

Q.F.



Industria y Comercio

S U P E R I N T E N D E N C I A

Delegatura de propiedad Industrial

División de Nuevas Creaciones

[Handwritten signature]

PCT
SOLICITUD

PATENTE DE INVENCION

06-19337

21 **EXPEDIENTE No** _____

54 **TÍTULO** INHIBIDORES DE CASPASA QUE CONTIENEN ANILLOS DE ISOXAZOLINA

51 **CLASIFICACIÓN INTERNACIONAL** C07D261/04, A61K31/42 A61P25/28
29/00

71 **SOLICITANTE** LG LIFE SCIENCES LTD

DOMICILIO Seúl Corea

74 **APODERADO** EMILIO FERRERO
C C 438 019 de Usaquén

22 **BOGOTÁ, D C,** 2006 - 02 - 27


Industria y Comercio

SUPERINTENDENCIA

PETITORIO

SUPERINTENDENCIA Y COMERCIO
 Radicación 66619557 66666666 Folios 195
 Fecha (CMD) 2006-02-27 17:17:59
 Trámite 011 PLI-PAIENI 379 FASE NAL 1 411 PRESENCIAL
 Dependencia 020 DIVISION DE NULAS DEACIONES

**FORMULARIO UNICO DE SOLICITUD DE PATENTE
PCT**
ENTRADA EN FASE NACIONAL 27 03 2006
SOLICITUD DE

1

☒ Patente de Invención
☐ Capítulo I

☐ Patente de Modelo de Utilidad
☒ Capítulo II

2

**SOLICITANTE
(71)**

 Nombre **LG LIFE SCIENCES LTD**
 sociedad constituida y existente bajo las
 leyes de la Republica de Corea

 Dirección **LG Twin Tower East Tower 20
Yoido Dong Youngdeungpo-Gu
Seul 150-010 Corea**

 Domicilio **Seul
Corea**
IDENTIFICACIÓN

C C ☐ NIT ☐
 C E ☐ Otro ☐
 Cual _____
 Numero _____

3

**REPRESENTANTE
O APODERADO**

Nombre **EMILIO FERRERO**
 Dirección **Carrera 4 No 72 35**
 Teléfono **347 36 11**
 Fax **211 86 50**
 E mail **clientes@camyp.com**
 Domicilio **Bogotá, Colombia**

