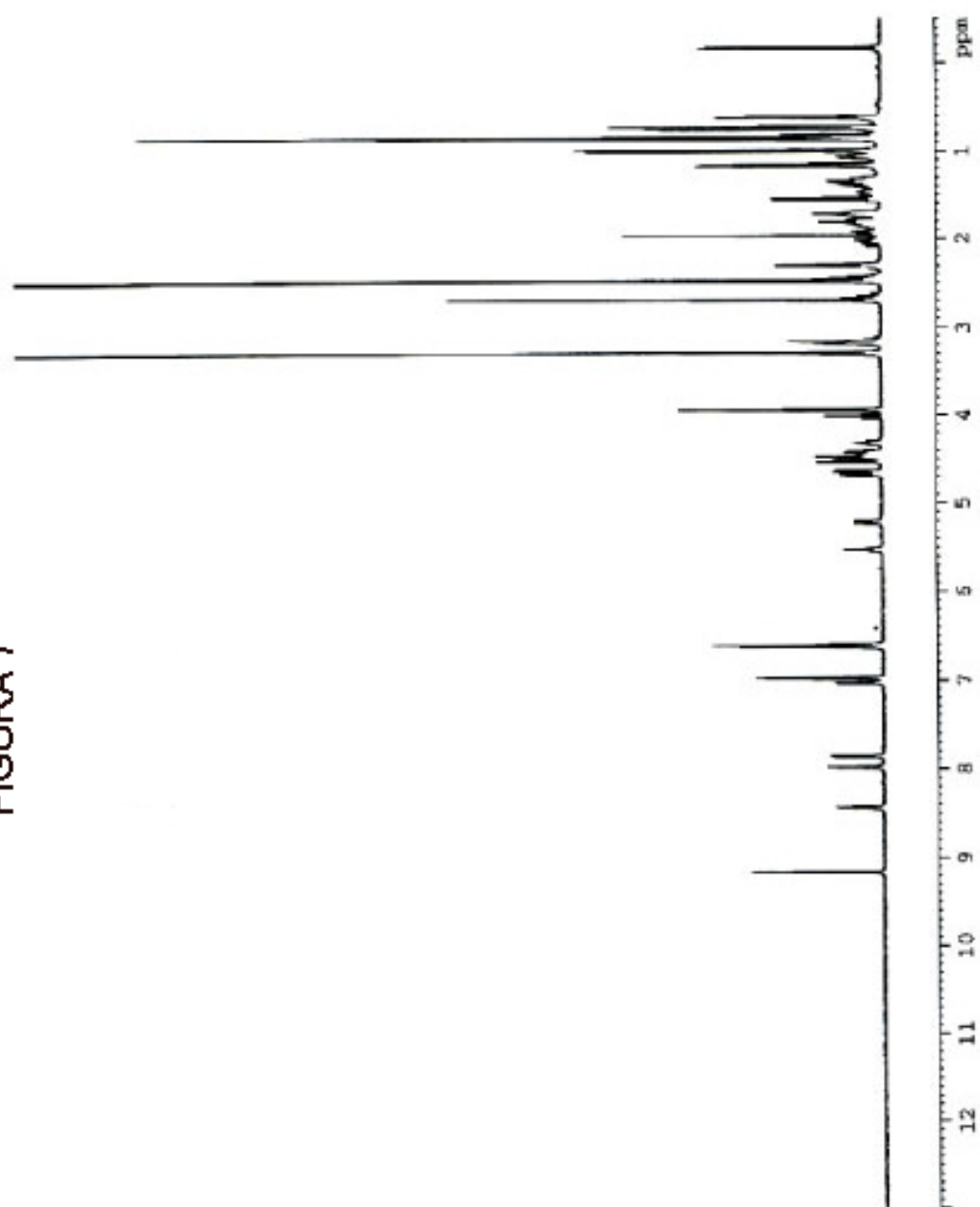


FIGURA 7



