

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 632 392**

51 Int. Cl.:

C07K 11/02 (2006.01)

A61K 38/15 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **14.08.2008 PCT/EP2008/060689**

87 Fecha y número de publicación internacional: **26.02.2009 WO09024527**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **14.08.2008 E 08803036 (6)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **05.04.2017 EP 2183273**

54 Título: **Depsipéptidos cíclicos**

30 Prioridad:

17.08.2007 EP 07114507

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

12.09.2017

73 Titular/es:

NOVARTIS AG (100.0%)

Lichtstrasse 35

4056 Basel, DE

72 Inventor/es:

KRASTEL, PHILIPP;

LIECHTY, BRIGITTA-MARIA;

MEINGASSNER, JOSEF GOTTFRIED;

SCHMITT, ESTHER y

SCHREINER, ERWIN PAUL

74 Agente/Representante:

CARVAJAL Y URQUIJO, Isabel

Observaciones:

Véase nota informativa (Remarks, Remarques o Bemerkungen) en el folleto original publicado por la Oficina Europea de Patentes

ES 2 632 392 T3

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

DESCRIPCIÓN

Depsipéptidos cíclicos

Campo de la Invención

La presente invención se relaciona con los depsipéptidos cíclicos.

5 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 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 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 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 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 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 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 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 regulada, una degradación aumentada de las enzimas que procesan 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 y la inflamación (también véase la publicación internacional WO-A-2004/108139).

Debido al hecho de que la actividad de la hK7 está controlada 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 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 disminución en las enzimas que procesan lípidos β -glucocerebrosidasa y esfingomielinasa ácida, y una función de barrera deficiente (15, 16). En segundo lugar, ratones transgénicos que sobreexpresan calicreína 7 humana muestran un fenotipo de piel similar al encontrado en pacientes con dermatitis atópica (17, 18, 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 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 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 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 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 de secuencia del 30 al 40 % 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 polimorfonucleares (PMNL), donde la concentración de HNE es bastante alta (3 microgramos de enzima/10⁶ 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 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 hidrófobo 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 procolagenasa, prostomelinsina, y progelatinasa. La HNE inactiva varios inhibidores de proteinasa endógena tales como α 2-antiplasmina, α 1-antiquimotripsina, antitrombina, y el inhibidor de tejido de las metaloproteinases. La actividad extracelular de la elastasa está íntimamente controlada en el sistema pulmonar por el inhibidor de α 1-proteasa (α 1PI), 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.

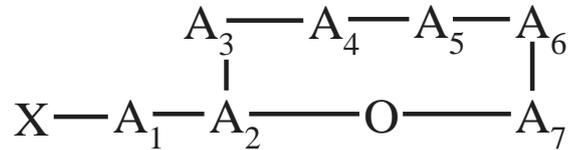
La HNE se considera que es la principal fuente de daño de tejido asociada con enfermedades inflamatorias tales como el enfisema pulmonar, el síndrome de insuficiencia respiratoria de adultos (ARDS), la bronquitis crónica, la enfermedad pulmonar obstructiva crónica (COPD), la hipertensión pulmonar, y otras enfermedades inflamatorias 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 quística 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 bacterias del orden de *Myxococcales*, 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 (Kaiser (2003)). Los presentes inventores han identificado depsipéptido cíclico producido por *Chondromyces* que son capaces de modular específicamente la calicreína 7.

Resumen de la Invención

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



5 en donde un enlace éster se encuentra entre el grupo carboxilo de A₇ y el grupo hidroxilo de A₂,

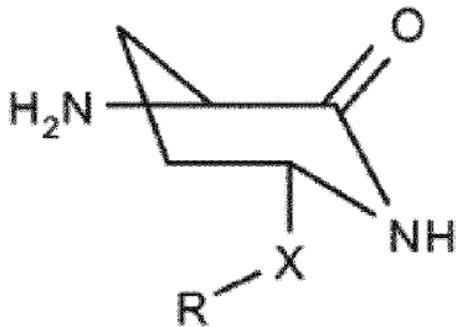
en donde el residuo acilo X es CH₃CH₂CH(CH₃)CO o (CH₃)₂CHCO,

A₁ es glutamina, ácido glutámico, o un derivado del mismo, seleccionado de nitrilo glutámico, ácido glutámico alquil éster de 1 a 12 átomos de carbono o aril éster de 6 a 24 átomos de carbono de ácido glutámico

A₂ es treonina,

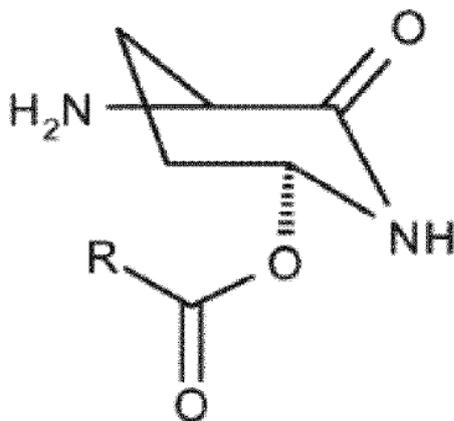
10 A₃ es leucina,

A₄ es Ahp, 3-amino-piperidin-2-ona, prolina, 5-hidroxi-prolina o un derivado del mismo, seleccionado de 3-amino-3,4-dihidro-1H-piridin-2-ona,



Ahp-I

X = O o enlace



Ahp-II

15 en donde R es seleccionado del grupo que consiste en alquilo de 1 a 12 átomos de carbono, alqueno de 2 a 12 átomos de carbono, alquino de 2 a 12 átomos de carbono, haloalquilo de 1 a 12 átomos de carbono,

alcoxilo (con de 1 a 12 átomos de carbono) alquilo (con de 1 a 12 átomos de carbono), alcoxilo (con de 1 a 12 átomos de carbono) alcoxialquilo (con de 1 a 12 átomos de carbono) de 1 a 12 átomos de carbono, hidroxialquilo de 1 a 12 átomos de carbono, fenilo y fenilo alquilo de 1 a 6 átomos de carbono,

A₅ es isoleucina,

5 A₆ es tirosina, N-Me-tirosina o un derivado del mismo, seleccionado de N-Me-tirosina donde el grupo OH de la tirosina o N-Me-tirosina es OR, en donde R es seleccionado del 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, haloalquenilo de 2 a 12 átomos de carbono, haloalquinilo de 2 a 12 átomos de carbono, alcoxycarbonilo de 1 a 12 átomos de carbono, alcoxilo (con de 1 a 12 átomos de carbono) carbonilo alquilo, alquilaminocarbonilo de 1 a 12 átomos de carbono, en donde las fracciones de alquilo, alquenilo y alquinilo de los grupos R pueden estar no sustituidos o sustituidos además por arilo, arilalquilo de 1 a 6 átomos de carbono, arilalquenilo de 2 a 12 átomos de carbono o arilalquinilo de 2 a 12 átomos de carbono, heterociclilo y heterocicliilalquilo de 1 a 12 átomos de carbono, A₇ es isoleucina o valina,

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

15 La presente invención también se relaciona con los depsipéptidos cíclicos descritos anteriormente para uso 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, cicatrices 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 avejentada, 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.

25 En una realización, la presente invención se relaciona con los depsipéptidos cíclicos descritos anteriormente, para uso como un medicamento para el tratamiento de enfermedades de la piel inflamatorias y/o hiperproliferativas y pruríticas tales como queloides, cicatrices 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.

30 En otra realización, la presente invención se relaciona con los depsipéptidos descritos anteriormente, para uso como un medicamento para el tratamiento de 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.

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

40 La presente invención también abarca procesos para producir el depsipéptido cíclico de la invención, por ejemplo mediante el cultivo de *Chondromyces crocatus* (DSM 19329), 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 *Chondromyces crocatus* (DSM 19329), una variante mutante de la misma, en una cepa anfitriona microbiana heteróloga, y la derivación química opcional del depsipéptido cíclico así producido.

45 La presente invención entonces también se relaciona con microorganismos *Chondromyces* aislados depositados bajo el número de acceso DSM 19329 y con los depsipéptidos cíclicos, producidos por los microorganismos *Chondromyces* aislados.

50 Descripción de las Figuras

Figura 1: espectro de RMN ¹H del compuesto de la fórmula (II) (600 MHz, d₆-DMSO)

Figura 2: espectro de RMN ¹³C del compuesto de la fórmula (II) (150 MHz, d₆-DMSO)

Figura 3: espectro de RMN ¹H del compuesto de la fórmula (VIII) (600 MHz, d₆-DMSO)

Figura 4: espectro de RMN ¹³C del compuesto de la fórmula (VIII) (150 MHz, d₆-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 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, $\text{d}_6\text{-DMSO}$)

5 Figura 7: espectro de RMN ^1H de un derivado del depsipéptido cíclico de acuerdo con el Ejemplo 19. (500 MHz, $\text{d}_6\text{-DMSO}$)

Figura 8: espectro de RMN ^1H de un derivado del depsipéptido cíclico de acuerdo con el Ejemplo 21. (500 MHz, $\text{d}_6\text{-DMSO}$)

10 Figura 9: espectro de RMN ^1H de un derivado del depsipéptido cíclico de acuerdo con el Ejemplo 26. (500 MHz, $\text{d}_6\text{-DMSO}$)

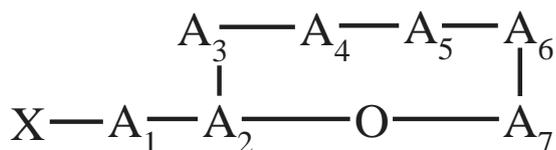
Figura 10: espectro de RMN ^1H de un derivado del depsipéptido cíclico de acuerdo con el Ejemplo 32. (500 MHz, $\text{d}_6\text{-DMSO}$)

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

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

Descripción detallada de la Invención

La presente invención se relaciona con los depsipéptidos cíclicos, que tienen la estructura de la fórmula (I):



20 en donde un enlace éster se encuentra entre el grupo carboxilo de A7 y el grupo hidroxilo de A2,

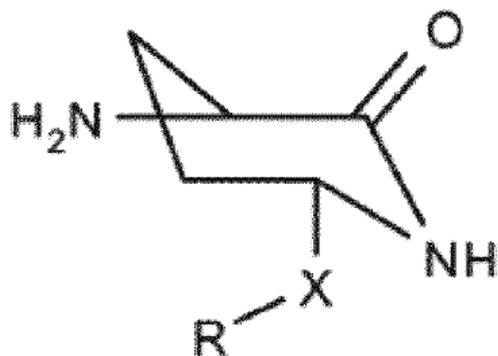
en donde el residuo acilo X es $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CO}$ o $(\text{CH}_3)_2\text{CHCO}$,

A₁ es glutamina, ácido glutámico, o un derivado del mismo, seleccionado de nitrilo glutámico, ácido glutámico alquil éster de 1 a 12 átomos de carbono o aril éster de 6 a 24 átomos de carbono de ácido glutámico,

A₂ es treonina,

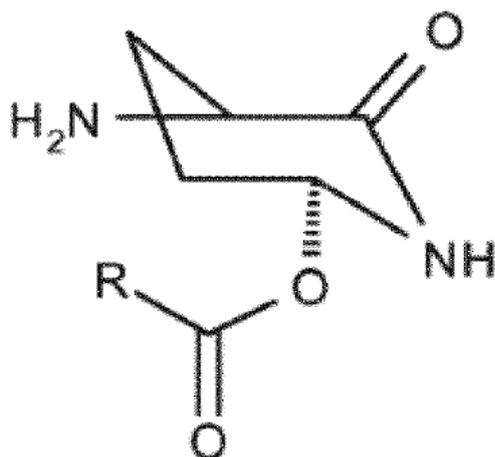
25 A₃ es leucina,

A₄ es Ahp, 3-amino-piperidin-2-ona, prolina, 5-hidroxi-prolina o un derivado del mismo, seleccionado de 3-amino-3,4-dihidro-1H-piridin-2-ona



Ahp-I

X = O o enlace



Ahp-II

5 en donde R es seleccionado del grupo que consiste en alquilo de 1 a 12 átomos de carbono, alqueno de 2 a 12 átomos de carbono, alquino de 2 a 12 átomos de carbono, haloalquilo de 1 a 12 átomos de carbono, alcoxilo (con de 1 a 12 átomos de carbono) alquilo (con de 1 a 12 átomos de carbono), alcoxilo (con de 2 a 12 átomos de carbono) alcoxialquilo (con de 1 a 12 átomos de carbono) de 1 a 12 átomos de carbono, hidroxialquilo de 1 a 12 átomos de carbono, fenilo y fenilo alquilo de 1 a 6 átomos de carbono.,

A₅ es isoleucina,

10 A₆ es tirosina, N-Me-tirosina o un derivado del mismo, seleccionado de N-Me-tirosina donde el grupo OH de la tirosina o N-Me-tirosina es OR, en donde R es seleccionado del grupo que consiste en alquilo de 1 a 12 átomos de carbono, alqueno de 2 a 12 átomos de carbono, alquino de 2 a 12 átomos de carbono, haloalquilo de 1 a 12 átomos de carbono, haloalqueno de 2 a 12 átomos de carbono, haloalquino de 2 a 12 átomos de carbono, alcoxycarbonilo de 1 a 12 átomos de carbono, alcoxilo (con de 1 a 12 átomos de carbono) carbonilo alquilo, alquilaminocarbonilo de 1 a 12 átomos de carbono, en donde las fracciones de alquilo, alqueno y alquino de los grupos R pueden estar no sustituidos o sustituidos además por arilo, arilalquilo de 2 a 12 átomos de carbono, arilalqueno de 2 a 12 átomos de carbono o arilalquino de 2 a 12 átomos de carbono, heterociclilo y heterociclilalquilo de 1 a 12 átomos de carbono,

A₇ es isoleucina o valina,

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo

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

En otra realización, A4 es Ahp y A5 es isoleucina, y el resto de las variables son como se definen en la

reivindicación 1.

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

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

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

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

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

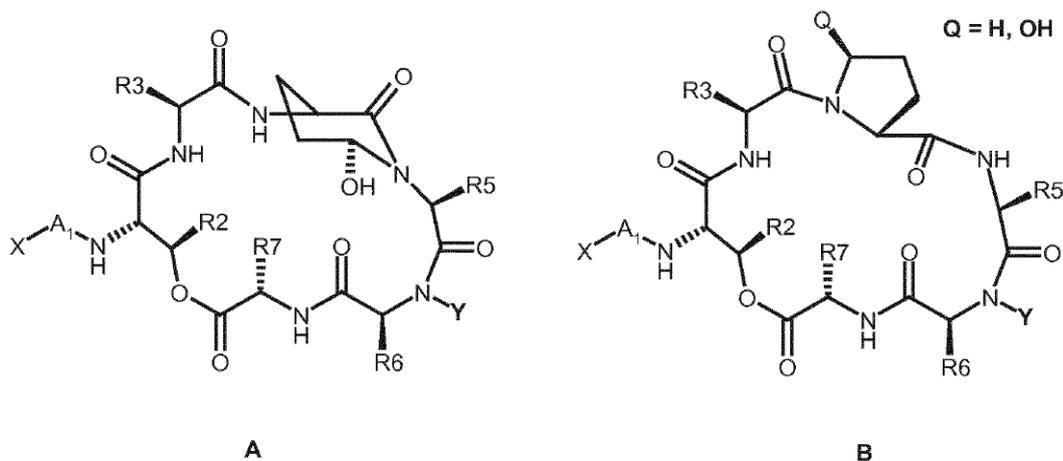
En otra realización, A4 es 5-hidroxi prolina, A5 y A7 son isoleucina, y el resto de las variables son como se definen en la reivindicación 1.

15 En una realización de los depsipéptidos cíclicos de la invención, el átomo de nitrógeno del enlace amida entre A₅ y A₆ es sustituido con un metilo y el grupo OH de la tirosina es OR, en donde R es seleccionado 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, alcocarbonilo de 1 a 12 átomos de carbono, alcoxilo (con de 1 a 12 átomos de carbono) carbonilo alquilo, alquilaminocarbonilo de 1 a 12 átomos de carbono, no sustituido o sustituido además por arilo, arilalquilo, arilalquenilo o arilalquinilo, heterociclilo y heterociclilalquilo.

En una realización de los depsipéptidos cíclicos de la invención A₁ es ácido glutámico, o un derivado del mismo seleccionado de nitrilo glutámico, éster de ácido glutámico seleccionado de alquil éster de 1 a 12 átomos de carbono o aril éster de 6 a 24 átomos de carbono.

25 La presente invención también se relaciona con los depsipéptidos cíclicos para uso 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, cicatrices 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 tal como enfermedad inflamatoria del intestino y enfermedad de Crohn, así como pancreatitis.

30 Un depsipéptido de la reivindicación 1, que es un compuesto de acuerdo con las fórmulas A o B,



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

35 R2 es metilo,

R3 la cadena lateral de leucina,

R5 es la cadena lateral del aminoácido isoleucina,

R6 es la cadena lateral de tirosina opcionalmente derivado en su grupo hidroxilo como se define en la reivindicación 2, R7 es la cadena lateral del aminoácido isoleucina o valina,

Y es ya sea hidrógeno o un metilo.

- 5 El depsipéptido cíclico de cualquiera de las reivindicaciones 1-6 en donde A₁, A₂, A₃, A₅, A₆ y A₇ son L-aminoácidos.

El depsipéptido cíclico de cualquiera de las reivindicaciones 1-7 en donde A₄ es 3S,6R Ahp.

Una composición farmacéutica que comprende un depsipéptido cíclico de la invención junto con un vehículo y/o ingrediente farmacéuticamente aceptable.

- 10 El depsipéptido cíclico de la invención para uso como un medicamento.

En una realización, la presente invención se refiere a depsipéptidos cíclicos de la invención para uso en un método de tratamiento de un sujeto que sufre de enfermedades inflamatorias y/o hiperproliferativas y pruríticas de la piel tales como queloides, cicatrices hipertróficas, acné, dermatitis atópica, psoriasis, psoriasis pustular, rosácea, síndrome de Netherton u otras dermatosis pruríticas tales como prurigo nodularis, picazón no especificada de los ancianos, así como otras enfermedades con disfunción de la barrera epitelial tales como piel envejecida, enfermedad inflamatoria intestinal y enfermedad de Crohn, así como pancreatitis o de cáncer, en particular el cáncer de ovario, fibrosis quística (CF), enfermedad pulmonar obstructiva crónica (COPD), fibrosis pulmonar, síndrome de dificultad respiratoria del adulto, bronquitis crónica, enfisema hereditario, artritis reumatoide, IBD, psoriasis y asma.

- 15 20 En una realización, la presente invención se relaciona con los depsipéptidos cíclicos de la invención para uso en un método para el tratamiento de sujetos que sufren de enfermedades de la piel inflamatorias y/o hiperproliferativas y pruríticas tales como queloides, cicatrices 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 adulta, bronquitis crónica, enfisema hereditario, artritis reumatoide, IBD, soriasis, asma.

- 25 30 En una realización, la presente invención se relaciona con los depsipéptidos cíclicos de la invención para uso en un método para el tratamiento de un sujeto, en donde el sujeto sufre de queloides, cicatrices 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.

- 35 En una realización, la presente invención se refiere a depsipéptidos cíclicos de la invención para uso en un método de tratamiento de un sujeto en el que el sujeto padece queloides, cicatrices hipertróficas, acné, dermatitis atópica, psoriasis, psoriasis pustular, rosácea, síndrome de Netherton u otras dermatosis pruriginosas tales como prurigo nodularis, picazón no especificada de los ancianos, así como otras enfermedades con disfunción de la barrera epitelial, como piel envejecida.

- 40 En una realización, la presente invención se refiere a depsipéptidos cíclicos de la invención para uso en un método de tratamiento de un sujeto, en donde el sujeto sufre de fibrosis quística (CF), enfermedad pulmonar obstructiva crónica (COPD), fibrosis pulmonar, Síndrome de dificultad respiratoria del adulto, bronquitis crónica, enfisema hereditario, artritis reumatoide, IBD, psoriasis, asma.

- 45 En una realización, la presente invención se refiere a un procedimiento para producir el depsipéptido cíclico de la invención que comprende el cultivo de *Chondromyces crocatus* (DSM 19329), una variante o un mutante del mismo, en un medio adecuado, y opcionalmente derivación química del depsipéptido cíclico así producidos.

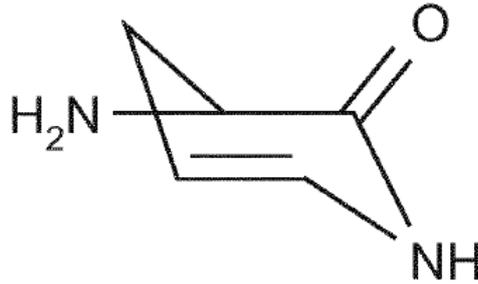
- 50 En una realización, la presente invención se refiere a un procedimiento para producir el depsipéptido cíclico de la invención que comprende expresar los genes de biosíntesis de *Chondromyces crocatus* (DSM 19329), una variante o mutante del mismo, en una cepa huésped microbiana heteróloga, y opcionalmente derivación química del depsipéptido cíclico así producido. En una realización, la presente invención se refiere a un microorganismo de *Chondromyces* aislado que produce el depsipéptido cíclico de la invención, depositado bajo el número de acceso DSM 19329.

En una realización, la presente invención se refiere a un depsipéptido cíclico de la invención producido por el

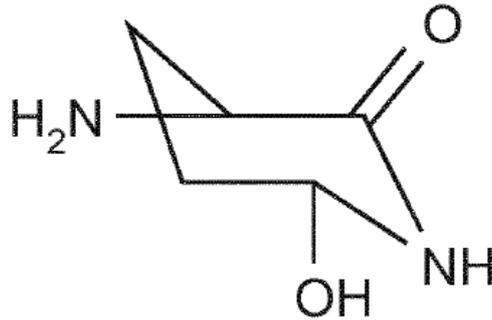
microorganismo *Chondromyces* aislado en donde la cepa es *Chondromyces crocatus* (DSM 19329) obtenido por un proceso que comprende expresar los genes de biosíntesis de *Chondromyces crocatus* (DSM 19329), una variante o un mutante del mismo, en una cepa huésped microbiana heteróloga, y opcionalmente derivación química del depsipéptido cíclico así producido.