IDENTIFICACION

C C ☒ NIT ☐
 C E ☐ Otro ☐
 Cual _____
 Numero **438 019** T P **31 929**

4

**INVENTOR (ES)
(72)**

1 Hye Kyung CHANG
 R & D Park LG Life Sciences Ltd 104 1
 Moongi dong Yuseong gu Daejeon 305-380
 Corea

3 Cheol Won PARK
 R & D Park LG Life Sciences Ltd 104 1
 Moongi dong Yuseong gu Daejeon 305-380
 Corea

5 Tae Kyo PARK
 R & D Park LG Life Sciences Ltd 104 1
 Moongi dong Yuseong gu Daejeon 305-380
 Corea

7 Min-Jung KIM
 R & D Park LG Life Sciences Ltd 104 1
 Moongi dong Yuseong-gu Daejeon 305-380
 Corea

9 Jung Gyu PARK
 R & D Park LG Life Sciences Ltd 104 1
 Moongi dong Yuseong-gu Daejeon 305-380
 Corea

11 Kyeong-Sik MIN
 R & D Park LG Life Sciences Ltd 104 1
 Moongi-dong Yuseong-gu Daejeon 305-380
 Corea

2 Yeon-Soo OH
 R & D Park LG Life Sciences Ltd 104 1
 Moongi dong Yuseong gu Daejeon 305-380
 Corea

4 Yong-Jin JANG
 R & D Park LG Life Sciences Ltd 104 1
 Moongi dong Yuseong gu Daejeon 305-380
 Corea

6 Sung-Sub KIM
 R & D Park LG Life Sciences Ltd 104 1
 Moongi-dong Yuseong-gu Daejeon 305-380
 Corea

8 Mi-Jeong PARK
 R & D Park LG Life Sciences Ltd 104 1
 Moongi-dong Yuseong-gu Daejeon 305-380
 Corea

10 Hee Dong PARK
 R & D Park LG Life Sciences Ltd 104 1
 Moongi dong Yuseong gu Daejeon 305-380
 Corea

12 Tae-Soo LEE
 R & D Park LG Life Sciences Ltd 104 1
 Moongi-dong Yuseong gu Daejeon 305-380
 Corea

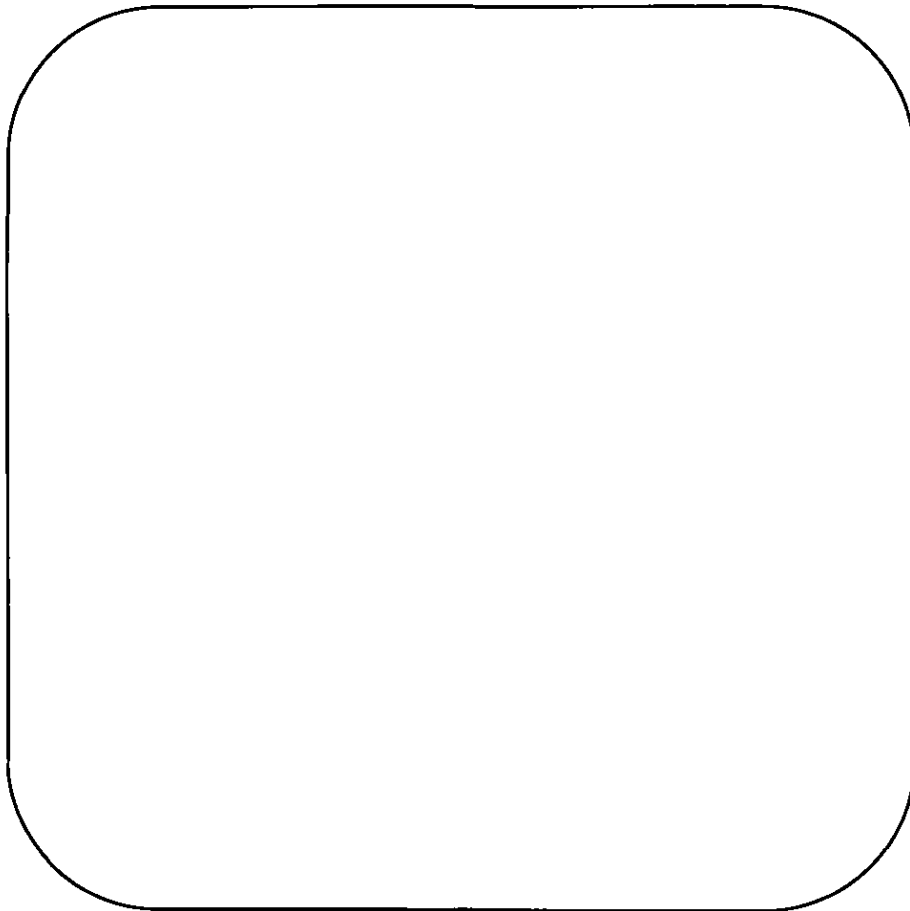
	13 Sang Kyun LEE R & D Park LG Life Sciences Ltd 104 1 Moongi-dong Yuseong-gu Daejeon 305 380 Corea 15 Hee Kyung JEONG R & D Park LG Life Sciences Ltd 104 1 Moongi dong Yuseong gu Daejeon 305 380 Corea 17 Hwa Dong KIM R & D Park LG Life Sciences Ltd 104 1 Moongi-dong Yuseong-gu Daejeon 305 380 Corea 19 Ki Sook PARK R & D Park LG Life Sciences Ltd 104 1 Moongi-dong Yuseong-gu Daejeon 305 380 Corea 21 Hyeong Wook CHOI R & D Park LG Life Sciences Ltd 104 1 Moongi-dong Yuseong-gu Daejeon 305 380 Corea 23 Jae Hoon LEE R & D Park LG Life Sciences Ltd 104 1 Moongi-dong Yuseong-gu Daejeon 305 380 Corea 25 Ho-Jun KIM R & D Park LG Life Sciences Ltd 104 1 Moongi-dong Yuseong-gu Daejeon 305 380 Corea	14 Soo Hyeon KIM R & D Park LG Life Sciences Ltd 104 1 Moongi-dong Yuseong gu Daejeon 305 380 Corea 16 Sun Hwa LEE R & D Park LG Life Sciences Ltd 104 1 Moongi-dong Yuseong-gu Daejeon 305 380 Corea 18 Ae Ri KIM R & D Park LG Life Sciences Ltd 104 1 Moongi dong Yuseong-gu Daejeon 305 380 Corea 20 Hyun Ik SHIN R & D Park LG Life Sciences Ltd 104 1 Moongi dong Yuseong gu Daejeon 305 380 Corea 22 Kyu Woong LEE R & D Park LG Life Sciences Ltd 104 1 Moongi-dong Yuseong-gu Daejeon 305 380 Corea 24 Tae Ho HEO R & D Park LG Life Sciences Ltd 104 1 Moongi-dong Yuseong-gu Daejeon 305 380 Corea 26 Tae-Sik KWON R & D Park LG Life Sciences Ltd 104 1 Moongi-dong Yuseong gu Daejeon 305 380 Corea	
5 PCT (86) Solicitud Internacional No <u>PCT/KR2004/002139</u> Fecha <u>26 de Agosto 2004</u> Publicacion Internacional No <u>WO2005/021516 A1</u> Fecha <u>10 de Marzo 2005</u>			
6 Titulo (54) <u>INHIBIDORES DE CASPASA QUE CONTIENEN ANILLOS DE ISOXAZOLINA</u>			
7 Clasificación Internacional (51) <u>C07D 261/04</u> , <u>A61K31/42</u> , <u>A61P25/28</u> , <u>29/00</u>			
8 Prioridad SI ☒ NO ☐	(33) Pais de Origen <u>KR</u>	(32) Fecha <u>27 de Agosto 2003</u>	(31) Numero de Solicitud <u>10 2003 0059451</u>
9 Comprobante de pago No <u>06 14 044</u> Fecha <u>20 de febrero de 2006</u>			