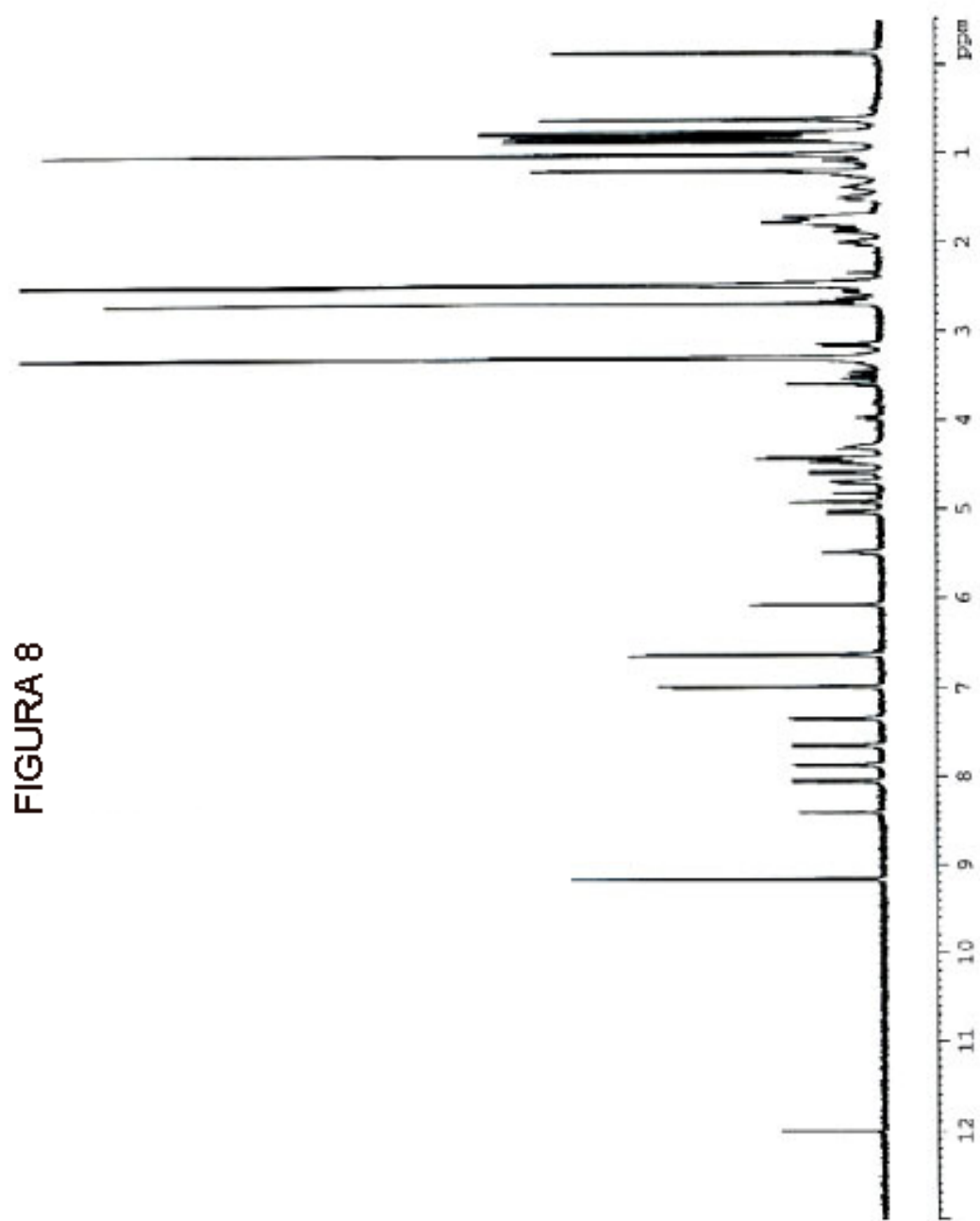