5 En una realización, la presente invención se refiere a un procedimiento para la preparación de un depsipéptido cíclico de la invención que comprende alternativamente

a) - la preparación de un depsipéptido cíclico de la invención en donde A4 es



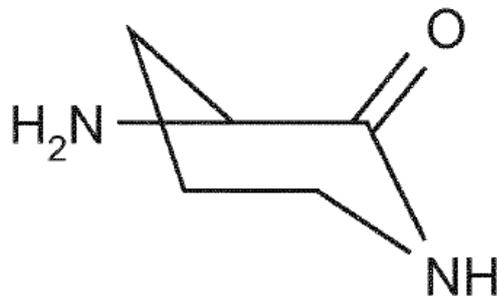
mediante tratamiento de un compuesto en donde A4 es



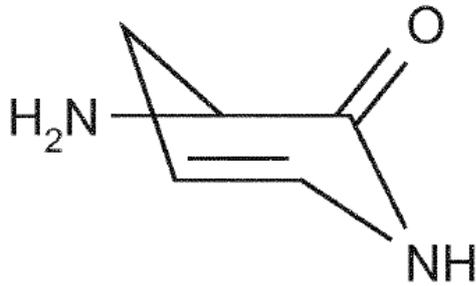
10

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 depsipéptido cíclico de la invención en donde A4 es

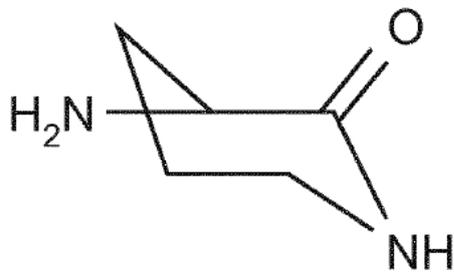


mediante tratamiento de un compuesto en donde A4 es



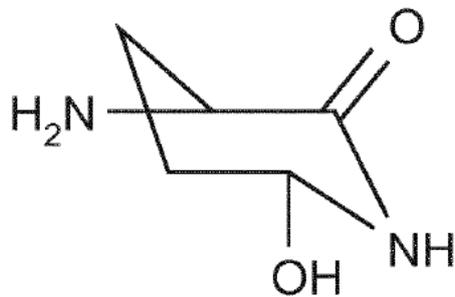
con hidrógeno molecular o fuente del mismo en presencia de un catalizador en un solvente a una temperatura entre -50 y 100 $^{\circ}\text{C}$;

c) - la preparación de un depsipéptido cíclico de la invención en donde A4 es



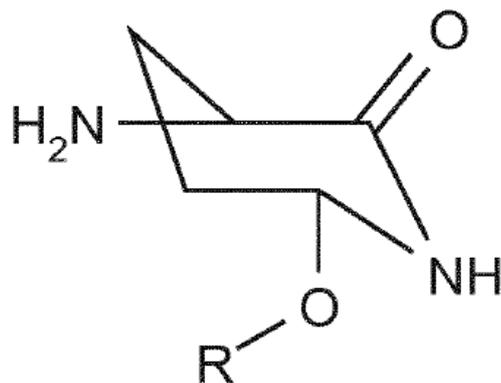
5

mediante tratamiento de un compuesto en donde A4 es

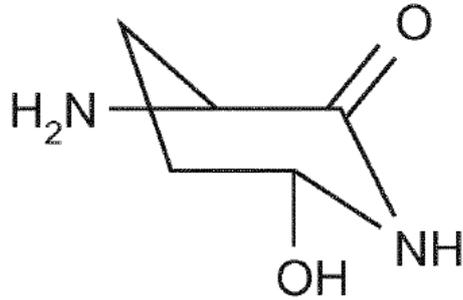


con un ácido orgánico o inorgánico o un ácido de Lewis, en presencia de un agente reductor a una temperatura entre -78 $^{\circ}\text{C}$ y 150 $^{\circ}\text{C}$; o

10 d) - la preparación de un depsipéptido cíclico de la invención en donde A4 es

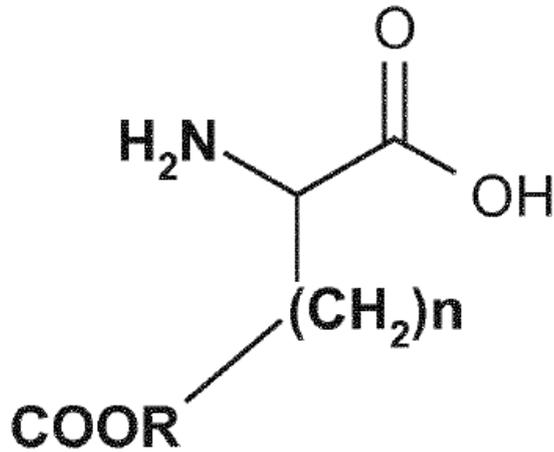


mediante tratamiento de un compuesto en donde A4 es

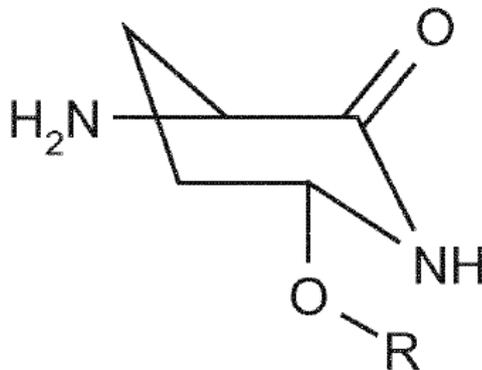


con un alcohol sustituido o no sustituido y un ácido orgánico o inorgánico, o un ácido de Lewis, a una temperatura entre -78 °C y 150 °C;

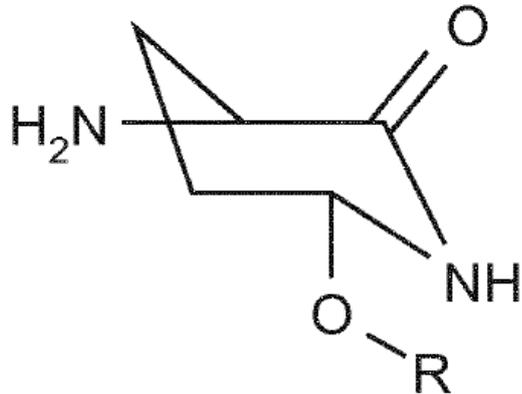
- 5 e) - la preparación de un depsipéptido cíclico de la invención en donde A1 es



en donde $n = 2$ y A4 es

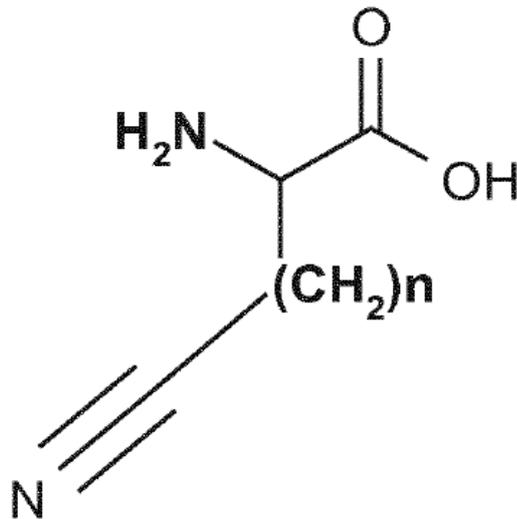


- 10 en donde R preferencialmente es H, alquilo, alquilo sustituido, mediante tratamiento de un compuesto en donde A1 es Gln y A4 es

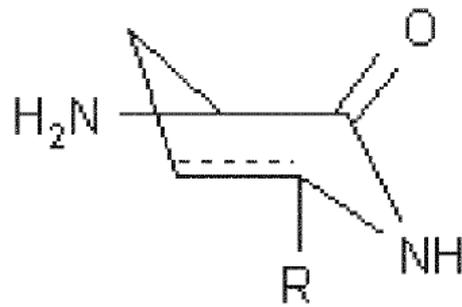


5 en donde R preferiblemente es H, alquilo, alquilo sustituido, con un alcohol sustituido o no sustituido y un ácido orgánico o inorgánico o un ácido de Lewis en un solvente o sin un solvente a una temperatura entre -78 °C y 150 °C;

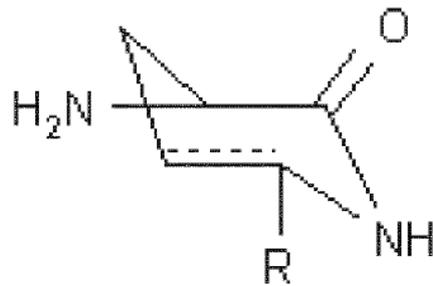
f) - la preparación de un depsipéptido cíclico de la invención en donde A1 es



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

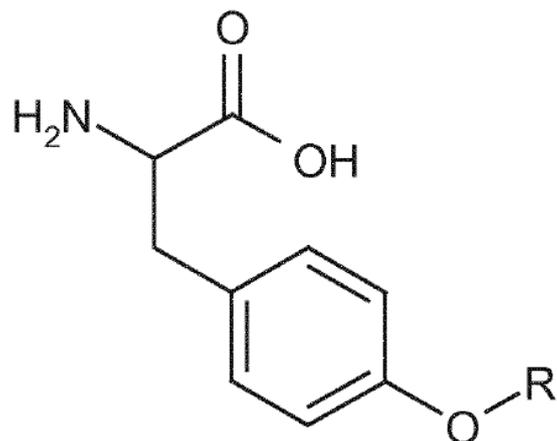


con un agente deshidratante en un solvente o sin un solvente a una temperatura entre -78 °C y 150 °C;
 g) - la preparación de un depsipéptido cíclico de la invención donde A4 es

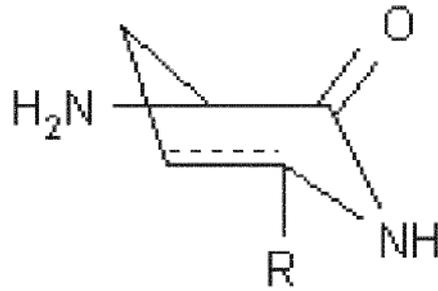


5

y A6 es



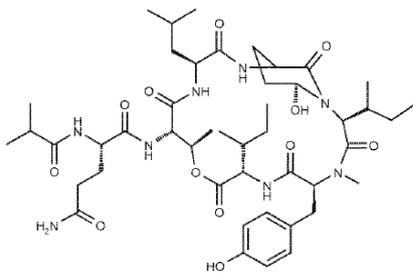
en donde R preferiblemente es alquilo, alquilo sustituido, acilo, alcóxicarbonilo mediante tratamiento de un compuesto en donde A4 es



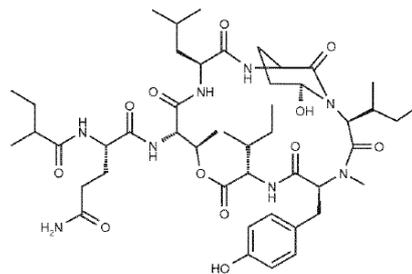
y A_6 es Tyr, con un agente alquilante o un agente acilante en un disolvente o sin un disolvente a una temperatura entre $-78\text{ }^\circ\text{C}$ y $150\text{ }^\circ\text{C}$.

5 En una realización, la presente invención se refiere a un depsipéptido cíclico o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en particular y esencialmente como se describe en la descripción y/o los ejemplos de trabajo.

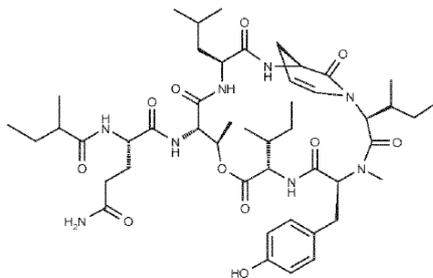
Realizaciones específicas de los depsipéptidos cíclicos de la invención son:



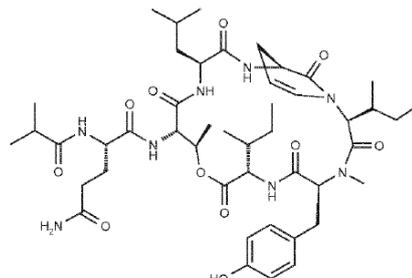
Fórmula (II)



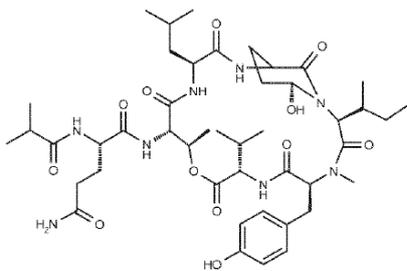
Fórmula (III)



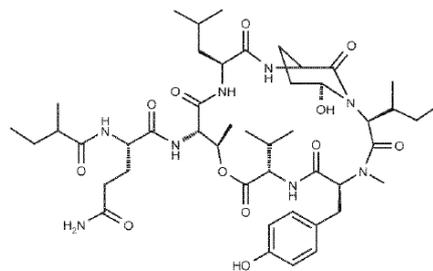
Fórmula (IV)



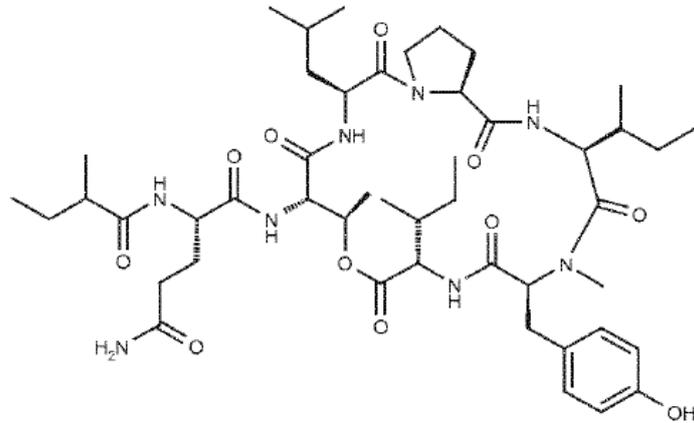
Fórmula (V)



Fórmula (VII)

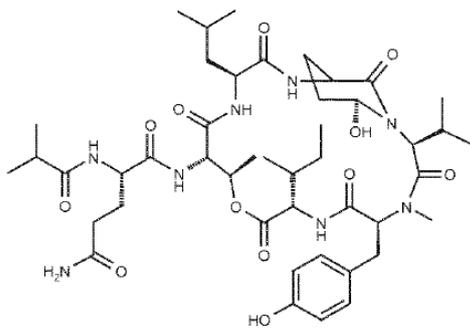


Fórmula (XI)

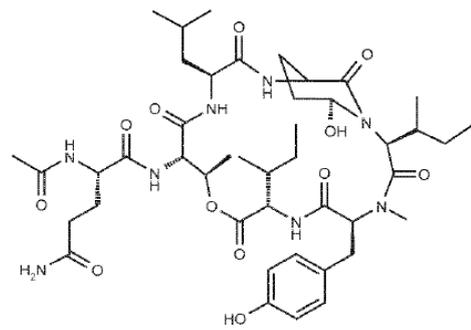


Fórmula (XIV)

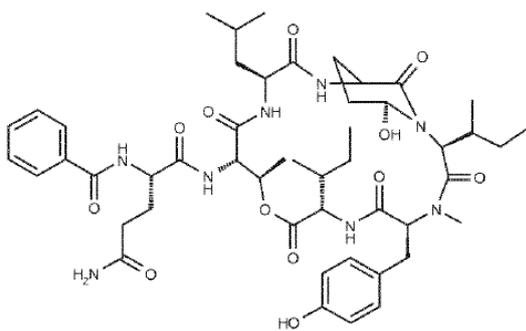
Otros depsipéptidos cíclicos específicos aquí descritos son:



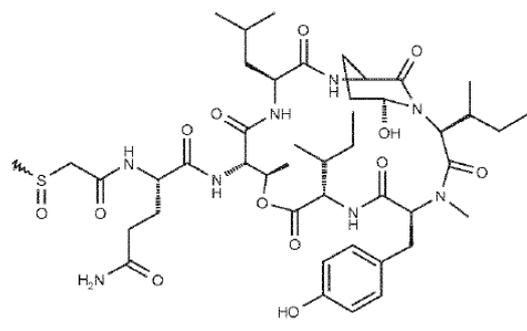
Fórmula (VI)



Fórmula (XII)



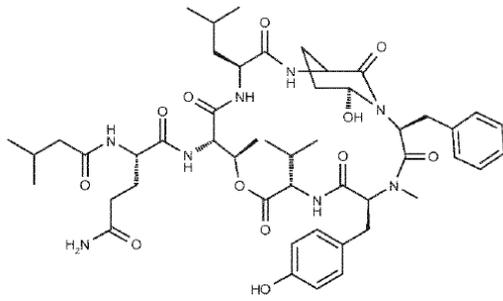
Fórmula (XIII)



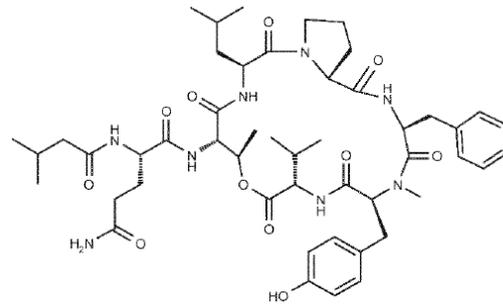
Fórmula (XVII)

5 Los depsipéptidos cíclicos de fórmula (II)-(VII), (XI)-(XIV) y (XVII) pueden ser producidos mediante la cepa de *Chondromyces crocatus* de la invención (DSM 19329).

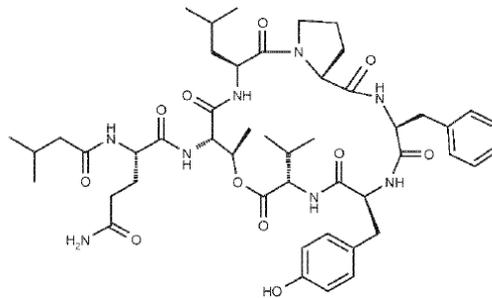
Otros depsipéptidos cíclicos específicos aquí descritos son:



Fórmula (VIII)



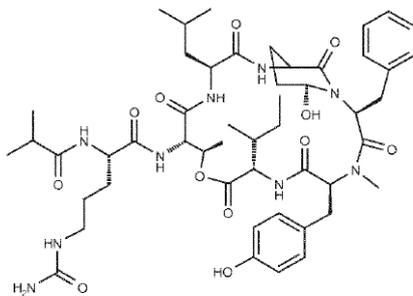
Fórmula (IX)



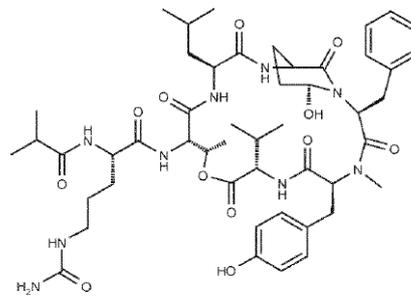
Fórmula (X)

Los depsipéptidos cíclicos de fórmula (VIII)-(X) pueden ser producidos por el *Chondromyces robustus* (DSM 19330).

Otros depsipéptidos cíclicos específicos aquí descritos son:



Fórmula (XV)



Fórmula (XVI)

5

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

Lista de Abreviaturas

Ahp	3-amino-6-hidroxi-2-piperidona
DSMZ	Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen GmbH
hK7	Caliceína humana 7
HPLC	Cromatografía líquida de alto rendimiento/presión
HTS	Selección de alto rendimiento

IC	Cultivo intermediario
ID	Identificación
MB	Mixobacteria
MC	Cultivo principal
PC	Precultivo
pO ₂	Presión parcial de oxígeno en estado de cultivo (100% = saturación con aire)
Rpm	Rotaciones por minuto
SCCE	Enzima quimotríptica del estrato córneo
SPEX	Extracción de fase sólida
Vvm	Índice de aireación (volumen de aire por volumen de cultivo y por minuto)

5 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.

10 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 enlaces. 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
15 átomos de carbono. Además para los grupos de hidrocarburo alifático, los grupos alifáticos incluyen, por ejemplo, polialcoxilalquilos, tales como polialquilenglicoles, poliaminas, y poli-iminas, por ejemplo. Estos grupos alifáticos se pueden sustituir adicionalmente.