10

An xos

- ☒ Comprobante de pago de la tasa de presentacion de la solicitud por \$ 463 000 oo
- ☐ Comprobante de pago por reivindicación de prioridad
- ☒ Documento que acredita la existencia y representacion legal cuando el solicitante sea persona juridica
- ☒ Poderes si fuere el caso
- ☐ Documento de cesión del inventor al solicitante o a su causante
- ☐ Declaraciones
- ☒ Copia de la solicitud internacional (Resumen descripción reivindicaciones dibujos)
- ☒ Traducción de la solicitud internacional al castellano (Resumen descripcion reivindicaciones dibujos)
- ☒ Copia del examen preliminar efectuado por la IPEA
- ☐ Traduccion del examen preliminar efectuado por la IPEA
- ☐ De ser el caso copia del contrato de acceso
- ☐ De ser el caso documento que acredite la licencia o autorización de uso de conocimientos tradicionales de las comunidades indigenas
- ☐ De ser el caso certificado de deposito del material biologico
- ☐ Arte final 12x12
- ☐ De ser el caso informacion sobre otras solicitudes de patente o títulos obtenidos en el extranjero por el mismo titular o su causante relacionadas parcial o totalmente con la invención de esta solicitud
- ☒ Otros VER HOJA DE DOCUMENTOS ANEXOS

11

FIGURA CARACTERISTICA

12

Solicito la concesion de la patente

NOMBRE

EMILIO FERRERO

FIRMA

C C 438 019 de Usaquéen T P 31 929

ZCA

DOCUMENTOS ANEXOS

- 1 ☒ Publicacion Internacional WO 2005/021516 A1

Descripción

Páginas 68 en el idioma original

Páginas 83 en español

Reivindicaciones Numero (s) 21

Figura (s) Numero(s) 2

- 2 ☒ **Forma PCT//SA/210** Informe de Búsqueda Internacional
- 3 ☒ Extracto de publicación

NO SE REALIZARON MODIFICACIONES EN FASE INTERNACIONAL

6



CONSULADO DE COLOMBIA

5
x4

13548
3488

No 387

30 JUL 2003

El suscrito Consul de Colombia en Seul Corea vistos los documentos presentados por lo interesados CERTIFICA

Que el señor *Park Seung Hun* quien como Notario Publico de Seul Corea autentico la firma del signatario del poder precedente ejercia a la fecha las funciones indicadas y su firma corresponde a la registrada en este Consulado Que la compania *LG LIFE SCIENCES LTD*, es una Sociedad constituida de acuerdo con las leyes de Republica de Corea y cumple su objeto conforme a las mismas que el Senor *Heung Joon Yang* quien en su caracter de *Presidente* de la citada compania confiere el poder precedente y cuya firma fue autenticada ante el notario arriba citado es su representante legal en este pais