FIGURA 10

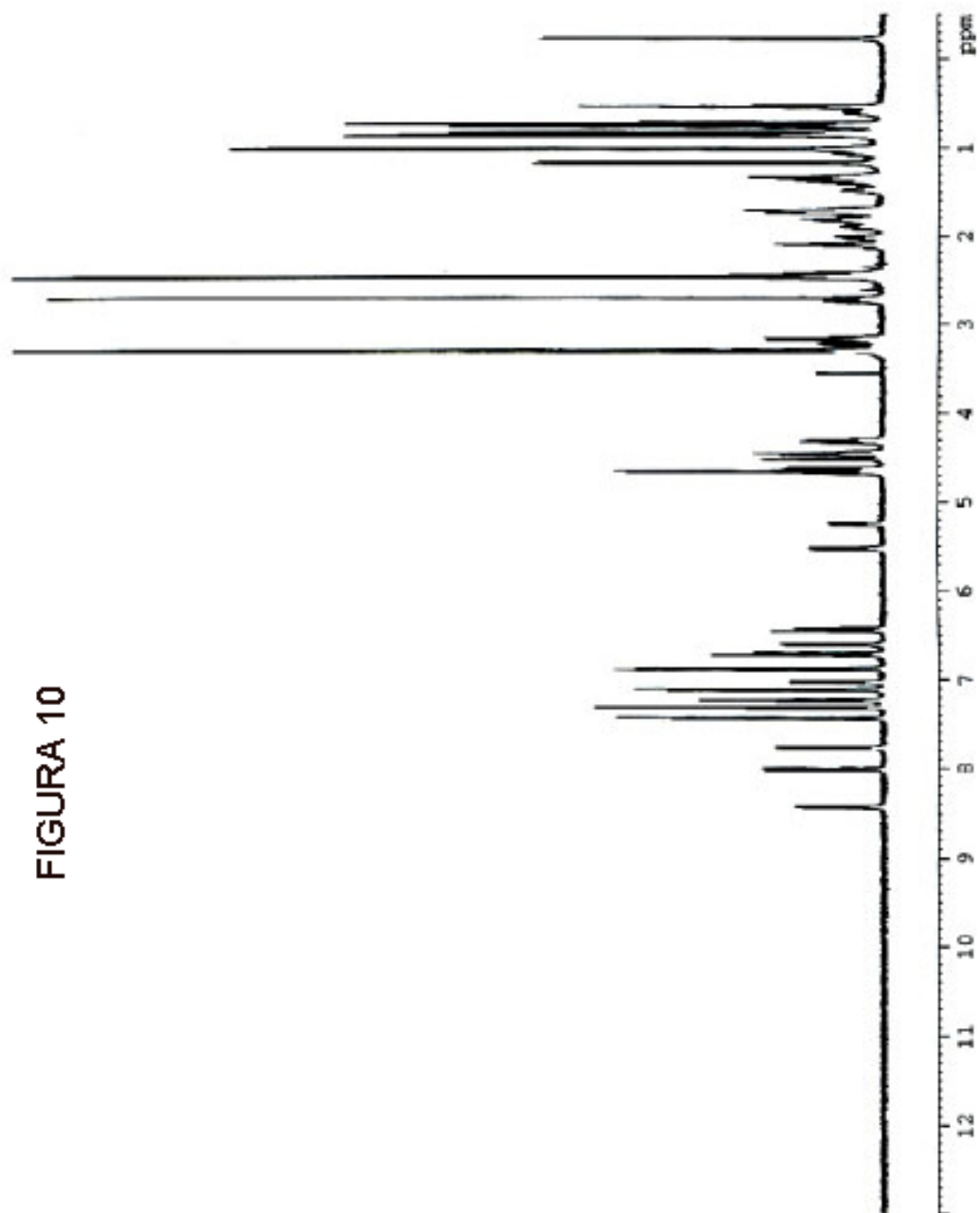