20 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
25 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, --NO₂, --CN, --alquilo de 1 a 12 átomos de carbono opcionalmente sustituido por halógeno (tales como perhaloalquilos), alqueno de 2 a 12 átomos de carbono opcionalmente sustituido con halógeno, alquino de 2 a 12 átomos de carbono opcionalmente sustituido con halógeno, --NH₂, amino protegido, --NH--alquilo de 1 a 12 átomos de carbono, --NH--alqueno de 2 a 12 átomos de carbono, --NH--alquino 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--alqueno de 2 a 12 átomos de carbono, --O--alquino 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)--alqueno de 2 a 12 átomos de carbono, --C(O)--alquino 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--alqueno de 2 a 12 átomos de carbono, --CONH--alquino 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--alqueno de 2 a 12 átomos de carbono, --CO₂--alquino 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, --

5 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-heterocicloalquilo, --
 OCONH₂,--OCONH—alquilo de 1 a 12 átomos de carbono, --OCONH—alquenilo de 2 a 12 átomos de
 10 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, --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)-
 15 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, --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 de carbono,
 --NHC(O)NH-arilo, --NHC(O)NH-heteroarilo, --NHC(O)NH-heterocicloalquilo, NHC(S)NR₂, NHC(S)NH—alquilo
 20 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, --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 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, --
 25 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, --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
 30 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)-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
 35 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--cicloalquilo de 3 a 12 átomos de carbono, --NHSO₂-arilo, --NHSO₂-heteroarilo, --
 NHSO₂-heterocicloalquilo, --CH₂NH₂, --CH₂SO₂CH₃-arilo, -arilalquilheteroarilo, -heteroarilalquilo, -
 heterocicloalquilo, --C₃-C₁₂-cicloalquilo, polialcoxilalquilo, 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
 40 carbono, --S--cicloalquilo de 3 a 12 átomos de carbono, --S-arilo, --S-heteroarilo, -S-heterocicloalquilo, o
 metiltiometilo. Se entiende que 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
 45 a doce o de dos a seis átomos de carbono que tiene al menos un doble enlace 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,
 50 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
 un triple enlace 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,
 55 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
 60 que tiene uno o dos anillos aromáticos incluyendo, pero sin limitarse a, fenilo, naftilo, tetrahidronaftilo, indanilo,
 idenilo 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, -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, --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, -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 carbono, --C(O)--alquinilo de 2 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--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-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-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, --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)--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, --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 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, --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 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)--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--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)-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 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, --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 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 los arilos, heteroarilos, alquilos y similares se pueden sustituir adicionalmente.

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, fenitilo y similares.

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 tricíclico que tiene de 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

- 5 contenido dentro del anillo puede oxidarse 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 unido a la estructura química a través de un átomo de carbono o 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.
- 10 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, 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 alifáticos.
- 15 El término "heterocicloalquilo", como se usa en la presente, se refiere a un anillo de 5, 6 o 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 entre oxígeno, azufre y nitrógeno, (ii) cada anillo de 5 miembros tiene 0 a 1 enlace doble y cada anillo de 6 miembros tiene de 0 a 2 dobles enlaces, (iii) los heteroátomos de nitrógeno y azufre opcionalmente pueden estar oxidados, (iv) el heteroátomo de nitrógeno opcionalmente puede ser cuaternizado, (v) cualquiera de 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, piperidinilo, piperazinilo, oxazolidinilo, isoxazolidinilo, morfolinilo, tiazolidinilo, isotiazolidinilo, quinoxalinilo, piridazinonilo, y tetrahydrofurilo.
- 20 El término "heterocicloalquilo sustituido", como se usa en la presente, se refiere a un grupo heterocicloalquilo, como se definió 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 carbono. Los ejemplos incluyen, pero no se limitan a, piridinilmetilo, pirimidiniletilo y similares.
- 30 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, 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. Los ejemplos de alquilamino de 1 a 3 átomos de carbono incluyen, pero no se limitan a, metilamino, dimetilamino, etilamina, dietilamino, y propilamino.
- 35 El término "alquilamino" se refiere a un grupo que tiene la estructura --NH(alquilo de 1 a 12 átomos de carbono) en donde el alquilo de 1 a 12 átomos de carbono es como se definió previamente.
- 40 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 dialquilamino son, pero no se limitan a, dimetilamino, dietilamino, metiletilamino, piperidino, y similares.
- El término "alcoxicarbonilo" representa un grupo éster, es decir, un grupo alcoxilo, unido a la fracción molecular progenitora a través de un grupo carbonilo tal como metoxicarbonilo, etoxicarbonilo, y similares.
- 45 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.
- 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.
- 50 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 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 York (1999). Los ejemplos de los grupos de protección hidroxilo incluyen benciloxicarbonilo, 4-nitrobenciloxicarbonilo, 4-bromo-benciloxicarbonilo, 4-metoxibenciloxicarbonilo, metoxicarbonilo, ter-butoxicarbonilo, isopropoxicarbonilo, difenilmetoxicarbonilo, 2,2,2-tricloroetoxicarbonilo, 2-(trimetilsilil)etoxicarbonilo, 2-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-metoxibencilidifenilmetilo, trifenilmetil-(trietilo), tetrahidrofurilo, metoximetilo, metiltimetilo, benciloximetilo, 2,2,2-tricloroetoximetilo, 2-(trimetilsilil)-etoximetilo, metanosulfonilo, para-toluenosulfonilo, trimetilsililo, trietilsililo, tri-isopropilsililo, y similares. Los grupos de protección de hidroxilo preferidos para la presente invención son acetil (Ac o --C(O)C₃), benzoilo (Bn o --C(O)C₆H₅), y trimetilsililo (TMS o --Si(C₃)₃).

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-fluorenilmetoxicarbonilo, benciloxicarbonilo, 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 NH₂CHR₁COOH. El término aminoácido incluye aminoácidos estándares y aminoácidos no estándares.

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.

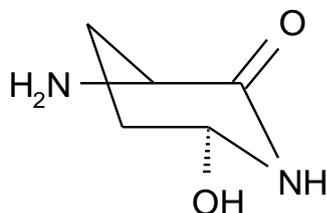
Un "aminoácido estándar que no es ácido aspártico" se selecciona entre el grupo que consiste de alanina, arginina, asparagina, cisteína, ácido glutámico, glutamina, glicina, histidina, isoleucina, leucina, lisina, metionina, fenilalanina, prolina, serina, treonina, triptofano, tirosina, y valina. En el caso de la glutamina o el ácido glutámico, un "derivado del mismo" es por ejemplo un nitrilo 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 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, homocisteína, dopamina o hidroxiprolina.

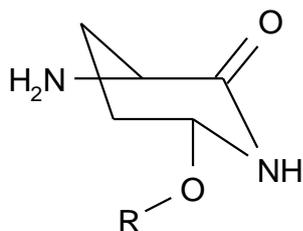
Los "aminoácidos estándares no básicos" son alanina, asparagina, ácido aspártico, cisteína, ácido glutámico, glutamina, glicina, isoleucina, leucina, metionina, fenilalanina, prolina, serina, treonina, triptofano, tirosina, y valina.

"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-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, alqueno de 2 a 12 átomos de carbono, alquino 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 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.

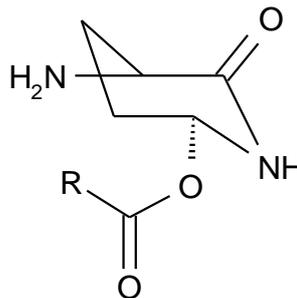
Diferentes miembros de esta familia de aminoácidos no estándares son:



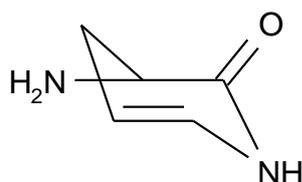
3-amino-6-hidroxi-piperidin-2-ona (Ahp)



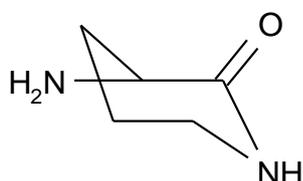
Ahp-I



Ahp-II



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



3-amino-piperidin-2-ona

El derivado de prolina incluye por ejemplo 5-hidroxi prolina.

- 5 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-alcoxilo, carbonato, O-carbonil-ariloxilo, O-carbonil-alquilamino, O-carbonil-arilamino, N-alquilo, N-dialquilo, N-trialquilamonio, N-acilo, N-carbonil-alcoxilo, N-carbonil-ariloxilo, N-carbonil-alquilamino, N-carbonil-arilamino, N-sulfonilalquilo, o N-sulfonilarilo.
- 10 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-alcoxilo, carbonato, O-carbonil-ariloxilo, O-carbonil-alquilamino, O-carbonil-arilamino, N-alquilo, N-dialquilo, N-trialquilamonio, N-acilo, N-carbonil-alcoxilo, N-carbonil-ariloxilo, N-carbonil-alquilamino, N-carbonil-arilamino, N-sulfonilalquilo, o N-sulfonilarilo.
- "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.
- 15 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 12 átomos de carbono, alqueno de 2 a 12 átomos de carbono, alquino de 2 a 12 átomos de carbono, haloalquilo de 1 a 12 átomos de carbono,
- 20 haloalqueno de 2 a 12 átomos de carbono, haloalquino de 2 a 12 átomos de carbono, alcoxycarbonilo de 1 a 12 átomos de carbono, alcoxycarbonilo de 1 a 12 átomos de carbono-alquilo de 1 a 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.

"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 bien conocidos en la técnica.

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 crocatus* (DSM 19329) 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 amoniaco 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.

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.

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 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 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 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 inhibidores de la calicreína 7.

Un "inhibidor" es un depsipéptido cíclico que inhibe una reacción enzimática con una medición IC_{50} menor de 100 μ M, por ejemplo 50 μ M, 30 μ M, 20 μ M o 10 μ M. Particularmente se prefieren los depsipéptidos cíclicos con un IC_{50} menor de 30 μ M para la calicreína 7 humana, por ejemplo los depsipéptidos cíclicos con un IC_{50} menor de 10 μ M, 1 μ M, 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 μ M, 0.007 μ M, 0.005 μ M, respectivamente. El IC_{50} para la calicreína humana se puede medir 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 de sodio 50 a un pH de 5.6 que contiene 150 mM de NaCl y 0.05 % (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. Los compuestos de prueba se disuelven en 90 % (volumen/volumen) DMSO/agua y se diluyen en agua (que contiene 0.05 % (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,

5 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 IC₅₀ 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).

10 "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 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, 15 fibromialgia, lupus eritematoso sistémico, flebitis, tendinitis, salpullido, soriasis, acné, eczema, eczema seborreico facial, eczema de las manos, cara o cuello, infecciones del prepucio, pie de atleta, infecciones de fístulas, úlceras tóxicas infectadas, infecciones del ombligo del recién nacido, arrugas, escaras, queloides, furúnculos, verrugas, y comezón alérgica, hemorroides, heridas, infecciones de las heridas, heridas de quemaduras, una infección fúngica y un trastorno inmunológico que incluye una enfermedad autoinmune. 20 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), 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, 25 arterosclerosis, 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, 30 enfermedades de la piel inflamatorias y/o hiperproliferativas y pruríticas tales como queloides, cicatrices 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 quística (CF), enfermedad pulmonar obstructiva crónica (COPD), fibrosis pulmonar, síndrome de insuficiencia respiratoria de adulto, bronquitis crónica, enfisema hereditario, artritis reumatoide, IBD, soriasis, asma. En otra realización preferida, los depsipéptidos cíclicos de la invención se pueden usar para 35 tratar cáncer, en particular cáncer de ovario.

40 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, cicatrices 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 45 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.

50 Las enfermedades y trastornos que por lo tanto se pueden usar más preferiblemente para tratar o prevenir usando los depsipéptidos cíclicos de la invención incluyen queloides, cicatrices 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.

55 Las enfermedades y los trastornos que por lo tanto igualmente es preferible tratar o prevenir usando los depsipéptidos 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 reumatoide, IBD, soriasis, asma.

60 Las enfermedades y los trastornos que todavía más preferiblemente se tratan o previenen usando los depsipéptidos cíclicos de la invención incluyen queloides, cicatrices 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 quimiotriptica 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 % de los niños.

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 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).

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. 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 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, tratamiento con mutágenos químicos, exposición a fagos, selección de antibióticos y similares.

Los depsipéptidos de la presente invención se pueden biosintetizar mediante diversos 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 aproximadamente 9.0.

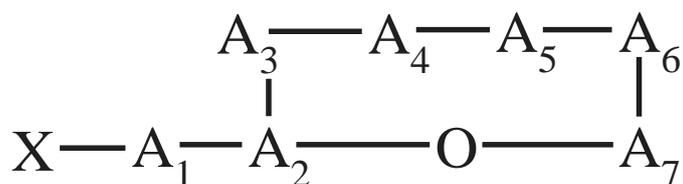
El medio de cultivo inoculado con los depsipéptidos que producen los microorganismos se puede incubar bajo condiciones aerobias usando, por ejemplo, un agitador giratorio o un fermentador de tanque agitado. La aireación se puede lograr mediante la inyección de aire, oxígeno o una mezcla gaseosa adecuada 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 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 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

5 conveniente tal como hexano, 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.

10 Como es usual en este campo, la producción así como la recuperación y el proceso de purificación se puede monitorizar 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.

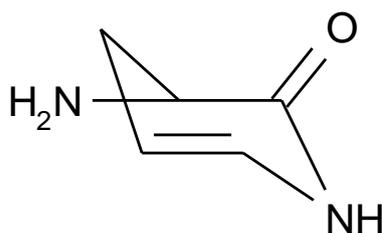
15 Los depsipéptidos biosintetizados por microorganismos opcionalmente se pueden someter a modificaciones químicas aleatorias y/o dirigidas para formar compuestos que son derivados o análogos estructurales. Estos derivados o análogos estructurales tienen actividades funcionales semejantes y están dentro del alcance de la presente invención. Los depsipéptidos opcionalmente se pueden modificar utilizando métodos muy conocidos en la técnica y descritos en la presente.

20 Por ejemplo, los derivados de los depsipéptidos de la invención se pueden preparar mediante la derivación de los depsipéptidos cíclicos de la fórmula

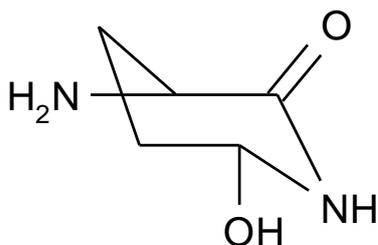


que comprende

a)- la preparación de los compuestos, en donde A4 es

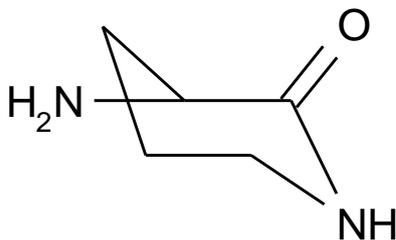


30 mediante el tratamiento de un compuesto en donde A4 es

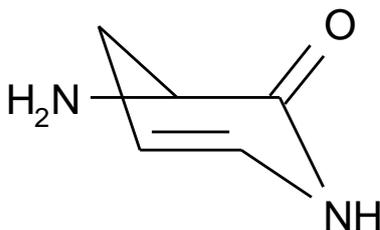


con un ácido orgánico o inorgánico, por ejemplo, ácido trifluoroacético, ácido sulfúrico, ácido clorhídrico, o un ácido de Lewis, por ejemplo, eterato de borotri fluoruro en un solvente, por ejemplo diclorometano, THF, o sin solvente a una temperatura entre -78°C y 150°C, de preferencia entre -30°C y la temperatura ambiente.

b)- la preparación de los compuestos, en donde A4 es

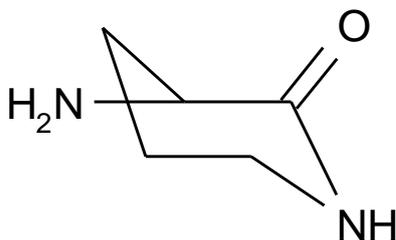


mediante el tratamiento de un compuesto en donde A4 es

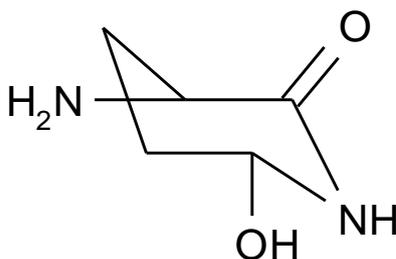


- 5 con hidrógeno molecular o una fuente del mismo, por ejemplo ciclohexeno, formiato de amonio, en presencia de un catalizador, por ejemplo paladio en un solvente, por ejemplo 2-propanol a una temperatura entre -50 y 100°C , de preferencia a temperatura ambiente.

c)- la preparación de los compuestos, en donde A4 es

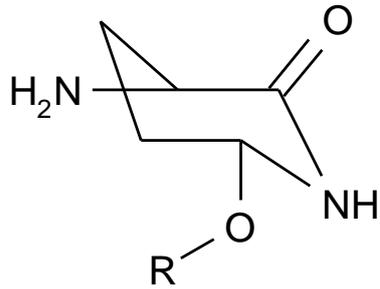


- 10 mediante el tratamiento de un compuesto, en donde A4 es

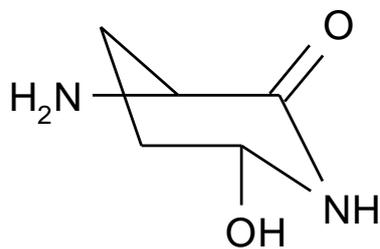


- 15 con un ácido orgánico o inorgánico, por ejemplo ácido sulfúrico, ácido clorhídrico o un ácido de Lewis, por ejemplo eterato de trifluoruro de boro en presencia de un agente reductor, por ejemplo trietilsilano, un solvente, por ejemplo diclorometano, THF, o sin un solvente a una temperatura entre -78°C y 150°C , de preferencia entre -50°C y la temperatura ambiente.

d)- La preparación de compuestos, en donde A4 es

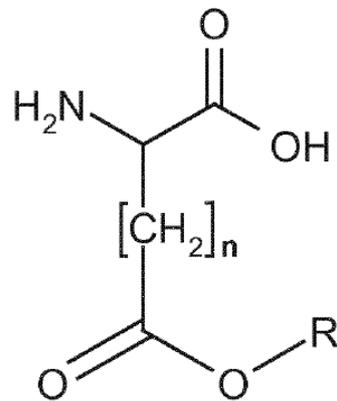


mediante el tratamiento de un compuesto en donde A4 es



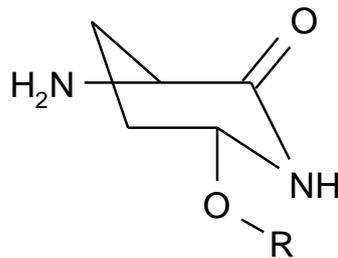
5 con un alcohol sustituido o no sustituido con un ácido orgánico o inorgánico, por ejemplo ácido trifluoroacético, ácido sulfúrico, ácido clorhídrico, o un ácido de Lewis, por ejemplo sales de metales en un solvente, por ejemplo alcoholes sustituidos y no sustituidos, THF, diclorometano, de preferencia 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 .

e)- La preparación de compuestos en donde A1 es

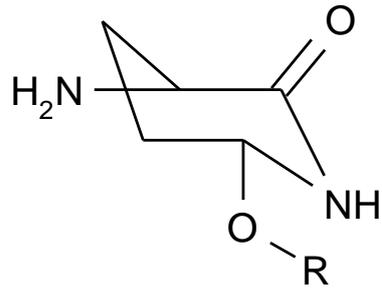


10

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

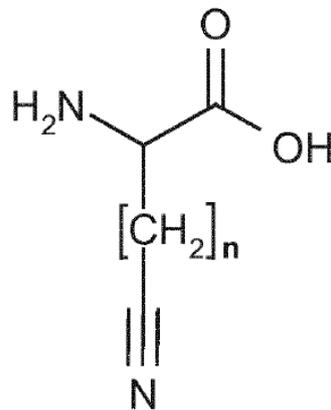


en donde R de preferencia es H, alquilo, alquilo sustituido, mediante el tratamiento de un compuesto en donde A1 es Gln o Asn y A4 es

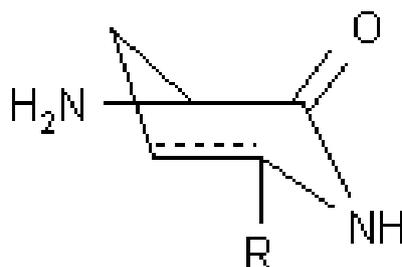


5 en donde R de preferencia es H, alquilo, alquilo sustituido, con un alcohol sustituido o no sustituido y un ácido orgánico o inorgánico, por ejemplo ácido trifluoroacético, ácido sulfúrico, ácido clorhídrico, o un ácido de Lewis, por ejemplo eterato de trifluoruro de boro en un solvente, por ejemplo 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.

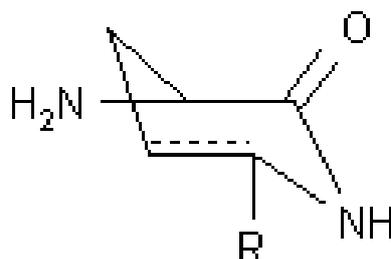
f)- La preparación de compuestos, en donde A1 es



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

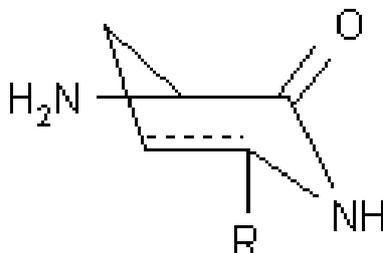


en donde R de preferencia es H, OH, O-alquilo, O-alquilo sustituido, O-acilo, mediante tratamiento de un compuesto en donde A1 es Gln o Asn y A4 es



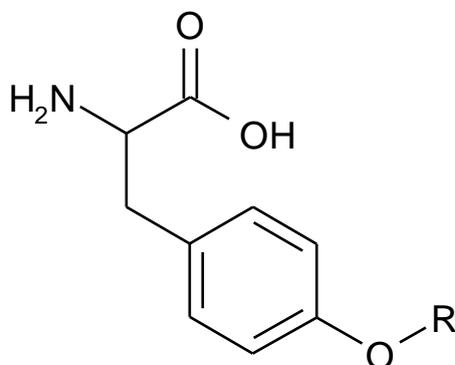
con un agente deshidratante, por ejemplo anhídrido de ácido trifluoroacético en presencia de una base, por ejemplo diisopropiletilamina (DIPEA), en un solvente, por ejemplo diclorometano o sin un solvente a una temperatura entre -78°C y 150°C , preferiblemente entre -30°C y la temperatura ambiente.

g)- La preparación de compuestos en donde A4 es

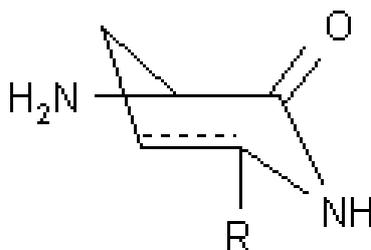


5

y A6 es



en donde R de preferencia es alquilo, alquilo sustituido, acilo, alcoxicarbonilo mediante el tratamiento de un compuesto en donde A4 es



10

y A6 es Tyr,

con un agente alquilante, por ejemplo yoduro de metilo, bromuro de bencilo, bromuro de proargilo o un agente acilante, por ejemplo cloroformiato 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.