El Consul no asume responsabilidad por el contenido del documento

[Signature]
ALVARO ENRIQUE AYALA MELENDEZ
Cónsul de Colombia



Esta certificacion es valida para un documento de (4) paginas

COM T SEXTO (E) RE LO
DE SUGOT HALO CONST R O E
FOTOCO I CO NCIDE CON EL OR GINAL
QUE ME TENIDO A LA VIST
24 FEB 2006
PABLO MENDEZ BARAJA
NOTARIO (E)

PAGADOS IMPUESTOS DE TIMBRE Y DERECHOS CONSULARES

Valor 23 odolares americanos

MINISTERIO DE
208447
Alvaro Ayala
EJECUTE
RECEBE
LAS FUNCIONES SINDICADAS

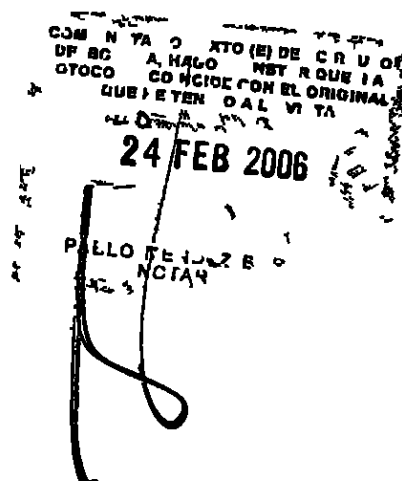
NO SE ASUME
RESPONSABILIDAD DEL TEXTO
4 26 2 25
A 7416165
JAFUC

COMO OTA IO SEATO (B) DEL CIRCULO
DECT N DO CONSTAR QUE LA
FOTOCO COINCIDE CON EL ORIGINAL
U N TE IDO A LA VISTA
24 FEB 2006
PAULO FENDE BARRA A
OTAR O (E)



Registered No 2003-1980

NOTARIAL CERTIFICATE

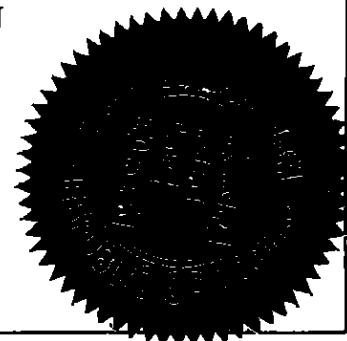


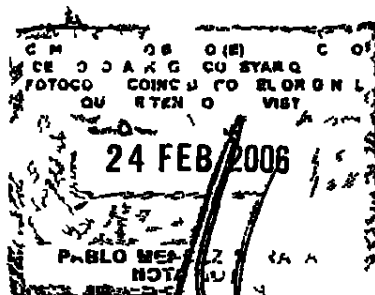
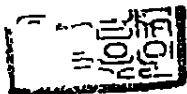
HANKYUL LAW FIRM & NOTARY OFFICE



#825-33 YOKSAM-DONG KANGNAM-GU

SEOUL KOREA





REPRESENTACION Y PODER

REPRESENTATION AND POWER OF ATTORNEY

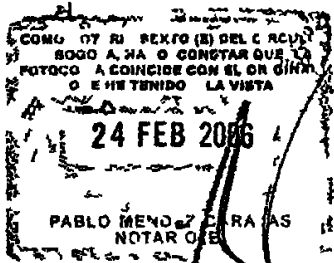
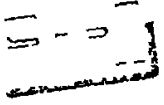
Yo (nosotros) abajo firmado (s)/I (we) the undersigned
LG LIFE SCIENCES LTDdomiciliado (s) en/of 20, Yoido-dong, Yongsungpo-ki 24 FEB 2006
150-010 Seoul, KOREA