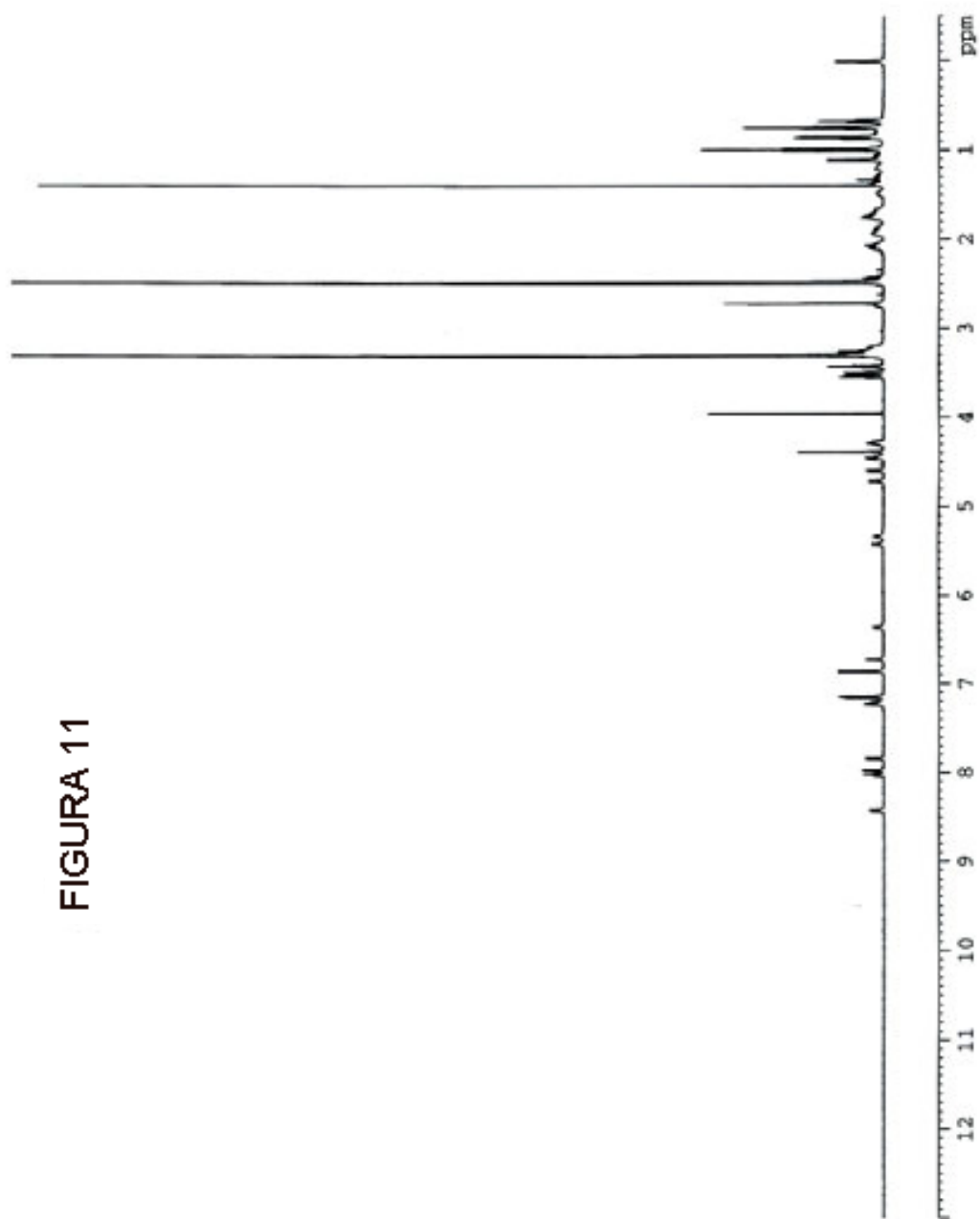


FIGURA 11