15

A menos que se indique otra cosa, todos los números que expresan cantidades de ingredientes, propiedades tales como peso molecular, condiciones de la reacción, IC_{50} 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 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 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 posible. Cualquier valor numérico inherentemente puede contener ciertos errores resultantes de variaciones en los experimentos, mediciones de prueba, análisis estadísticos y así.

25

A menos que se defina otra cosa, todos los términos técnicos y científicos usados en la presente tienen el mismo significado que lo 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. 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.

Ejemplos

Ejemplo 1

Producción de los compuestos

10 Ejemplo 1.1.- Producción de los compuestos de fórmula (II)-(VII), (XI)-(XIV) y (XVII), en donde los compuestos de fórmula (VI), (XII) y (XVII) son ejemplos de referencia

Cepa: La cepa de *Chondromyces crocatus* se aisló de una muestra ambiental, de madera podrida de árbol de castaña, en los laboratorios de los solicitantes.

15 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)).

La cepa de *Chondromyces crocatus* de la invención ha sido depositada en el DSMZ bajo el número de acceso 19329.

25 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 % 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:

40 Los precultivos se iniciaron mediante la inoculación de 5 mililitros (=10 %) 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 %) 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 %) 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 %) 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 o 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.

55 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.

5 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".

10 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 % de ácido fórmico (solvente A), y acetonitrilo que contenía 0.1 % de ácido fórmico (solvente B) como solventes. El gasto fue de 50 mililitros/minuto. El gradiente se muestra en la Tabla 1. El material se purificó en 7 ciclos cromatográficas. De cada ciclo, 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 cíclico de acuerdo con la fórmula (II) con una pureza de >97 % y 80 miligramos con una pureza de 90 %.

20

Tabla 1

Gradiente de HPLC usado para la purificación del depsipéptido cíclico de acuerdo con la fórmula (II)		
Tiempo (min)	Solvente A (%)	Solvente 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

Tabla 2

Gradiente usado para la separación de fase normal			
Tiempo (min)	Ciclohexano (%)	Acetato de etilo (%)	Metanol (%)
0	75	25	0
10	75	25	0

Gradiente usado para la separación de fase normal			
Tiempo (min)	Ciclohexano (%)	Acetato de etilo (%)	Metanol (%)
33	25	75	0
56	20	70	10
79	0	50	50
93	0	50	50

5 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).

10 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).

15 Caracterización de los compuestos:

20 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 C₄₆H₇₂N₈O₁₂ + Na: 951.5162

25 RMN ¹H (600 MHz, d₆-DMSO) δ: -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).

30 RMN ¹³C (150 MHz) d₆-DMSO δ: 10.35, CH₃; 11.22, CH₃; 13.79, CH₃; 16.00, CH₃; 17.63, CH₃; 19.49, 2 x CH₃; 20.83, CH₃; 21.72, CH₂; 23.30, CH₃; 23.70, CH₂; 24.16, CH; 24.41, CH₂; 27.35, CH₂; 29.74, CH₂; 30.07, CH₃; 31.44, CH₂; 33.13, CH; 33.19, CH₂; 33.68, CH; 37.39, CH; 39.05, CH₂; 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

35 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 (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, 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, 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)

10 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

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, 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)

15

20

Datos físicos para el compuesto de fórmula (V)

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)

25

30

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 (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, 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 Hz), (OH de tirosina no visible)

35

40

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 (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, 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)

45

50

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) d₆-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)

10 ESI-MS: modo positivo: m/z = 927.5 (M+H), modo negativo: m/z = 925.5 (M-H); MW monoisotópico 926.5, C₄₇H₇₄N₈O₁₁

15 RMN ¹H (500 MHz) d₆-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)

20 Datos físicos del 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, C₄₅H₇₀N₈O₁₃S

25 RMN ¹H (600 MHz) d₆-DMSO δH:). δH: 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 de referencia 1.2: Producción del compuesto de fórmula (VIII, IX, X)

Cepa:

30 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 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 depositado en el DSMZ bajo el número de acceso 19330.

Cultivo:

40 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 %) de un cultivo líquido de la cepa 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 cada uno (=25 %) 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 %) del primer cultivo intermedio en un 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 %) 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 o 1.5N NaOH. Después de 14 días, el cultivo fue cosechado con un titulador de 3 miligramos/litro.

- 5 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".
- 10 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:

- 15 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 % de ácido fórmico (solvente A), y acetonitrilo que contenía 0.1 % 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 % 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 %) 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.
- 25
- 30 Otro depsipéptido cíclico de acuerdo con la fórmula (VIII) también se encontró a concentración menor en el extracto celular. 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			
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

Tabla 5

Gradiente de HPLC utilizado para la purificación del depsipéptido cíclico de acuerdo con la fórmula (VIII)		
Tiempo (min)	Solvente A (%)	Solvente 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 (ajustado a pH 7.0 con 50 mM HEPES)

Tabla 6

MD1 (medio de precultivo)	
Sustancia	Concentración [g/L]
Casitona	3
CaCl ₂ x 2 H ₂ O	0.5
MgSO ₄ x 7 H ₂ O	2
D(+)-Glucosa sin agua	1
Cianocobalamina	0.5 mg
Antiespumante B	0.2 mL
Solución de ferrioxamina [100 ng/mL]	1 mL

Tabla 7

POL1 (medio de producción)	
Sustancia	Concentración [g/L]
Proteína de patata	4
Almidón soluble	3
CaCl ₂ x 2 H ₂ O	0.5
MgSO ₄ x 7 H ₂ O	2
Cianocobalamina	0.25 mg
HEPES	12
Solución elemento de traza estándar 1901	1 mL
XAD16	35

Caracterización de los compuestos:

Datos físicos del compuesto de fórmula (VIII)

5 FT-MS (9.4 T APEX-III): Encontrado: 985.5007; calculado para C₄₉H₇₀N₈O₁₂ + Na: 985.5005.

10 RMN ¹H (600 MHz) d₆-DMSO δ: 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)

15 RMN ¹³C (150 MHz) d₆-DMSO δ: 17.13, CH₃; 17.63, CH₃; 19.32, CH₃; 20.90, CH₃; 21.64, CH₂; 22.34, CH₃; 22.34, CH₃; 23.32, CH₃; 24.10, CH; 25.63, CH; 27.63, CH₂; 29.30, CH₂; 30.37, CH₃; 30.86, CH; 31.52, CH₂; 32.83, CH₂; 35.33, CH₂; 38.98, CH₂; 44.42, CH₂; 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

Datos físicos para el compuesto de fórmula (IX)

20 FT-MS (9.4 T APEX-III): Encontrado: 969.5058; calculado para C₄₉H₇₀N₈O₁₁ + Na; 969.5056.

25 RMN ¹H (600 MHz) d₆-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), 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). (Señal de protón del grupo hidroxilo de 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.

- 5 RMN 1H (600 MHz) d_6 -DMSO δ): no asignación de cambios 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 de referencia 1.3: Producción de compuestos de fórmula (XV-XVI)

Cepa:

- 10 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)). *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,
- 15 son bacterias en forma de bastón gram-negativas con dos características que las distinguen de la 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.

- 20 Cultivo:

Los precultivos se iniciaron mediante la inoculación de 20 mililitros cada uno (=20 %) 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

25 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:

- 30 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
- 35 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 agua se descartaron.

Aislamiento del compuesto:

- 40 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, 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 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 10 μ m, 30x150 mm) usando 0.01 % de ácido fórmico (solvente A), y acetonitrilo que contenía 0.1 % de ácido fórmico (solvente B) como solventes. El gasto fue de 50 mililitros/minuto. El gradiente se muestra en la
- 45
- 50 Tabla 1. Para inyección, el material fue disuelto en a.6 mililitros MeOH/DMSO 1:1. Las fracciones recolectadas se 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
CaCl ₂ x 2 H ₂ O	0.5
MgSO ₄ x 7 H ₂ 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)

5

Tabla 9

M7/14 (medio de producción)	
Sustancia	Concentración [g/L]
Extracto de levadura	1
CaCl ₂ x 2 H ₂ O	1
MgSO ₄ x 7 H ₂ O	1
Almidón de patata	5
HEPES	12
Proteína de patata	5
D(+)-Glucosa sin agua	2

M7/14 (medio de producción)	
Sustancia	Concentración [g/L]
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), 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)

- 15 ESI-MS: modo positivo: m/z = 1004.4 (M+Na), modo negativo: m/z = 976.5 (M-H); MW monoisotópico 977.5, $C_{49}H_{71}N_9O_{12}$

- 20 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), 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 = 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)

- 25 **Ejemplo 2:** Determinación de la actividad biológica *in vitro*

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, se encuentra que los compuestos de la presente invención inhiben la actividad de calicreína 7 y la actividad HNE.

- 30 Los compuestos de la presente invención tienen valores IC_{50} entre 1 nM y 10 μ M como se determina en el siguiente ensayo:

Ejemplo 2.1: Actividad inhibidora de calicreína-7 *in vitro*

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 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 % (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 Oy, Finlandia) por medio de un pipetor de 96 canales CyBi-Well (CyBio AG, Jena, Alemania).

Instrumentación para mediciones FI

- 10 Para las mediciones de intensidad de fluorescencia (FI) se usó 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: fondo, se emplea un espejo dicróico apropiado. Los filtros ópticos y el espejo dicróico se compraron de TECAN. Los fluoróforos en cada pozo fueron excitados por tres destellos para su medición.

Determinación de valores IC₅₀

- 20 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 % (volumen/volumen) de DMSO/agua y se diluyeron en agua (que contiene 0.05 % (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 μM, 3 μM, 10 μM y 30 μM. Para cada ensayo, se añadieron 10 microlitros de agua/CHAPS (± 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 μM). 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 IC₅₀ 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 IC₅₀ como se indican en la tabla 11.

Tabla 10

	Depsipéptido cíclico de acuerdo con la fórmula (II)	Depsipéptido cíclico de acuerdo con la fórmula (III)
Enzima	IC ₅₀ μM	IC ₅₀ μM
hCalicreína7	0.001	0.0004

35

Tabla 11

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

ES 2 632 392 T3

Depsipéptido cíclico de acuerdo con la fórmula:	Elastasa de neutrófilo humano IC 50 [μM]	hCalicreína7 IC 50 [μM]
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
fórmula XIII	0.03	0.0007
fórmula XIV	2.7	0.2
fórmula XV	0.08	0.004
ejemplo 4	0.055	0.006
ejemplo 5	0.005	0.008
ejemplo 6	0.055	0.095
ejemplo 7	0.006	0.050
ejemplo 9	0.003	0.002
ejemplo 10	0.009	0.0035
ejemplo 11	0.012	0.006
ejemplo 12	0.006	0.0085
ejemplo 13	0.004	0.006
ejemplo 14	0.005	0.01
ejemplo 15	0.005	0.015

ES 2 632 392 T3

Depsipéptido cíclico de acuerdo con la fórmula:	Elastasa de neutrófilo humano IC 50 [μM]	hCalicreína7 IC 50 [μM]
ejemplo 16	0.005	0.015
ejemplo 17	0.0075	0.003
ejemplo 18	0.0025	0.005
ejemplo 19	0.0135	0.0065
ejemplo 20	0.008	0.0015
ejemplo 21	0.009	0.0025
ejemplo 22	0.04	0.006
ejemplo 23	0.003	0.005
ejemplo 24	0.004	0.007
ejemplo 25	0.0025	0.00375
ejemplo 26	0.0045	0.00085
ejemplo 27	0.02	0.003
ejemplo 28	0.03	0.0025
ejemplo 29	0.025	0.003
ejemplo 30	4.55	1.05
ejemplo 31	0.3	0.2
ejemplo 32	0.03	0.1
ejemplo 33	0.035	0.0045
ejemplo 34	0.005	0.004
ejemplo 35	0.003	0.0085

Depsipéptido cíclico de acuerdo con la fórmula:	Elastasa de neutrófilo humano IC 50 [μ M]	hCalicreína7 IC 50 [μ M]
ejemplo 36	0.0035	0.0085
ejemplo 37	0.0025	0.0045
ejemplo 38	0.0015	0.004
ejemplo 39	0.0035	0.0085
ejemplo 40	0.0025	0.0065
ejemplo 41	0.001	0.002
ejemplo 42	0.001	0.001
ejemplo 43	0.001	0.0002
ejemplo 44	0.009	0.0035
ejemplo 45	0.003	0.002
ejemplo 46	0.1	0.01
ejemplo 47	0.01	0.1

Ejemplo 2.2: Actividad inhibidora de HNE *in vitro*

Materiales y reguladores

5 La elastasa de neutrófilos humanos (número de catálogo SE563) se compra de Elastin Products Company, Inc. (EPC, Owensville, EUA). El polvo seco (pureza >95 % según el proveedor) se disuelve en 20 mM de regulador de acetato de sodio, pH 5.0, 50 % (volumen/volumen) glicerol, y se congela a -80°C en alícuotas.

10 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 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 % (peso/volumen) de CHAPS.

Todas las soluciones que contenían proteínas y péptidos se manejaron en tubos siliconizados (Life Systems Design, Merenschwand, Suiza).

15 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, Finlandia) por medio de un pipetor de 96 canales CyBi-Well (CyBio AG, Jena, Alemania).

Instrumentación para las mediciones de FI

- 5 Para las mediciones de la intensidad de fluorescencia (FI) se usó un lector Ultra Evolution (TECAN, Maennedorf, Suiza). El 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 dicroico apropiado. Los filtros ópticos y el espejo dicroico se compran en TECAN. Los fluoróforos en cada pozo se excitan mediante tres destellos por medición.
- 10 Los depsipéptidos cíclicos inhibieron la elastasa de neutrófilos humanos con los valores IC₅₀ como se indica en la Tabla 11.
- Además los depsipéptidos cíclicos inhibieron la quimotripsina humana con un IC₅₀ variante de 0.001 μM hasta 0.02 μM.
- 15 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 μM y alrededor de 0.0025 μM, 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.

- 20 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) > 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-[TEWL a las 3 horas – línea base TEWL]/[TEWL inmediatamente después del pelado – línea base TEWL]) x 100%.

Resultados:

- 30 Una sola aplicación del compuesto de prueba (el depsipéptido cíclico de acuerdo con la fórmula II) aceleró la reparación de barrera en un 57 % en comparación con la reparación en los ratones tratados con el solvente solamente (p < 0.05), Tabla 12.

Tabla 12

Animales	% recuperación en interrupción de barrera Media (valores DE), n: 4 animales por grupo)
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)

- 35 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 % de oxazolona el día 1 y se estimularon con 10 microlitros de oxazolona sobre la 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 % a 10 mM) y por 46 % a 30 mM de concentración ($p < 0.001$ contra los animales tratados con solvente (Tabla 13/14).

Tabla 13

Animales	Δ Media de Pesos auriculares (DE), n: 8 animales por grupo	% Inhibición de hinchazón inflamatoria Media \pm DE
Tratado con compuesto de prueba (el depsipéptido cíclico de acuerdo con la fórmula II) a 30 mM	15.3 (5.4)	46 \pm 7.5
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)		

5

Tabla 14

	% Inhibición de hinchazón inflamatoria	% Inhibición de hinchazón inflamatoria
	Concentración del compuesto de prueba	Concentración del compuesto de prueba
Compuesto de acuerdo con la fórmula	30 mM	10 mM
ejemplo 9	38	42
ejemplo 10	25	22
ejemplo 23	40	48

	% Inhibición de hinchazón inflamatoria	% Inhibición de hinchazón inflamatoria
	Concentración del compuesto de prueba	Concentración del compuesto de prueba
ejemplo 25	38	39
ejemplo 43	55	42

C) Prueba sobre la actividad antiinflamatoria en el modelo de cerdo de dermatitis alérgica de contacto (ACD)

5 Ocho días antes de la provocación de la ACD, 500 microlitros de 10 % 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 %) en sitios de prueba contralateral (cada uno de unos 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 10 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 descoloramiento lívido) (o	Enrojecimiento homogéneo	Endurecimiento pronunciado y elevado

15 Resultados: El tratamiento de los sitios de prueba afectados con ACD dos veces con una solución al 1 % del compuesto de prueba (el depsipéptido cíclico de acuerdo con la fórmula II) inhibió los cambios inflamatorios clínicos en 30 % ($p < 0.01$) y medida el enrojecimiento de la piel en 27 % ($p < 0.05$) (Tabla 16).

Tabla 16

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)
Tratado con placebo (solvente)	7.2 (1.9)	12.0 (2.5)
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

5 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 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 [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]⁺.

15 b) Procedimiento de dos pasos: A una solución de 1 gramo de 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 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 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]⁺.

25 El material crudo se disolvió en 400 mililitros de 2-propanol, 115 miligramos de Pd/C (10 %) se añadieron y la mezcla se 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-piperidin-2-ona.

Ejemplo 5: Derivación de un depsipéptido cíclico de la invención

30 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 %) 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]⁺.

35

De manera semejante, el tratamiento con el alcohol correspondientes proporcionó los siguientes compuestos:

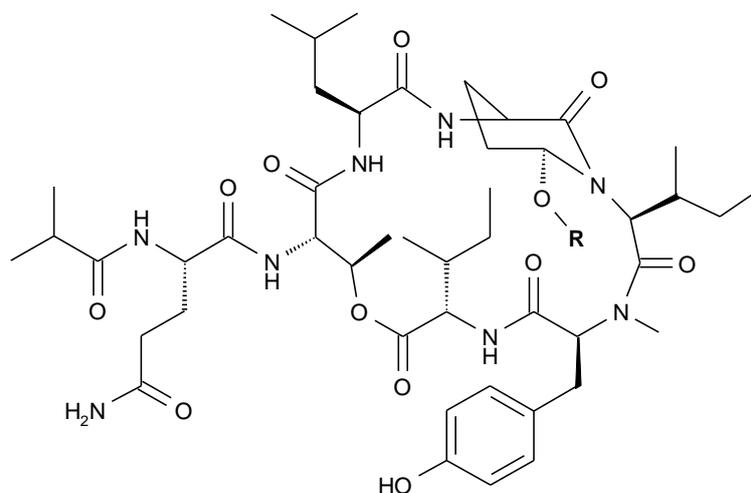


Tabla 17

Ejemplo	R	ESI MS [M+Na] ⁺
6	1-octilo	1063.41
7	2,2,2-trifluoroetilo	1033.30
8	2-propilo	993.43
9	bencilo	1041.16
10	etilo	979.22
11	1-butilo	1007.29
12	isobutilo	1007.35
13	2-metoxietilo	1009.31
14	2-hidroxietilo	995.28
15	2-(2-hidroxietoxil)etilo	1039.31
16	2-(2-metoxietoxi)etilo	1053.33
17	metilo	965.27

Ejemplo	R	ESI MS [M+Na] ⁺
18	Propargilo	989.21

Simultáneamente, los compuestos del siguiente tipo se obtuvieron bajo las mismas condiciones:

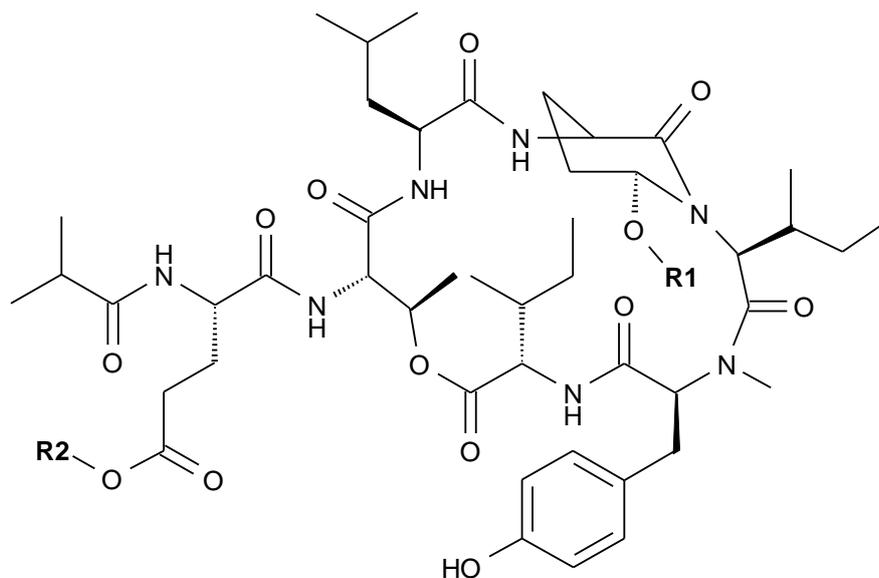


Tabla 18

Ejemplo	R1, R2	ESI MS [M+Na] ⁺
19	1-propilo	1136.33
20	Metilo	980.21

5

Ejemplo 21: Derivación de un depsipéptido cíclico de la invención

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 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 % MeOH). Producción: 14 miligramos (57 %) 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]⁺.