por el presente nombramos a EMILIO FERRERO tpa. 31929 GONZALO PERDOMO tpa. 831 LUZ CLEMENCIA DE PAEZ, tpa. 23555 y GERMAN CAVELIER, tpa. 832 domiciliados en la Carrera 4 N° 72 35 Bogotá, Colombia, en obediencia a lo dispuesto en el parágrafo 1o del Artículo 543 del Código de Comercio el primero como principal y los demás como suplentes, en su orden, como mis (nuestros) representantes en todos los asuntos de propiedad industrial con facultad para recibir notificaciones y nombrar apoderados judiciales o extrajudiciales El primer representante suplente reemplazará al principal en caso de ausencia o impedimento temporal o definitivo de aquél La misma regla se aplicará cuando el segundo representante suplente haya de reemplazar al primero o el tercero al segundo En tales casos, el representante principal o el primero o segundo suplente en su caso o ambos declararan su intención de no ejercer la representación mediante declaración autenticada por Notario Público en Colombia, o por Notario u otro Funcionario Publico, o Cónsul de Colombia, en el extranjero y si se tratare de impedimento con el certificado respectivo Si alguno de los nombrados faltare definitivamente el siguiente tomará su lugar Cuando cesare la ausencia o impedimento del representante principal o de su primero o segundo suplentes, en su caso podrán ejercer la representación en su orden uno u otros según el caso asumiéndola por el solo hecho de ejercerla, cesando en ese momento el ejercicio de la representación por el primero segundo o tercer suplente en su caso

Además, confiero (conferimos) poder a los abogados arriba nombrados para obtener la protección de mi (nuestra) propiedad industrial y contra la competencia desleal a cuyo efecto autorizo (amos) a los dichos apoderados para que me (nos) representen ante cualesquiera entidades o personas, ejerzan o no jurisdicción especialmente ante las del orden administrativo contencioso administrativo y judicial así como los tribunales de arbitramento en todo lo concerniente a los siguientes asuntos a) Obtención de patentes de invención, modelos de utilidad y diseños industriales el registro de marcas de fábrica, colectivas, defensivas de servicio, lemas comerciales, nombres comerciales, enseñas nombres de dominio variedades vegetales y denominaciones de origen su renovación traspaso cambio de nombre o domicilio, cancelación voluntaria, y el registro de licencias de uso de esos derechos b) Las acciones de competencia desleal protección del consumidor oposiciones u observaciones cancelación administrativa y judicial nulidad medidas cautelares, concesión de licencias, la tutela, la protección de secretos industriales, y en general los juicios civiles, penales administrativos o contencioso administrativos relacionados con estos derechos acciones y procesos que promovamos o se nos

in due compliance with the terms of paragraph 1st of article 543 of the Commercial Code, do hereby appoint EMILIO FERRERO tpa. 31929 GONZALO PERDOMO tpa. 831 LUZ CLEMENCIA DE PAEZ, tpa. 23555 and GERMAN CAVELIER tpa. 832 domiciled at Carrera 4 N° 72 35 Bogotá, Colombia, the first as principal and the others as alternates in the order of their appointment, as our representatives for all industrial property matters with faculty to receive notifications and to appoint attorneys in and out of Court. The first alternate shall replace the principal in case of his absence or of temporal or definitive impediment. The same rule will apply when the second alternate representative is to replace the first one or when the third is to replace the first or second alternates in their turn or both of them, second. In such cases, the principal representative or the first or second alternates in their turn, or both of them, shall state their intention not to act as representatives through a declaration given before a Notary Public in Colombia, or before a Notary or another Public Official or a Colombian Consul abroad and in case of impediment, the appropriate certificate shall suffice If any of the appointees were to be definitely absent, the following alternate shall take his place When the absence or impediment of the principal representative, or of the first or second alternate in their turn ceases, the representation can be taken again in their sequence, by the principal the first or second alternate depending on case, and the mere fact or its exercise will suffice The exercise of the representation by the first, second or third alternates in their turn shall end at such time

In addition we grant a Power of Attorney in favor of the above named attorneys at law so that they may obtain the protection of my (our) industrial property and against the unfair competition for which purpose I (we) authorize the said attorneys to represent me (us) before any authorities or persons, with or without jurisdiction specially those administrative, administrative contentious and judicial as well as before Arbitration Court, in all matters concerning the following a) Obtainment of patents, utility models and industrial designs the registration of trademarks, collective, defensive and service marks, slogans, commercial names, trade emblems, domain names vegetal varieties and denominations of origin its renewal assignment, change of name or domicile, voluntary cancellation and the registration of licenses of use of the above rights b) Actions of unfair competition, protection to the consumer oppositions or observations, administrative or Court cancellation, nullity infringement, granting of licenses, the action for writ mandamus the protection of trade secrets, and in general the civil penal and administrative suits relating to those rights actions and suits instituted by me (us) or against me (us) And that in all the above matters they may substitute this Power of Attorney compromise conciliate