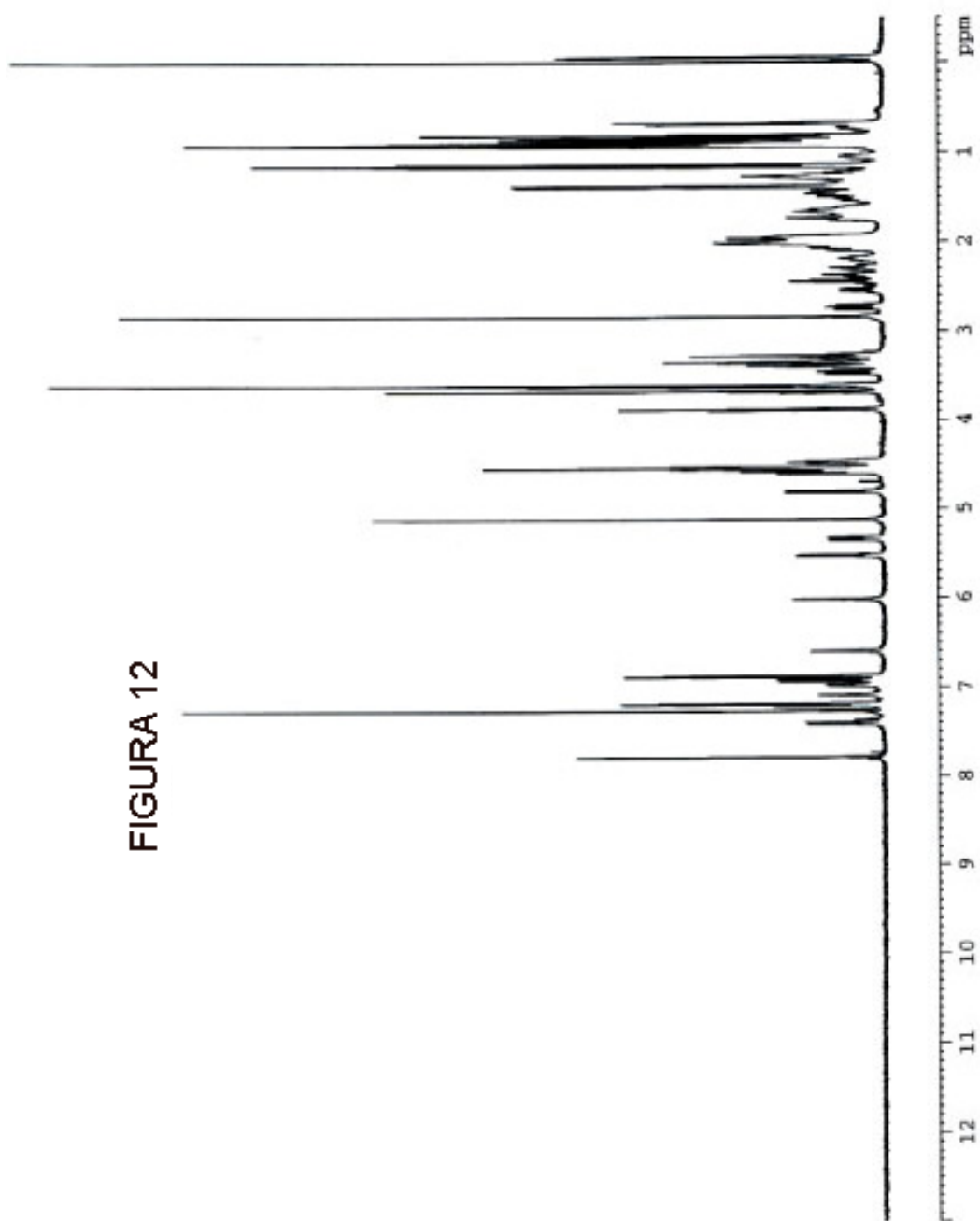


FIGURA 12