15 Similarmente, los compuestos del siguiente tipo se obtuvieron:

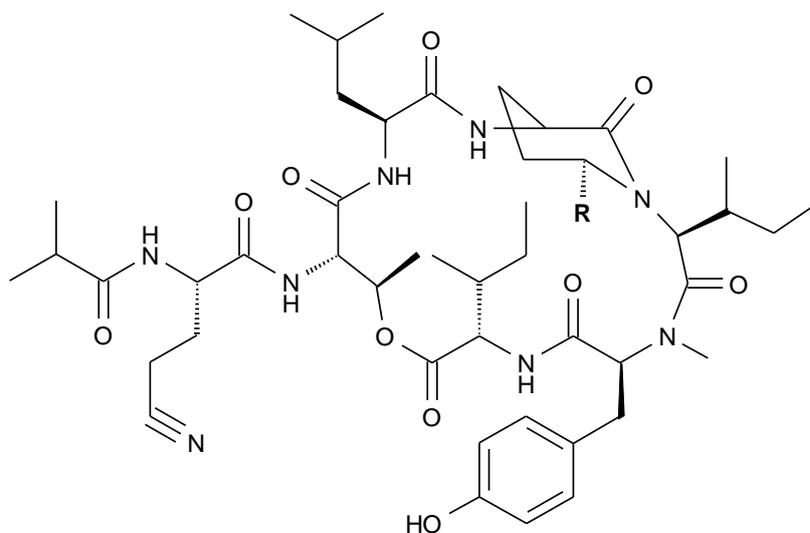


Tabla 19

Ejemplo	R	ESI MS [M+Na] ⁺
22	H	917.30
23	Etilo	961.20
24	1-propilo	975.29
25	Bencilo	1023.14

Ejemplo 26: Derivación de un depsipéptido cíclico de la invención

- 5 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 cloroformiato de hexilo se añadieron lentamente. La mezcla de la reacción se dejó calentarse a 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
- 10 secarse 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 % MeOH). Producción: 20 miligramos (70 %) 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]⁺.
- 15 Análogamente, usando un compuesto descrito en el Ejemplo 4 como material inicial, se obtuvieron los siguientes compuestos:

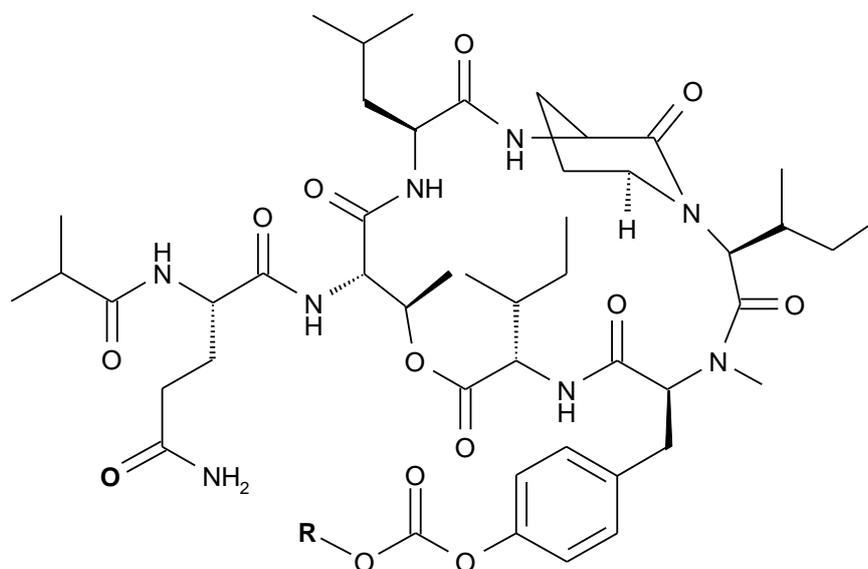
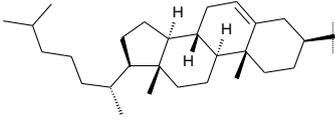


Tabla 20

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 de referencia		

Ejemplo 32: Derivación de un depsipéptido cíclico de la invención

- 5 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 K₂CO₃ 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 NH₄OAc acuoso: 20→95%). Producción: 100 miligramos (45 %) 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]⁺.
- 10

Análogamente, el tratamiento de los depsipéptidos cíclicos de acuerdo con el Ejemplo 4 o 5, con el agente alquilante apropiado, proporciona los siguientes compuestos:

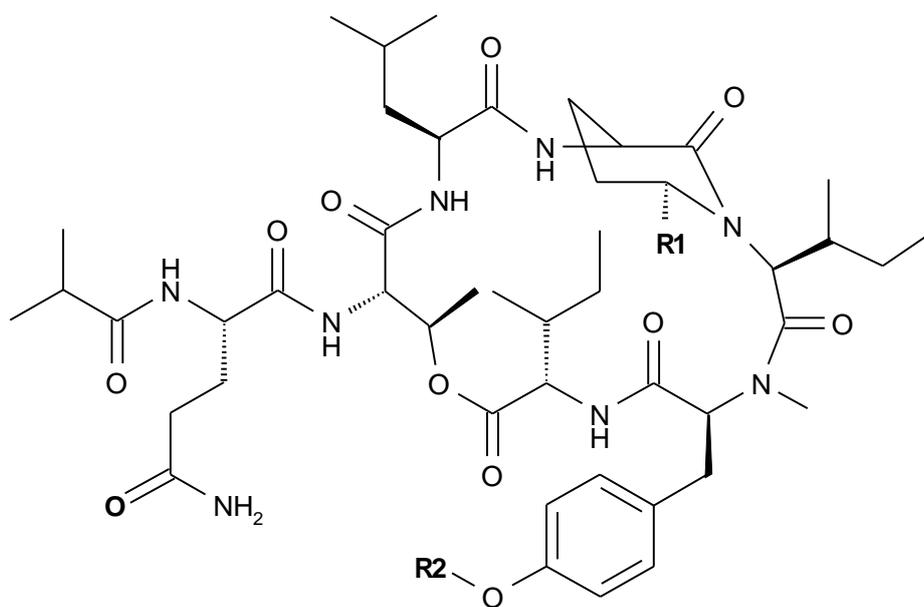


Tabla 21

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
40	Propoxi	Alilo	1033.37
41	Propoxi	Propargilo	1031.25

Ejemplo de referencia 42: Derivación de un depsipéptido cíclico de la invención

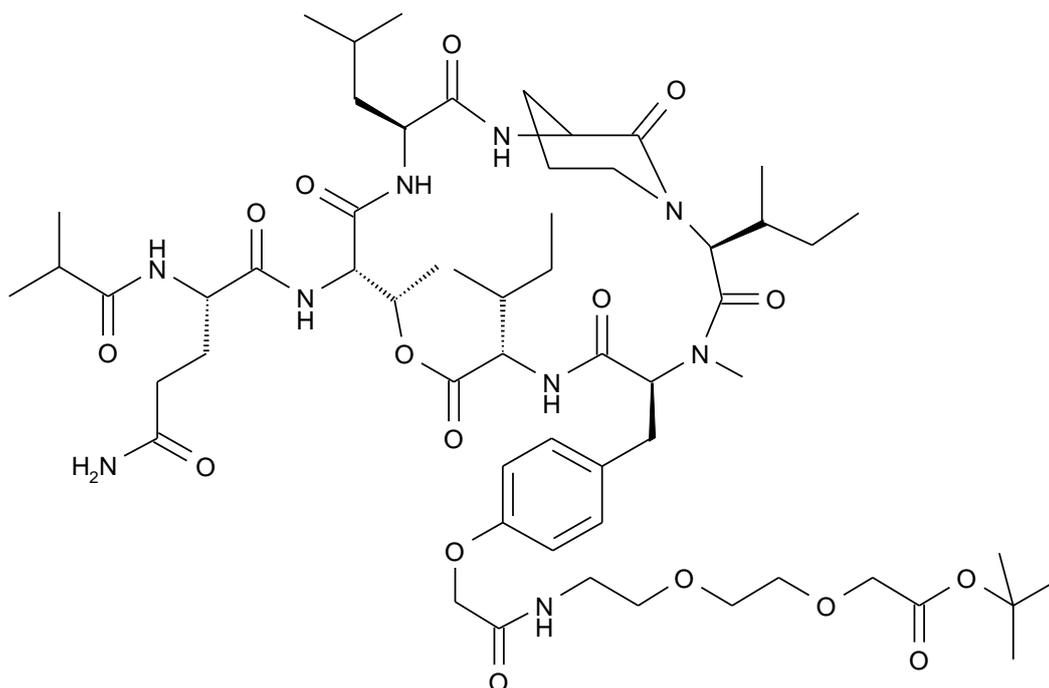
- 5 A una mezcla de 200 miligramos (0.21 mmol) de depsipéptido cíclico de acuerdo con el Ejemplo 5, se añadieron 46.5 miligramos (0.31 mmol) de yoduro de sodio, y 57.5 miligramos (0.41 mmol) de K₂CO₃ en 2 mililitros de acetona seca 44 miligramos (0.31 mmol) de 3-(clorometil)-1,5-dimetil-1H-pirazol y 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→95%). Producción: 90 miligramos (40.5 %) 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 de referencia 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 de referencia 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 NaHSO₄ saturada y NaHCO₃ y salmuera. 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→95 %). Producción: 7 miligramos (29 %) del compuesto del título. ESI MS: 1194.32 [M+Na]⁺.

Ter-butiléster de ácido 8-amino-3,6-dioxaoctanoico

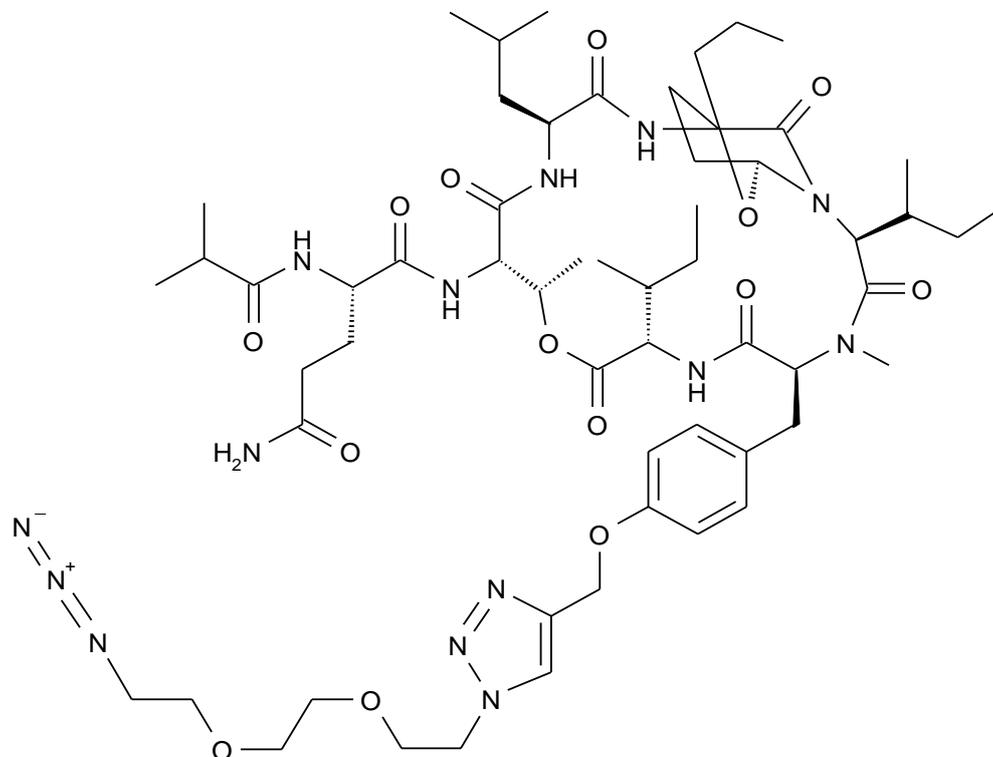
100 miligramos (0.226 mmol) de ter-butiléster del ácido 8-(9-fluorenilmetoxicarbonilamino)-3,6-dioxaoctanoico en 1 mililitro de DMF seco se trataron con piperidina (89.5 microlitros; 0.862 mmol) a temperatura ambiente durante 3 horas. El solvente se evaporó y el residuo se purificó mediante cromatografía sobre gel de sílice con un gradiente cHex→EtOAc→EtOAc/MeOH(1:1) + 3 % MeOH. Producción: 12 miligramos (24 %) del compuesto del título. ESI MS: 220.08 [M+H]⁺.

Ter-butiléster de ácido 8-(9-fluorenilmetoxicarbonilamino)-3,6-dioxaoctanoico

Una solución de 150 miligramos (0.389 mmol) del ácido 8-(9-fluorenilmetoxicarbonilamino)-3,6-dioxaoctanoico, 546 miligramos (9.73 mmol) isobutileno, y 4.3 microlitros de 95-98 % de H₂SO₄ se agitó a temperatura ambiente durante 3 días. Para 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

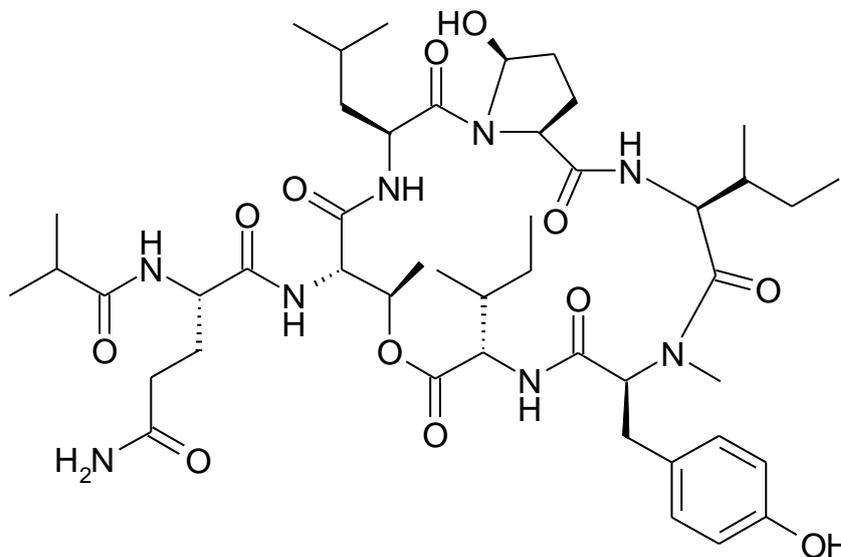
removió y el residuo obtenido se purificó mediante cromatografía en gel de sílice con gradiente cHex/EtOAc proporcionando 145 miligramos (84.4 %) del compuesto del título. ESI MS: 464.12 [M+Na]⁺.

Ejemplo de referencia 45: Derivación del depsipéptido cíclico de la invención



- 5 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 añadió y se agitó a 45°C durante 6 horas. Luego la mezcla de la reacción se lavó con una solución de NaH₂PO₄ saturada, se secó sobre sulfato de sodio, y el solvente se evaporó. El residuo obtenido se purificó mediante cromatografía (SiO₂; cHex/EtOAc (1:1) + 20 % MeOH) proporcionando 14 miligramos (11.7 %) del compuesto del título. ESI MS: 1231.34 [M+Na]⁺.
- 10

Ejemplo 46: Derivación de un depsipéptido cíclico de la invención



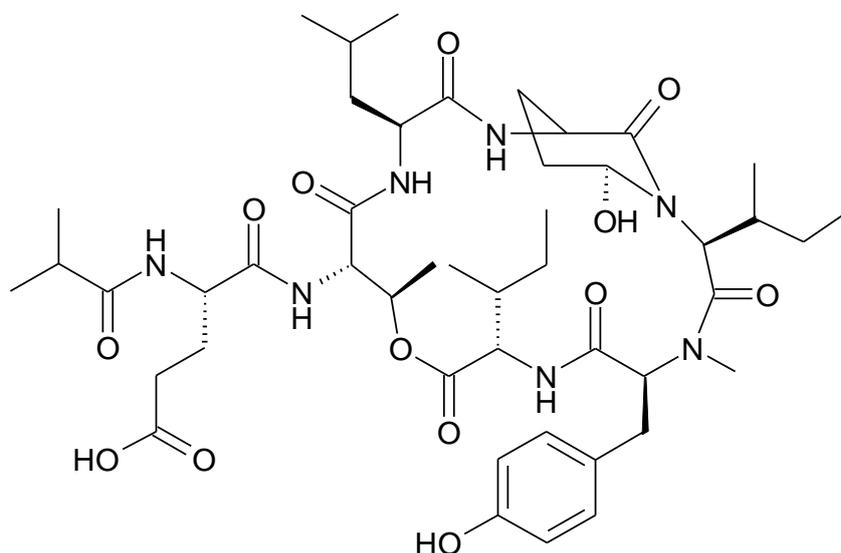
Una solución de 25 miligramos de depsipéptido de acuerdo con la fórmula (II) en 25 mililitro de agua se agitó a temperatura ambiente. En esta solución, se observó un pico adicional en el análisis HPLC, el cual forma un

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.

5 ESI-MS: modo positivo: $m/z = 951.5$ (M+Na), modo negativo: $m/z = 927.4$ (M-H); MW monoisotópico 928.5, $C_{46}H_{72}N_8O_{12}$

10 RMN 1H (600 MHz) d_6 -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).

15 **Ejemplo 47:** Derivación de un depsipéptido cíclico de la invención



20 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, $C_{46}H_{71}N_7O_{13}$

25 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

Referencias

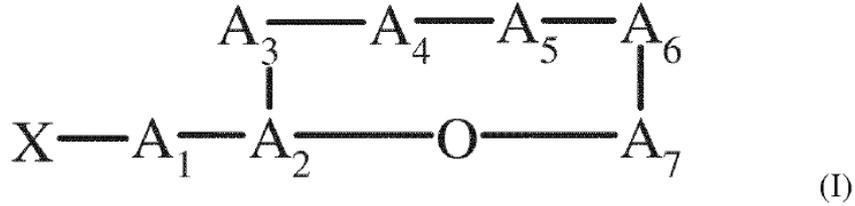
35 [Bode HB, Zeggel B, Silakowski B, Wenzel SC, Reichenbach H, Müller R (2003)] Steroid biosynthesis in prokaryotes: identification of myxobacterial steroids and cloning of the first bacterial 2,3(S)-oxidosqualene cyclase from the myxobacterium *Stigmatella aurantiaca*. *Mol Microbiol* 47:471-481.

[Das SK, Mishra AK, Tindall BJ, Rainey FA, Stackebrandt E (1996)] Oxidation 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.

- [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/>.
- 5 [Gerth K, Pradell A, Perlova O, y colaboradores, (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.
- 10 [Ishida K, Matsuda H, Murakami M, Yamaguchi K (1996)] The Absolute Stereochemistry of micropeptin 90. *Tetrahedron letters* 37:51-52.
- [Jacobi CA, Reichenback 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.
- [Jansen R, Kunse 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.
- 20 [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.
- 25 [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.
- 30 [Matern U, Schleberger C, Jelakovic S, Weckesser J, Schulz GE (2003)] Binding structure of elastase inhibitor scyptolin A. *Chemistry & Biology* 10:997-1001.
- [Rahid S, y colaboradores, (2006)] Molecular and biochemical studies of chondramide formation – highly cytotoxic natural products from *Chondromyces crocatus* Cm c5. *Chem & Biol* 14:667-681.
- 35 [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, 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.
- 40

REIVINDICACIONES

1. 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,

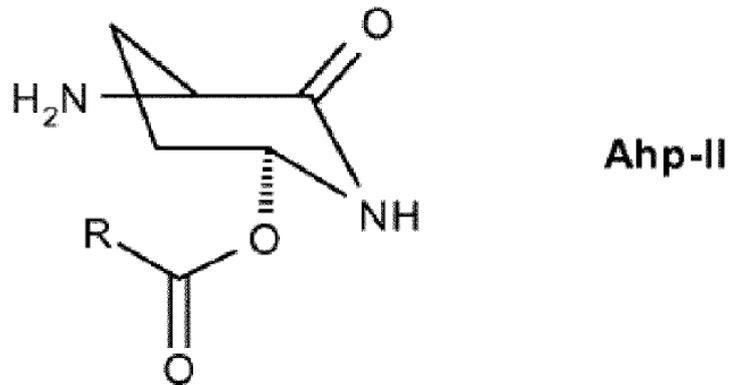
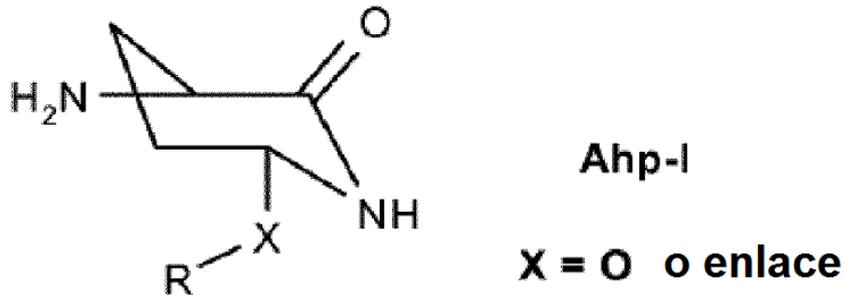
5 en donde el residuo acilo X es CH₃CH₂CH(CH₃)CO o (CH₃)₂CHCO,

A₁ es glutamina, ácido glutámico, o un derivado del mismo, seleccionado de nitrilo glutámico, éster de alquilo de 1 a 12 átomos de carbono de ácido glutámico o éster de arilo de 6 a 24 átomos de carbono de ácido glutámico,

A₂ es treonina,

10 A₃ es leucina,

A₄ es Ahp, en donde AHP es 3-amino-6-hidroxi-piperidin-2-ona, 3-amino-piperidin-2-ona, prolina, 5-hidroxi prolina o un derivado del mismo, seleccionado de 3-amino-3,4-dihidro-1H-piridin-2-ona,



15 en donde R es seleccionado del grupo que consiste en alquilo de 1 a 12 átomos de carbono, alqueno de 2 a 12 átomos de carbono, alquino de 2 a 12 átomos de carbono, haloalquilo de 1 a 12 átomos de carbono, alcoxilo (con de 1 a 12 átomos de carbono) alquilo (con de 1 a 12 átomos de carbono), alcoxilo (con de 2 a 12

átomos de carbono) alcoxialquilo (con de 1 a 12 átomos de carbono) de 1 a 12 átomos de carbono, hidroxialquilo de 1 a 12 átomos de carbono, fenilo y fenilo alquilo de 1 a 6 átomos de carbono.,

A₅ es isoleucina,

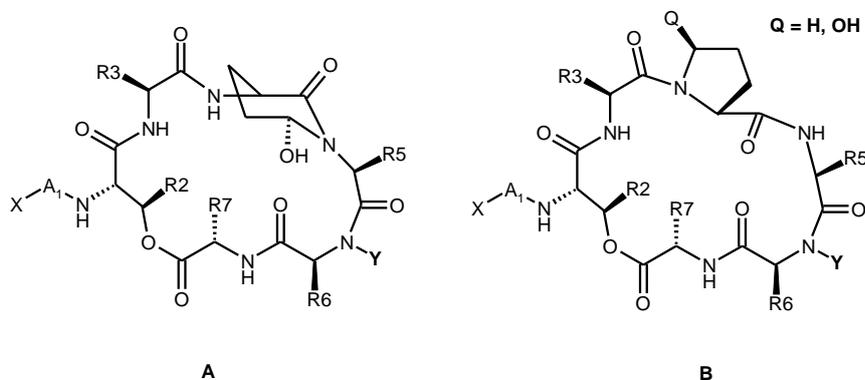
- 5 A₆ es tirosina, N-Me-tirosina o un derivado del mismo, seleccionado de N-Me-tirosina donde el grupo OH de la tirosina o N-Me-tirosina es OR, en donde R es seleccionado del grupo que consiste en alquilo de 1 a 12 átomos de carbono, alquenilo de 2 a 12 átomos de carbono, alquinilo de 2 a 12 átomos de carbono, haloalquilo de 1 a 12 átomos de carbono, haloalquenilo de 2 a 12 átomos de carbono, haloalquinilo de 2 a 12 átomos de carbono, alcocarbonilo de 1 a 12 átomos de carbono, alcóxilo (con de 1 a 12 átomos de carbono) carbonilo alquilo, alquilaminocarbonilo de 1 a 12 átomos de carbono, en donde las fracciones alquilo, alquenilo y alquinilo de los grupos R pueden estar no sustituidos o sustituidos adicionalmente por arilo, arilalquilo de 2 a 12 átomos de carbono, arilalquenilo de 2 a 12 átomos de carbono o arilalquinilo de 2 a 12 átomos de carbono, heterociclilo y heterocicilalquilo de 1 a 12 átomos de carbono, A₇ es isoleucina o valina,

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

- 15 2. 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, alcóxilo (con de 1 a 12 átomos de carbono) carbonilo, alcóxilo (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 heterocicilalquilo.