2010. 2월 24일

promuevan. Y para que en todos los asuntos arriba determinados, puedan
sustituir este mandato, transigir conciliar admitir los hechos del
proceso, desistir cancelar recibir renunciar y ratificar los actos de
agentes oficiosos.

admit the facts of the case desist, cancel receive resign, and ratify acts
done by representatives without a power of attorney

Dado y firmado hoy/Given and signed this July 15 2003
en/in Seoul Korea
por/by _____

Firma LG LIFE SCIENCES LTD
President Heung Joon YANG

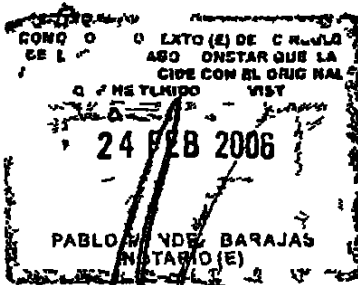
Signature

Heung Joon Yang

C M O SEKTO (N) DEL C RCULO
E SOGO GO CON T R QUE LA
FOTOC VIA COING DE CON EL O RINAL
QUE E IDO VIST
24 FEB 2006
PABLO MENDEZ BARRAS
NOTARIO ()

au

[Handwritten signature]



서울 강남구 역삼동 825-33
테헤란빌딩 8층

공증
인가
법무법인 한
결

(02)3487 3500

등부 2003 년 제 1980 호

Registered No 2003-1980

NOTARIAL CERTIFICATE

인 증

Kyu Hyung LEE

attorney-in-fact of

LG LIFE SCIENCES LTD

PRESIDENT Heung Joon YANG

위 위 임 장-----

에 기재된 주식회사 엘지생명과학

대표이사 양 홍 준-----

의 대리인-----이 규 형은(는)

본직의 면전에서 위 본인이 서명날인

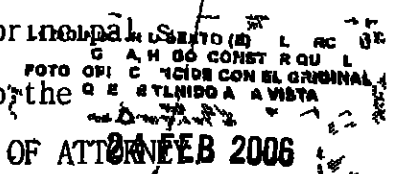
한 것임을 자인하였다

appeared before me and

admitted said principal's

subscription to the

attached POWER OF ATTORNEY



2003 년 7 월 29 일

This is hereby attested

on this 29th day of Jul 2003

at this office

이 사무소에서 위 인증한다

공증
인가
법무법인 한 결

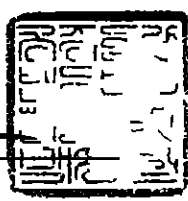
HANKYUL LAW FIRM & NOTARY OFFICE

서울 강남구 역삼동 825-33

825-33 YOKSAM-DONG KANGNAM-GU

SEOUL KOREA

1m 3 82



Baib Samper

공증 담당변호사

Attorney at Law acting as Notary Public

This office has been authorized by the
Minister of Justice Republic of Korea to
act as Notary Public since 2000 09 30
under Law No 3790

COMO Y H SEXTO (E) C) CU D
DE OGOT H SO CO ST AUE LA
TOGO I CO I DE CON EL ORIG NAL
Q CH TEN DO LA Y ST
24 FEB 2006
PABLO BLNDE BARAJAS
NOTARIO (E)



CERTIFICATE OF BUSINESS REGISTRATION

(Juridical person)

Registration Number 107 86 21066

1 Name of Business LG LIFE SCIENCES LTD

2 Name of Representative Heung Joon YANG

3 Starting Date of Biz August 1 2002

4 I D Number 110111 2581183

5 Place of Business 20 Youdo-Dong Youngdungpo Gu, Seoul, Korea

6 Place of Head Office 20 Youdo-Dong, Youngdungpo-Gu, Seoul Korea

7 Kind of Business Business Manufacturing
Kind Medicines Farming drugs

8 Issuing Purpose New Juridical person

C MO NOTARIO SIENTO (E) DE CIRC 0-1
O BOGOTA, MADON CONST QUE
TOCO LA CO NC E CON EL ORIGINAL
Q H TEN DO L VIS A

24 FEB 2006

PABLO MELDEZ BARAJAS
NOTARIO (F)