- 20 3. El depsipéptido cíclico de cualquiera de las reivindicaciones anteriores en donde A₁ es ácido glutámico, o un derivado del mismo seleccionado de nitrilo glutámico, éster de ácido glutámico seleccionado de alquil éster de 1 a 12 átomos de carbono o aril éster de 6 a 24 átomos de carbono

- 25 4. 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 metilo,

R₃ es la cadena lateral de leucina,

- 30 R₅ es la cadena lateral del aminoácido isoleucina,

R₆ es la cadena lateral de tirosina opcionalmente derivado en su grupo hidroxilo como se define en la reivindicación 2,

R₇ es la cadena lateral del aminoácido isoleucina o valina,

Y es ya sea hidrógeno o metilo.

- 35 5. El depsipéptido cíclico de la reivindicación 4 en donde

X es (CH₃)₂CHCO.

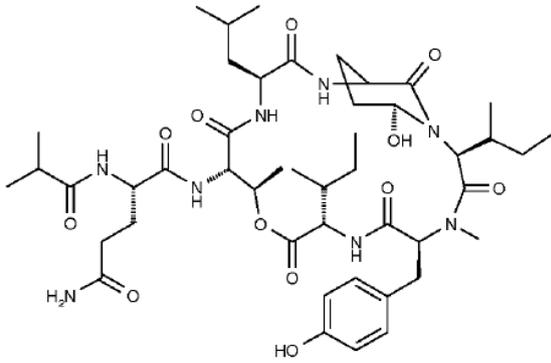
6. El depsipéptido cíclico de la reivindicación 4 en donde

R₇ es la cadena lateral del aminoácido isoleucina.

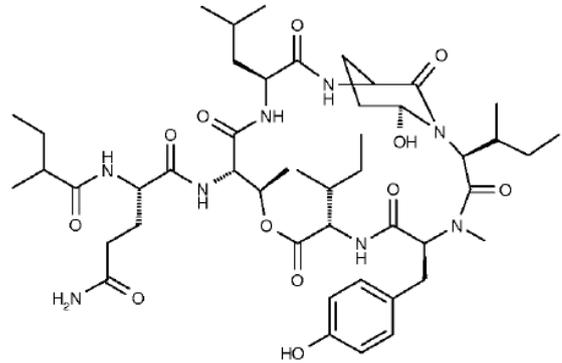
7. El depsipéptido cíclico de cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en donde A1, A2, A3, A5, A6 y A7 son aminoácidos L.

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

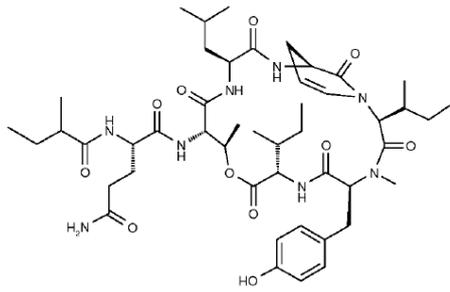
9. El depsipéptido cíclico de la reivindicación 1 seleccionado de



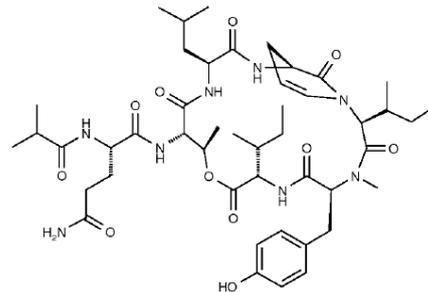
Fórmula (II)



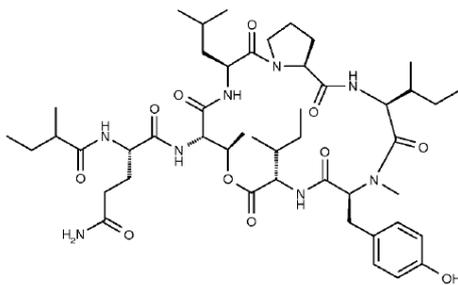
Fórmula (III)



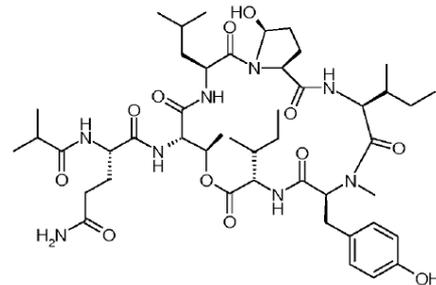
Fórmula (IV)



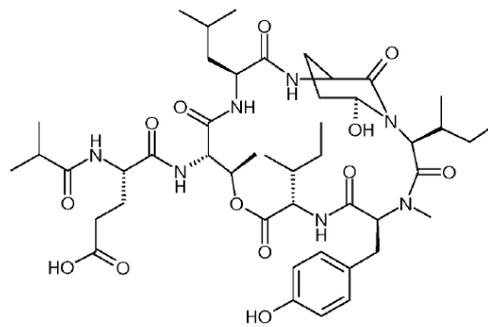
Fórmula (V)



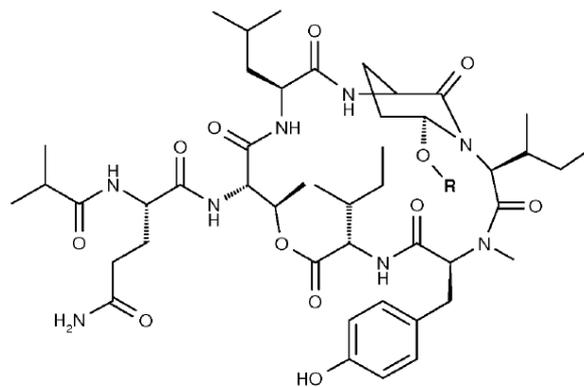
Fórmula (XIV)



Ejemplo 46

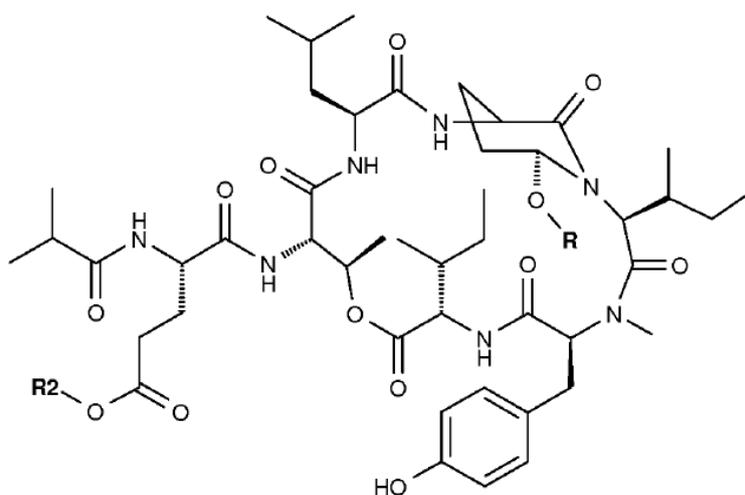


Ejemplo 47



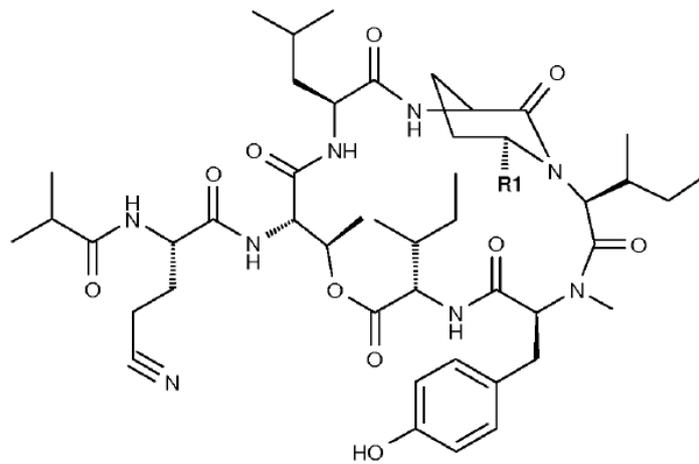
en donde R es seleccionado de:

Ejemplo	R
6	1-octilo
7	2,2,2-trifluoroetilo
8	2-propilo
9	bencilo
10	etilo
11	1-butilo
12	isobutilo
13	2-metoxietilo
14	2-hidroxietilo
16	2-(2-metoxietoxi)etilo
17	metilo
18	propargilo



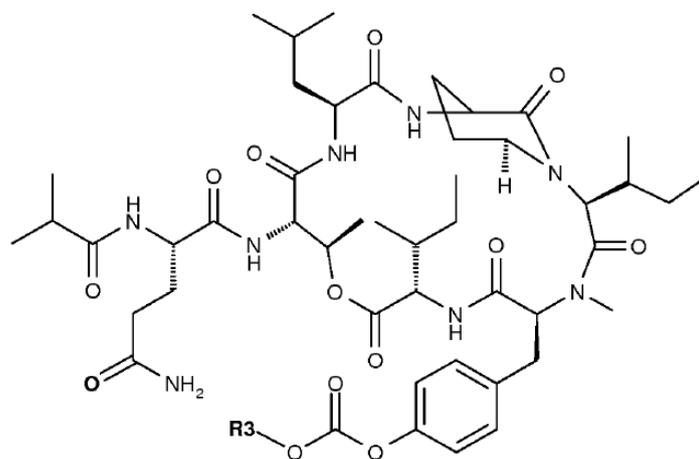
5 en donde R y R2 son seleccionados de:

Ejemplo	R, R2
19	1-propilo
20	metilo



en donde R1 es seleccionado de:

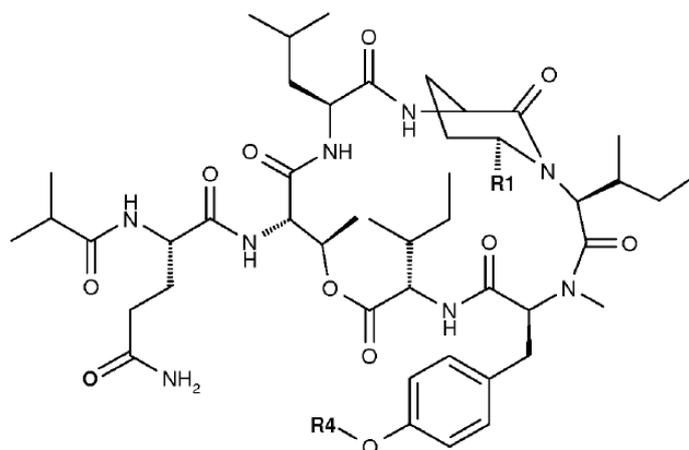
Ejemplo	R1
22	H
23	etilo
24	1-propilo
25	bencilo



5

en donde R3 es seleccionado de:

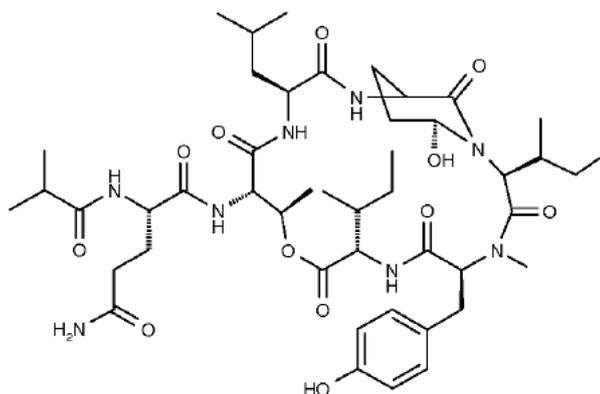
Ejemplo	R3
27	isobutilo
28	2-metoxietilo
29	etilo
31	1-octilo



en donde R1 y R4 son seleccionados de:

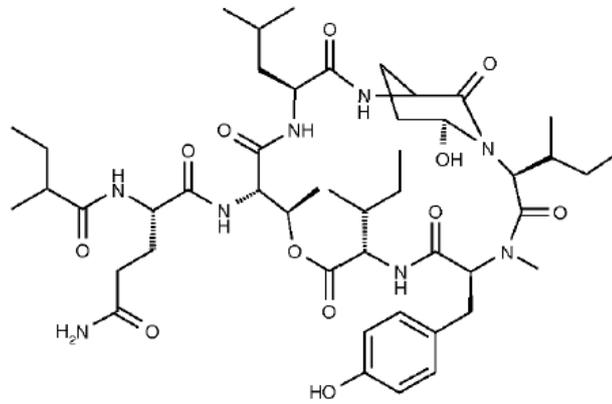
Ejemplo	R1	R4
33	H	t-butoxicarbonilmetilo
34	propoxi	t-butoxicarbonilmetilo
35	propoxi	1-(E)-pent-2-enilo
36	propoxi	1-(E)-4,4,4-trifluoro-but-2-enilo
37	propoxi	metilo
38	propoxi	3-metilo-but-2-enilo
39	propoxi	bencilo
40	propoxi	alilo
41	propoxi	propargilo

5 10. El depsipéptido cíclico de la reivindicación 1 seleccionado de



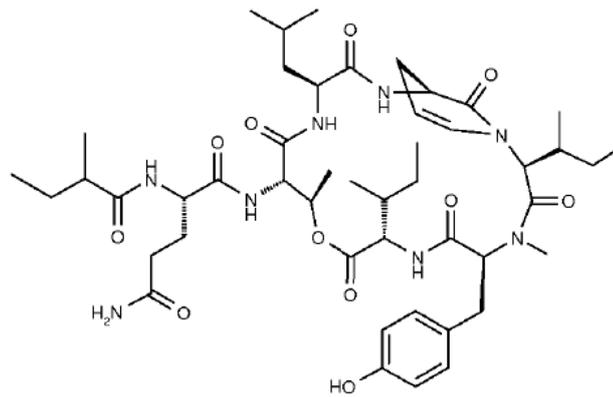
Fórmula (II).

11. El depsipéptido cíclico de la reivindicación 1 seleccionado de



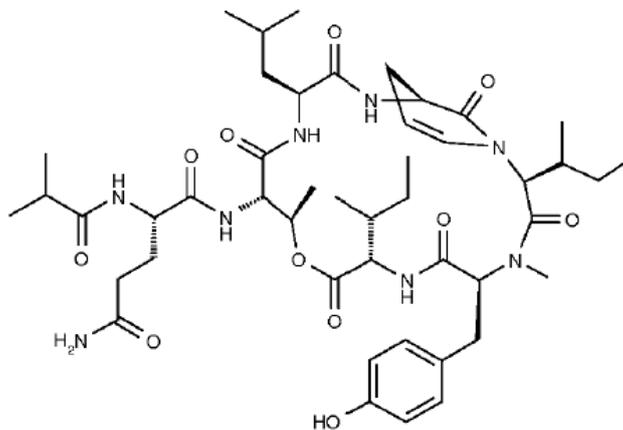
Fórmula (III).

12. El depsipéptido cíclico de la reivindicación 1 seleccionado de



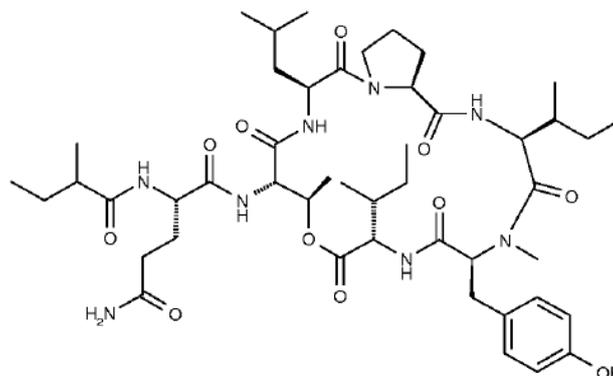
Fórmula (IV).

5 13. El depsipéptido cíclico de la reivindicación 1 seleccionado de



Fórmula (V).

14. El depsipéptido cíclico de la reivindicación 1 seleccionado de



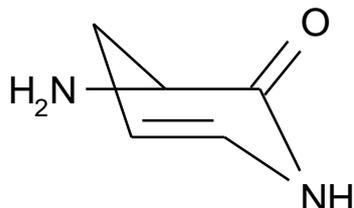
Fórmula (XIV).

15. Una composición farmacéutica que comprende un depsipéptido cíclico de cualquiera de las reivindicaciones anteriores en combinación con un vehículo y/o ingrediente farmacéuticamente aceptable.
- 5 16. El depsipéptido cíclico de cualquiera de las reivindicaciones 1 - 14 para uso como un medicamento.
17. Uso de depsipéptidos de cualquiera de las reivindicaciones 1 - 14 en la fabricación de un medicamento para el tratamiento en una enfermedad o trastorno seleccionado de enfermedades pruriginosas de la piel tales como queloides, cicatrices hipertróficas, acné, dermatitis atópica, psoriasis, psoriasis pustular, rosácea, síndrome de Netherton u otras dermatosis pruríticas tales como prurigo nodularis, picazón no especificada de los ancianos, así como otras enfermedades con disfunción de la barrera epitelial tales como piel envejecida, enfermedad inflamatoria intestinal y enfermedad de Crohn, así como pancreatitis, o de cáncer, en particular 10 cáncer de ovario, fibrosis quística (CF), enfermedad pulmonar obstructiva crónica (COPD), fibrosis pulmonar, síndrome de dificultad respiratoria del adulto, bronquitis crónica, enfisema hereditario, artritis reumatoide, IBD, psoriasis y asma.
- 15 18. Uso de acuerdo con la reivindicación 17, para el tratamiento de queloides, cicatrices hipertróficas, acné, dermatitis atópica, psoriasis, psoriasis pustular, rosácea, síndrome de Netherton u otras dermatosis pruríticas tales como prurigo nodularis, picazón no especificada de los ancianos, así como otras enfermedades con disfunción 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.
- 20 19. Uso de acuerdo con la reivindicación 18 para el tratamiento de queloides, cicatrices hipertróficas, acné, dermatitis atópica, psoriasis, psoriasis pustular, rosácea, síndrome de Netherton u otras dermatosis pruríticas tales como prurigo nodularis, picazón no especificada de los ancianos, así como otras enfermedades con disfunción de la barrera epitelial, tal como piel envejecida.
- 25 20. Uso de acuerdo con la reivindicación 17, para el tratamiento de la fibrosis quística (CF), enfermedad pulmonar obstructiva crónica (COPD), fibrosis pulmonar, síndrome de dificultad respiratoria del adulto, bronquitis crónica, enfisema hereditario, artritis reumatoide, IBD, psoriasis y asma.
21. Uso de acuerdo con las reivindicaciones 17-20, en donde el tratamiento es por aplicación local o sistémica, tales como cremas, ungüentos y supositorios, o por aplicación oral o por vía intravenosa o por inhalación, respectivamente.
- 30 22. Un procedimiento para producir El depsipéptido cíclico de cualquiera de las reivindicaciones 1-14 que comprende el cultivo de *Chondromyces crocatus* (DSM 19329), una variante o un mutante del mismo, en un medio adecuado, y opcionalmente derivación química del depsipéptido cíclico así producido.
- 35 23. Un procedimiento para producir el depsipéptido cíclico de cualquiera de las reivindicaciones 1-14 que comprende expresar los genes de biosíntesis de *Chondromyces crocatus* (DSM 19329), una variante o un mutante del mismo, en una cepa huésped microbiana heteróloga, y opcionalmente derivación química del depsipéptido cíclico así producido.
24. Un microorganismo de *Chondromyces* aislado que produce el depsipéptido cíclico de cualquiera de las reivindicaciones 1-14, depositado bajo el número de acceso DSM 19329.

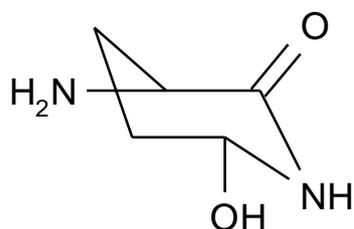
25. Un depsipéptido cíclico de cualquiera de las reivindicaciones 1-14 producido por el microorganismo *Chondromyces* aislado de la reivindicación 25 de aislado o obtenido mediante un proceso de acuerdo con las reivindicaciones 23-24.

5 26. Un proceso para la preparación de un depsipéptido cíclico de acuerdo con la reivindicación 1, el cual comprende alternativamente

a) la preparación de un depsipéptido cíclico de acuerdo con la reivindicación 1, en donde A4 es

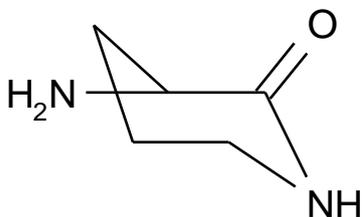


mediante el tratamiento de un compuesto en donde A4 es

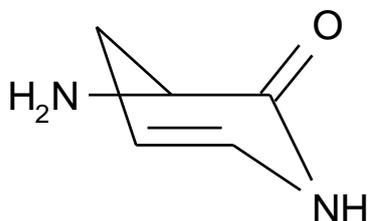


10 con un ácido orgánico o inorgánico, o un ácido de Lewis a una temperatura entre -78°C y 150°C;

b) la preparación de un depsipéptido cíclico de acuerdo con la reivindicación 1 en donde A4 es

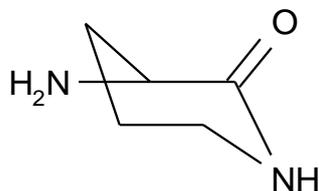


mediante el tratamiento de un compuesto en donde A4 es

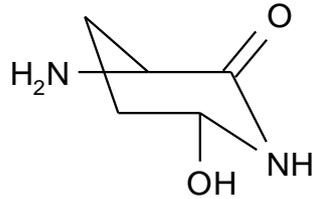


15 con el hidrógeno molecular o fuente del mismo en presencia de un catalizador en un solvente a una temperatura entre -50 y 100°C;

c) la preparación de un depsipéptido cíclico de acuerdo con la reivindicación 1, en donde A4 es

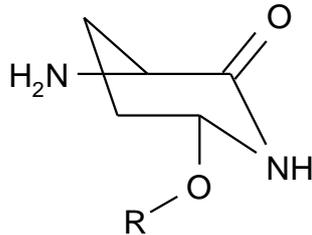


mediante el tratamiento de un compuesto, en donde A4 es

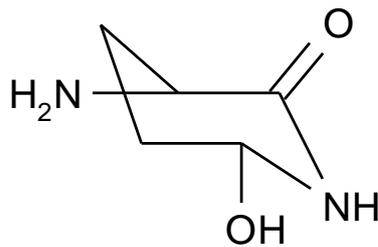


con un ácido orgánico o inorgánico o un ácido de Lewis, en presencia de un agente de reducción a una temperatura de entre -78°C y 150°C ; o

- 5 d) la preparación de un depsipéptido cíclico de acuerdo con la reivindicación 1 en donde A4 es

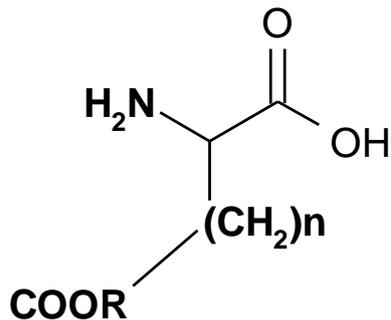


mediante el tratamiento de un compuesto en donde A4 es

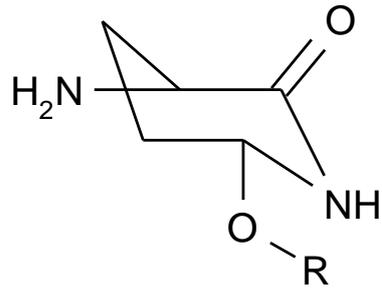


- 10 con un alcohol sustituido o no sustituido y un ácido orgánico o inorgánico, o un ácido de Lewis, a una temperatura entre -78°C y 150°C ;

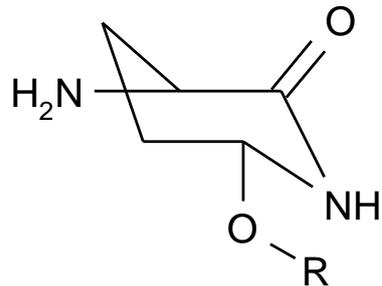
- e) la preparación de un depsipéptido cíclico de acuerdo con la reivindicación 1 en donde A1 es



en donde $n = 2$ y A4 es

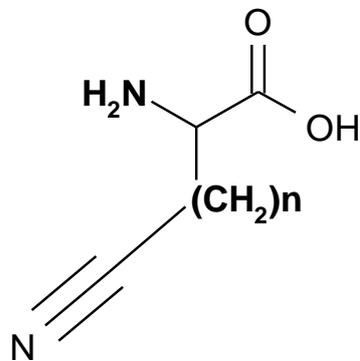


en donde R es H, alquilo, alquilo sustituido, mediante el tratamiento de un compuesto en donde A1 es Gln o Asn y A4 es

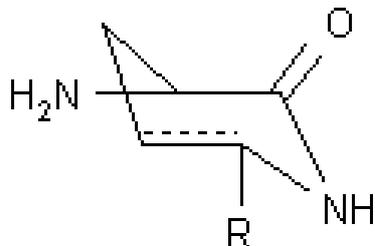


5 en donde R es H, alquilo, alquilo sustituido, con un alcohol sustituido o no sustituido y un ácido orgánico o inorgánico o un ácido de Lewis en un solvente o sin un solvente a una temperatura entre -78°C y 150°C ;

f) la preparación de un depsipéptido cíclico de acuerdo con la reivindicación 1 en donde A1 es

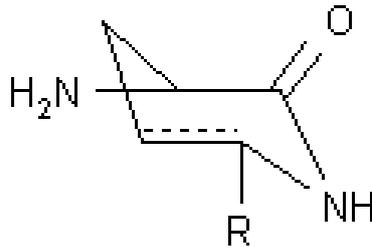


10 en donde R es H, OH, O-alquilo, O-alquilo sustituido, O-acilo, mediante tratamiento de un compuesto en donde A1 es Gln o Asn y A4 es

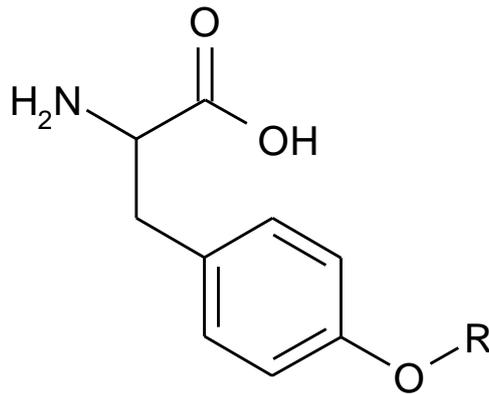


con un agente deshidratante en un solvente o sin un solvente a una temperatura entre -78°C y 150°C ;

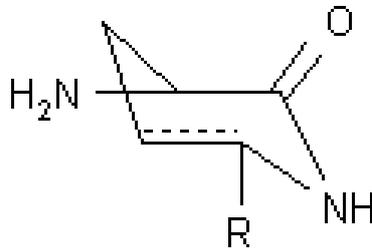
g) la preparación de un depsipéptido cíclico de acuerdo con la reivindicación 1 en donde A4 es



y A6 es



5 en donde R es alquilo, alquilo sustituido, acilo, alcoxicarbonilo mediante tratamiento de un compuesto en donde A4 es



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.