Dated July 26 2002

/S/ Official Seal Affixed

Head Officer
Youngdungpo Tax Office



사업자등록증

(법인사업자)

등록번호 107-86-21066

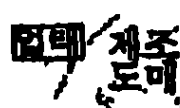
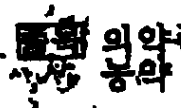
법인명(단체명) (주) 엘지생명과학

대표자 양홍준

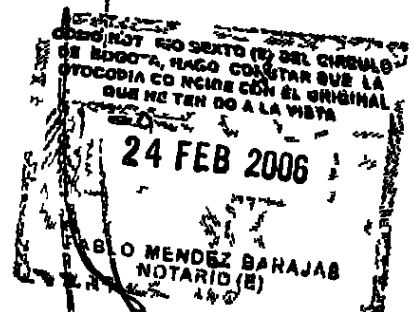
개업년월일 2002년 08월 01일 법인등록번호

사업장소재지 서울특별시 영등포구 여의도동 20

본점소재지 서울특별시 영등포구 여의도동 20

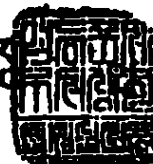
사업의종류,  제조업  의약품

교부사유 신규법인



2002년 07월 26일

영등포세무서장



12
1

TRADUCCIÓN OFICIAL 047/2004 DE UN DOCUMENTO ESCRITO EN INGLÉS Y
EN ESPAÑOL REALIZADA POR EDUARDO CALADO NOGUERA TRADUCTOR
OFICIAL APROBADO POR RESOLUCION 541 DEL 27 DE FEBRERO DE 1976 POR
EL MINISTERIO DE JUSTICIA Y DEBIDAMENTE REGISTRADO ANTE EL
MINISTERIO DE RELACIONES EXTERIORES DE LA REPUBLICA DE COLOMBIA Y
MEDIANTE EL CUAL LG LIFE SCIENCES LTD EMPRESA DOMICILIADA EN
20 YOIDO DONG YONGDUNGPO KU 150 010 SEUL COREA OTORGA PODER
A EMILIO FERRERO TPA 31929 GONZALO PERDOMO TPA 831 LUZ
CLEMENCIA DE PAEZ TPA 23555 Y A GERMAN CAVELIER TPA 832
EXPEDIDO Y FIRMADO EN SEUL COREA EL 15 DE JULIO DE 2003
FIRMADO LG LIFE SCIENCES LTD PRESIDENTE HEUNG JOON YANG

NUMERO DE REGISTRO 2003 1980

CERTIFICACION NOTARIAL

KYU HYUNG LEE apoderado de LG LIFE SCIENCES LTD PRESIDENTE
HEUNG JOON YANG compareció ante mí y admitió haber firmado como
principal el poder adjunto

C M H T ROBERTO (R) DEL CIRCULO
DE OSO HAGO CONSTAR QUE LA
O COB C N INE CON EL ORIGINAL
N H DO VISTA
24 FEB 2006
PABLO MENDEZ BARRAJAS
NOTARIO (L)

Se atestigua hoy 29 de julio de 2003 en esta oficina

OFICINA JURÍDICA Y NOTARIAL HANKYUL 825 38 YOKSAM DONG
KANGNAM GU SEÚL COREA

FIRMADO APODERADO QUE ACTUA COMO NOTARIO PUBLICO

Esta oficina ha sido autorizada por el Ministerio de Justicia de
la Republica de Corea para actuar como notaria publica desde el
30 de septiembre de 2000 de acuerdo con la Ley 3790

CERTIFICACIÓN DE REGISTRO COMERCIAL

(PERSONA JURIDICA)