FIGURA 1

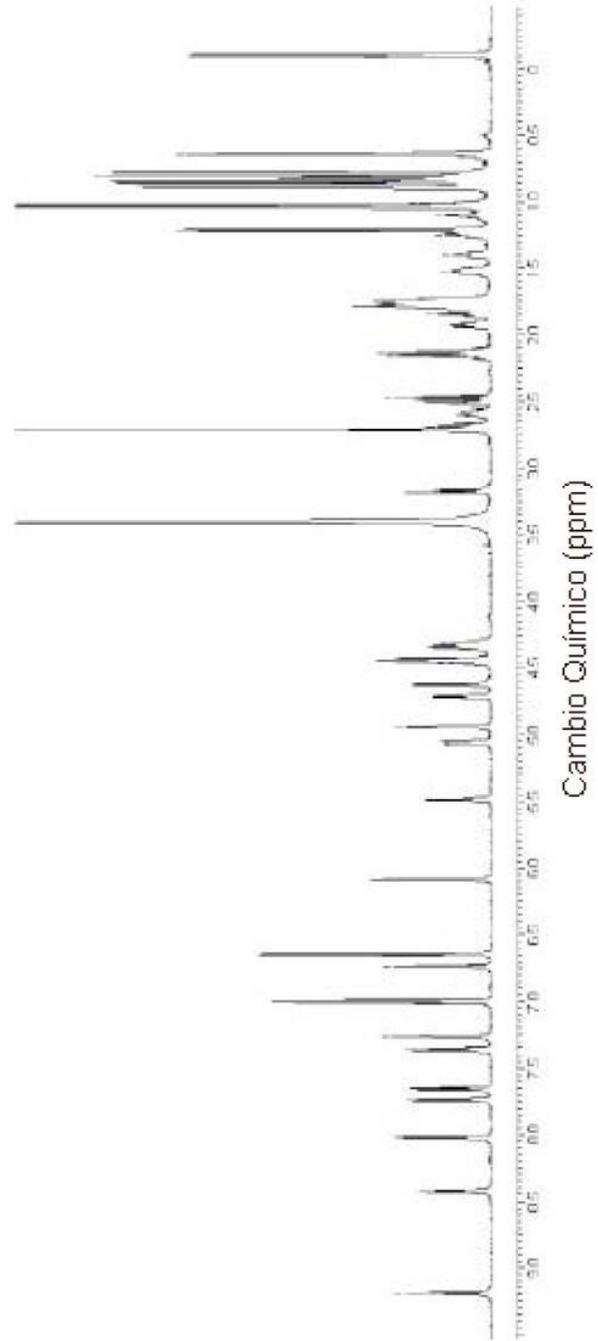


FIGURA 2

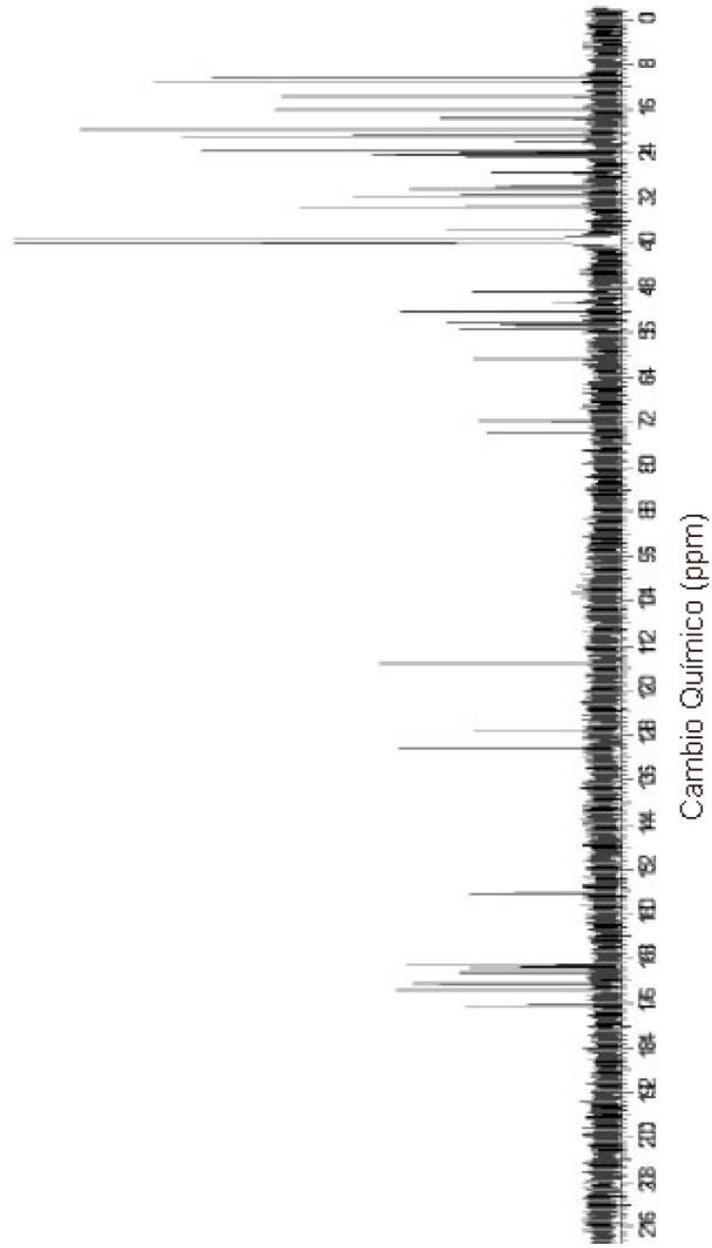


FIGURA 3

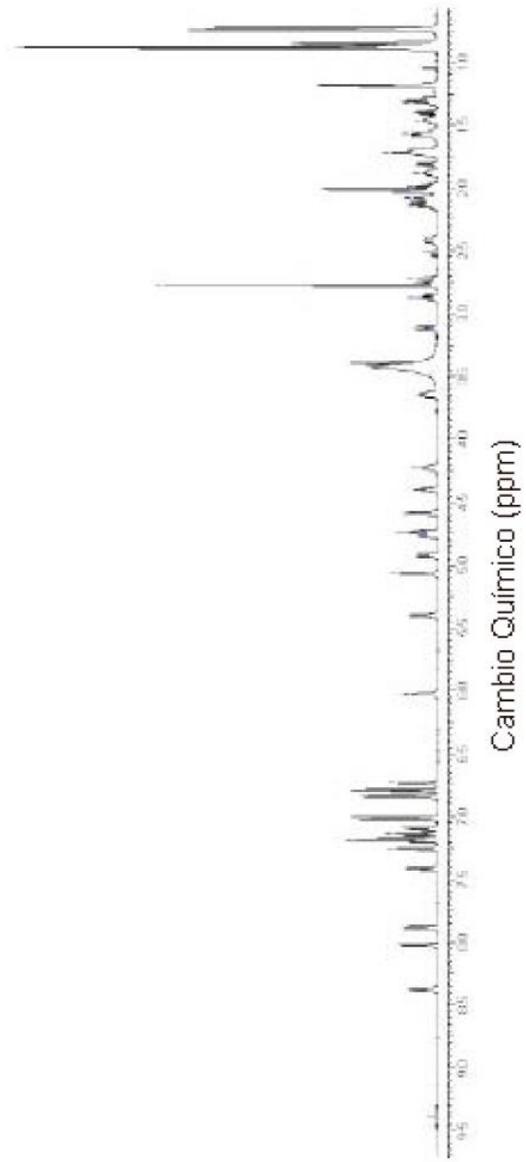


FIGURA 4

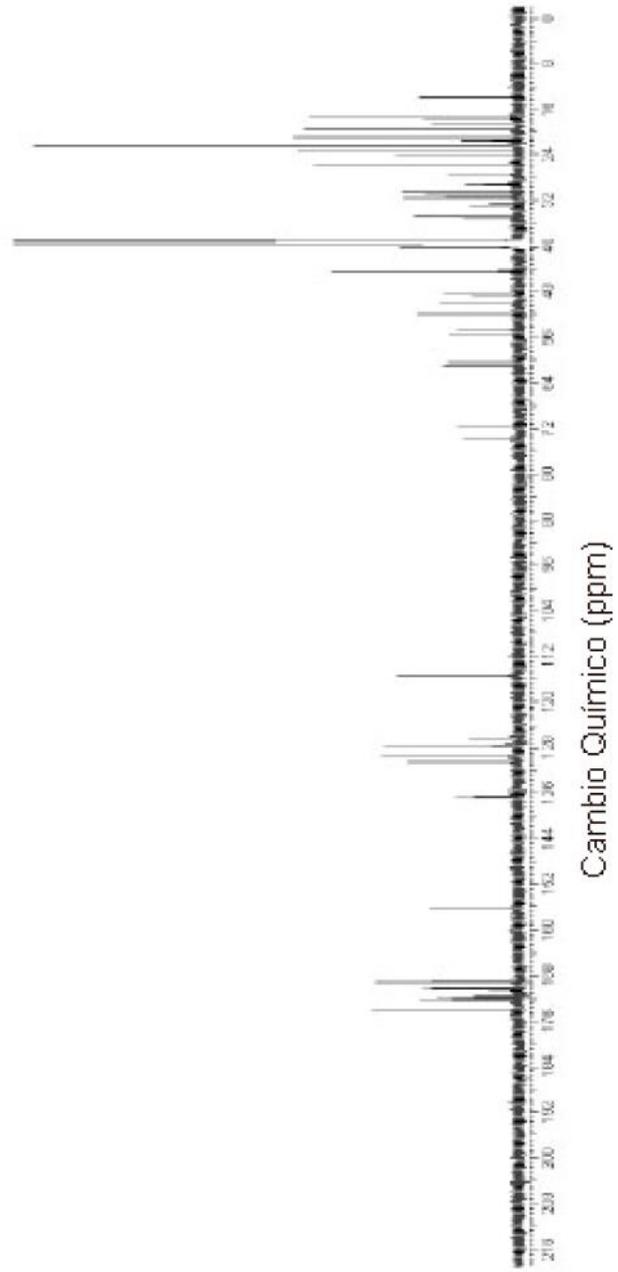


FIGURA 5

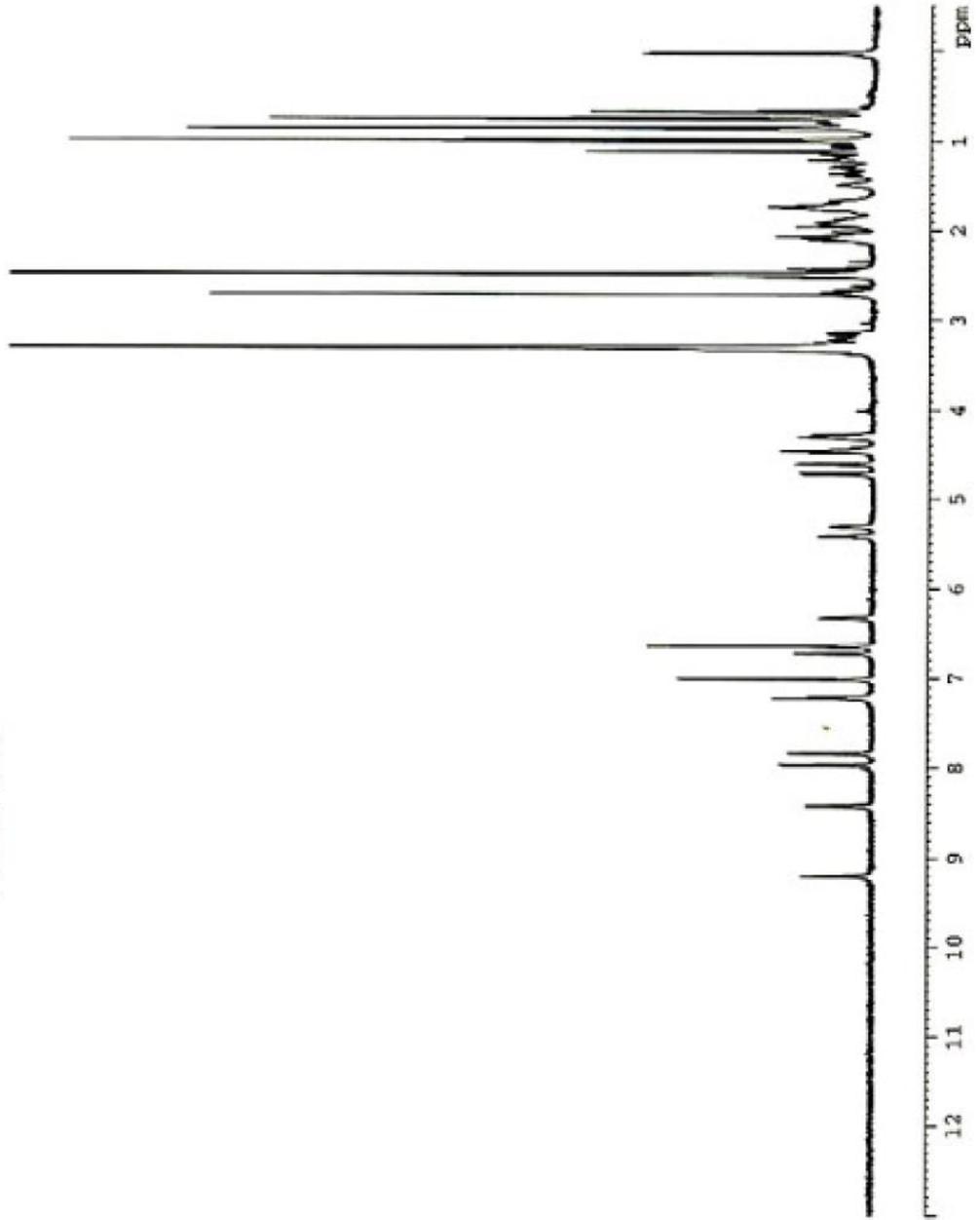


FIGURA 6

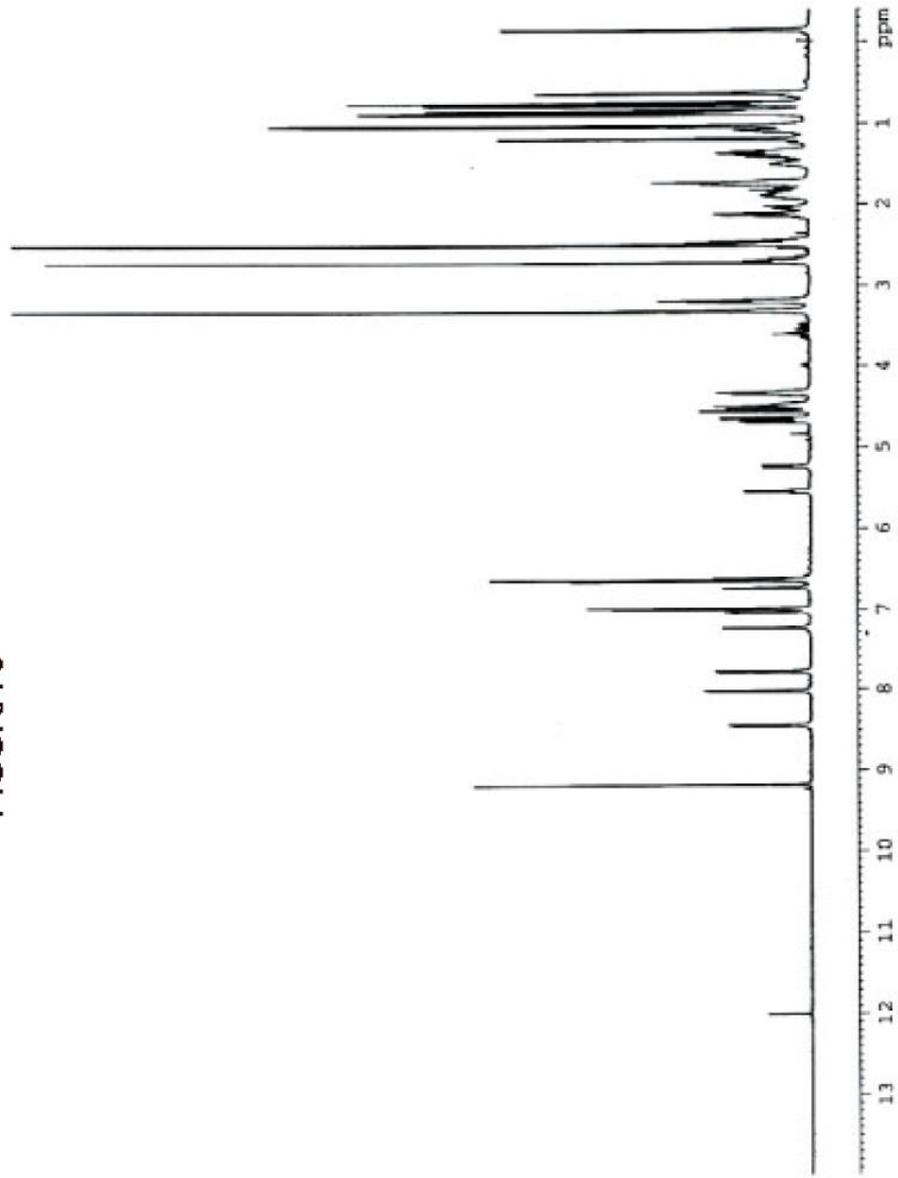


FIGURA 7

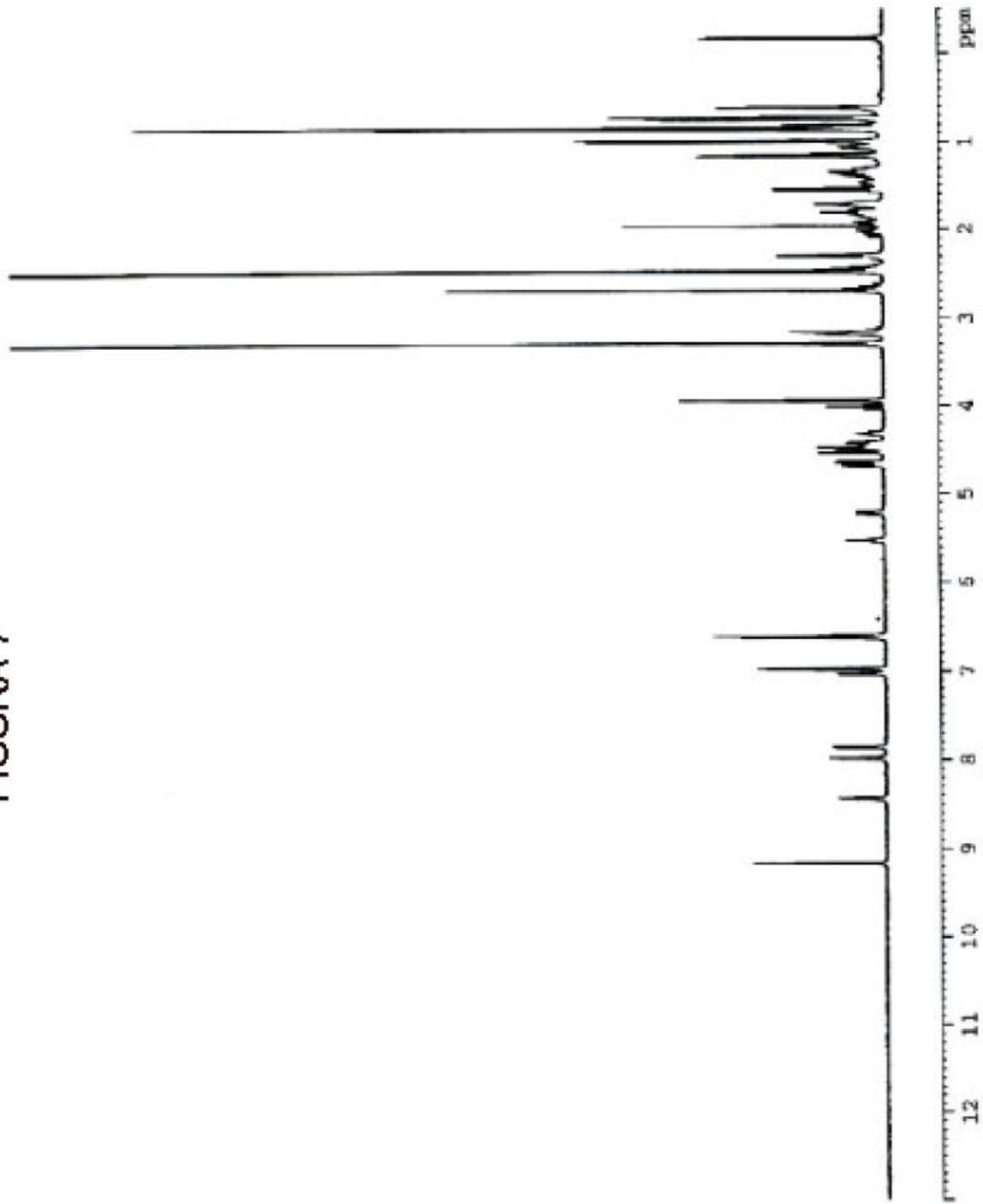
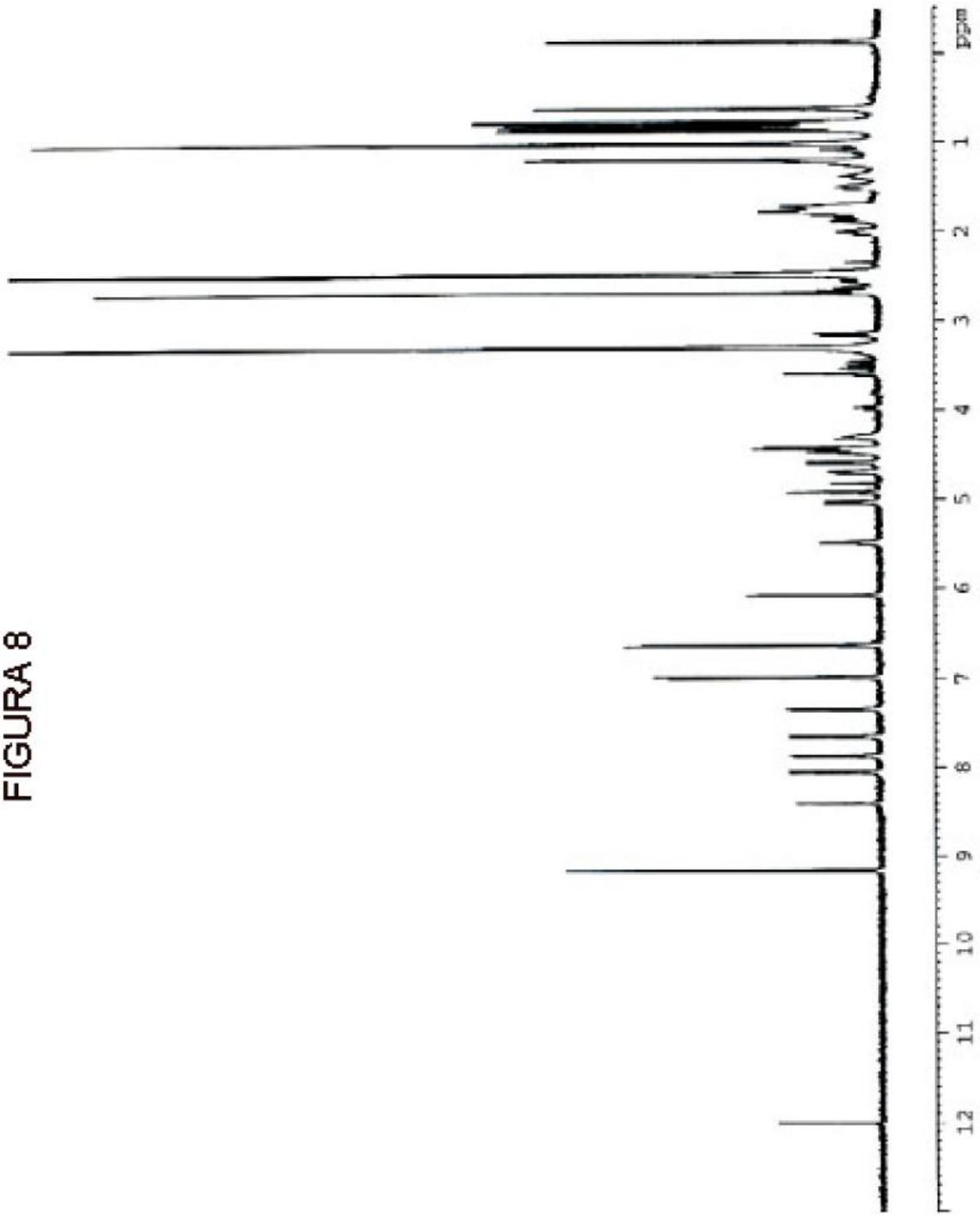
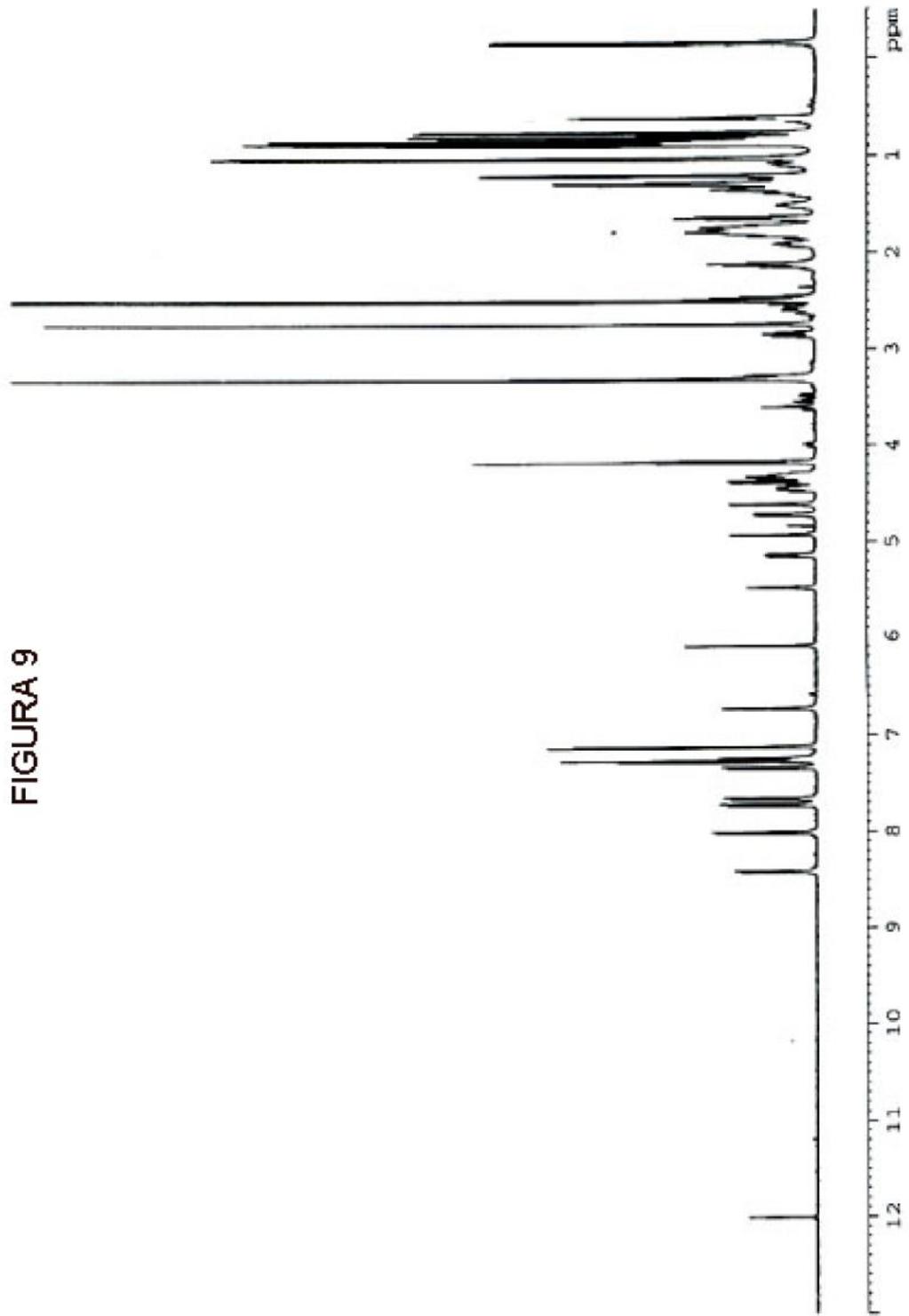


FIGURA 8





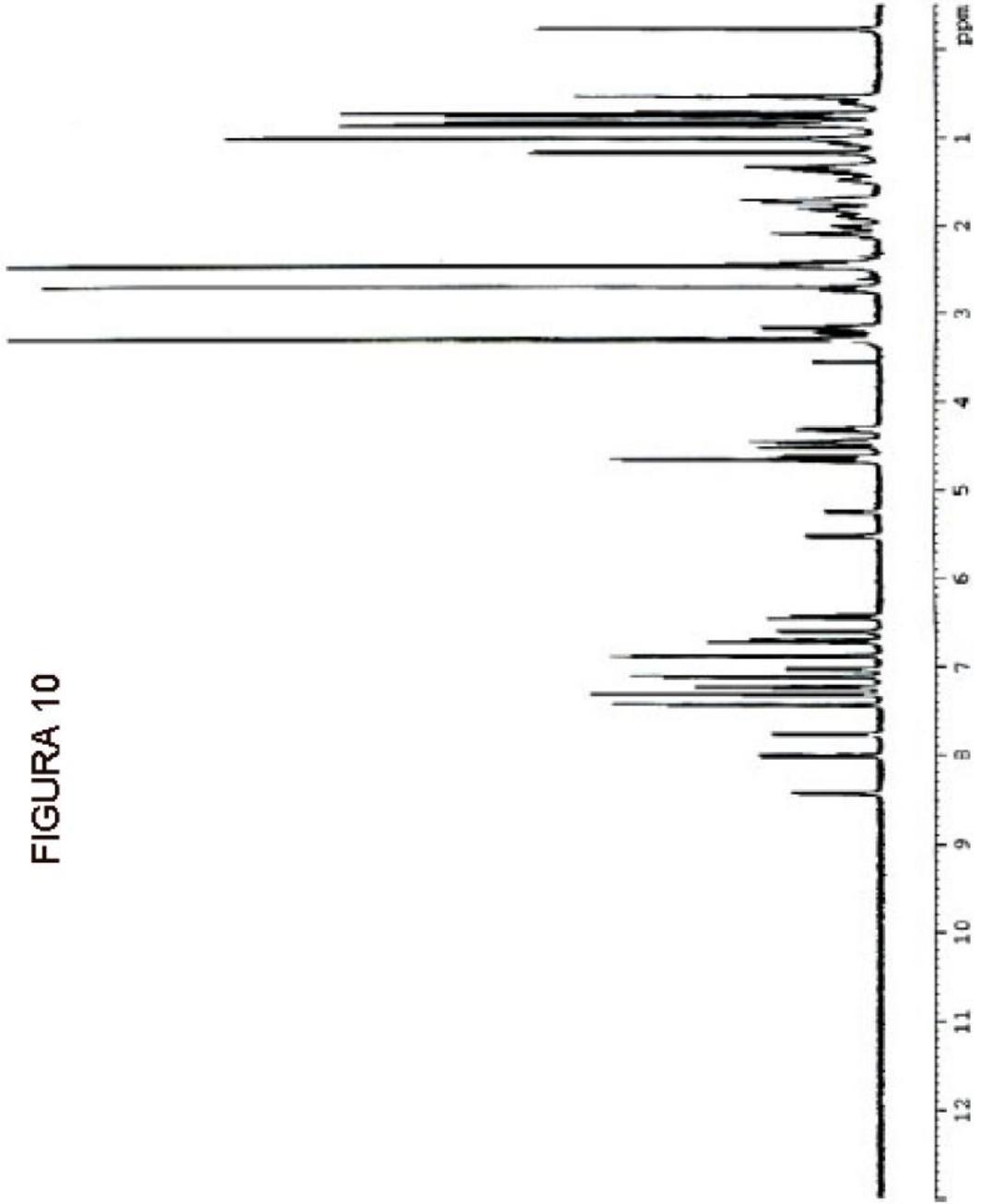


FIGURA 10

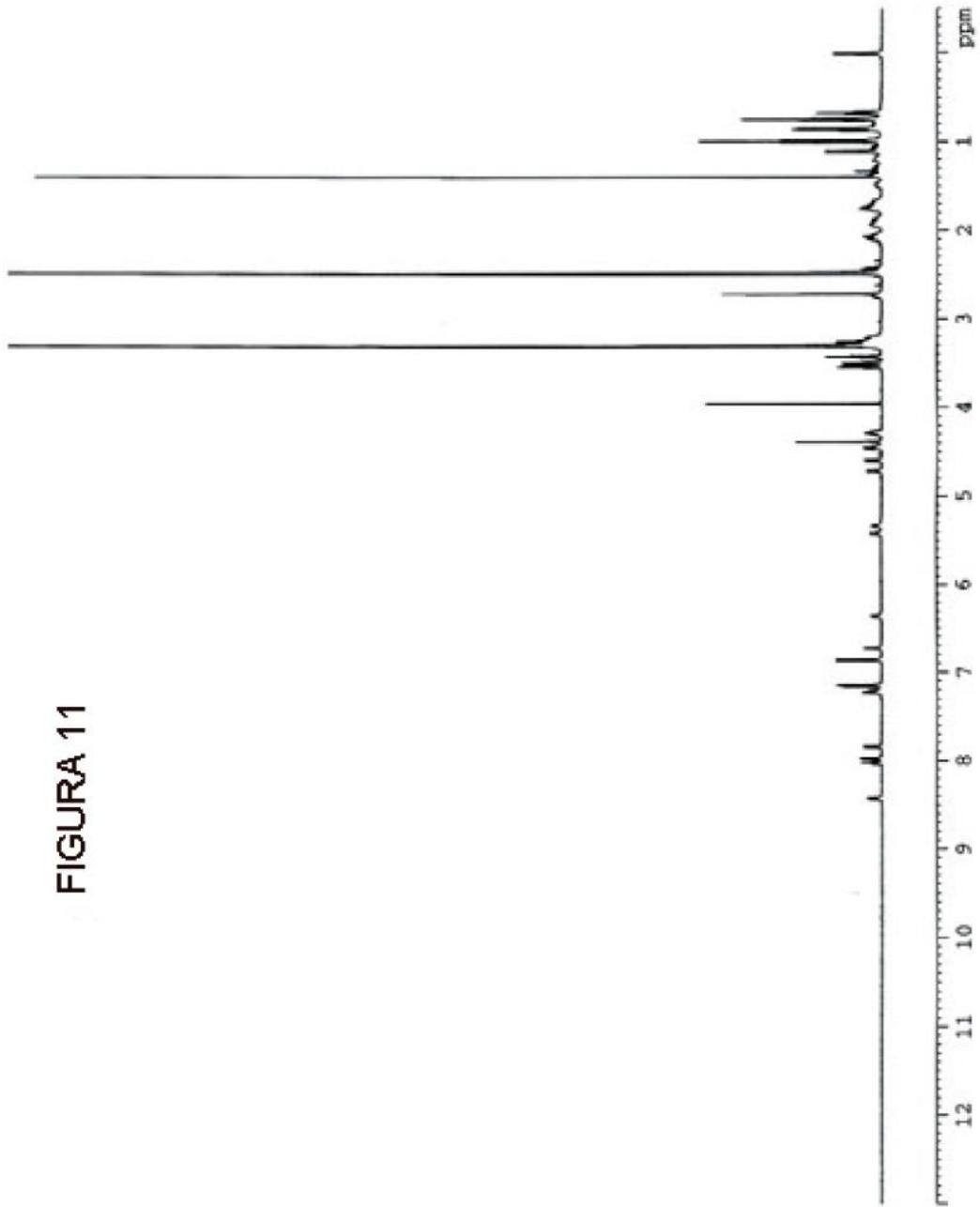


FIGURA 11