NUMERO DE REGISTRO 107 86 21066

- 1 NOMBRE DE LA EMPRESA LG LIFE SCIENCES LTD
- 2 NOMBRE DEL REPRESENTANTE Heung Joon YANG

13
2

3 FECHA DE INICIACION DE NEGOCIOS 1 de agosto de 2002

4 NÚMERO DE IDENTIFICACIÓN 110111 2581183

5 LUGAR DE NEGOCIOS 20 YOUIDO DONG YOUNGDUNGPO GU SEUL
COREA

6 LUGAR DE OFICINA PRINCIPAL 20 YOUIDO DONG YOUNGDUNGPO
GU SEUL COREA

7 TIPO DE NEGOCIOS MANUFACTURA DE MEDICINAS Y DROGAS
AGROPECUARIAS

8 OBJETIVO DE LA EXPEDICIÓN NUEVA PERSONA JURIDICA

FECHADO EL 26 DE JULIO DE 2002

SELLO OFICIAL FIJADO FIRMA

FUNCIONARIO PRINCIPAL

OFICINA TRIBUTARIA DE YOUNGDUNGPO

NUMERO DE REGISTRO 2003 1980

CERTIFICADO NOTARIAL

OFICINA NOTARIAL Y DE FIRMA JURIDICA HANKYUL

#825 33 YOKSAM DONG KANGNAM GU SEUL COREA

La firma y cargo de Paik Seung Hung se encuentran autenticados
mediante diligencia 387 del 30 de julio de 2003 por el Consulado
de Colombia en Seul Corea Firmado ALVARO ENRIQUE AYALA
MELENDEZ cónsul de Colombia

Sello fijado por el Ministerio de Relaciones Exteriores
diligencia 208440 del 26 de febrero de 2004 para autenticar la
firma de Alvaro Ayala Firma ilegible jefe de legalizaciones
Bogota D C

COLO 9281 706 003 1

WPCL002G ID 3568

Bogota 27 de febrero de 2004

C NO OT RIO XTO (E) EL CIRCULO
DE BOGOTA, AGO CONST R QUE LA
FOTOCO O N I E CON EL ORIGINAL
EN DO A LA YI TA
24 FEB 2006

PABLO MELENDEZ E
NOTARIO

Eduardo Calado
Eduardo Calado Negrete
"TRADUCTOR OFICIAL"
NUEVO ESPAÑOL
Bogotá, 31 de Febrero de 2004

COMO NOTARIO SEXTO DEL CIRCULO DE SANTA FE DE
BOGOTA, HAGO CONSTAR QUE LA FIRMA DE
Edmundo Calvo
Vaqueiro
RECIBIDA POR
21 MAY 2004



Edmundo Calvo

EDMUNDO NOTARIO SEXTO (E) DEL CIRCULO
DE BOGOTA, HAGO CONSTAR QUE LA
FOTOCOPIA COINCIDE CON EL ORIGINAL
FOTOCOPIADO HE TENIDO A LA VISTA
24 FEB 2006

(19) World Intellectual Property
Organization
International Bureau



(43) International Publication Date
10 March 2005 (10 03 2005)

PCT

(10) International Publication Number
WO 2005/021516 A1

(51) International Patent Classification⁷ C07D 261/04

(21) International Application Number
PCT/KR2004/002139

(22) International Filing Date 26 August 2004 (26 08 2004)

(25) Filing Language English

(26) Publication Language English

(30) Priority Data
10 2003-0059451 27 August 2003 (27 08 2003) KR

(71) Applicant (for all designated States except US) LG LIFE SCIENCES LTD. [KR/KR] LG TWIN TOWER EAST TOWER 20 YOIDO DONG YOUNGDEUNGPO-GU SEOUL 150 010 (KR)

(72) Inventors and

(75) Inventor/Applicants (for US only) CHANG Hye Kyung [KR/KR] R & D Park, LG Life Sciences Ltd 104-1 Moongi-dong Yuseong gu, Daejeon 305 380 (KR) OH, Yeong-Soo [KR/KR] R & D Park LG Life Sciences Ltd 104-1 Moongi-dong Yuseong gu, Daejeon 305 380 (KR) PARK, Cheol Won [KR/KR] R & D Park LG Life Science Ltd 104 1 Moongi-dong Yuseong gu Daejeon 305 380 (KR) JANG, Yong Jin [KR/KR] R & D Park LG Life Sciences Ltd 104 1 Moongi-dong Yuseong gu Daejeon 305 380 (KR) PARK, Tae Kyo [KR/KR] R & D Park, LG Life Sciences Ltd 104-1 Moongi-dong Yuseong gu Daejeon 305 380 (KR) KIM, Sung-Sub [KR/KR] R & D Park LG Life Sciences Ltd 104-1 Moongi-dong Yuseong gu Daejeon 305 380 (KR) KIM, Min-Jung [KR/KR] R & D Park, LG Life Sciences Ltd 104-1 Moongi-dong Yuseong gu, Daejeon 305 380 (KR) PARK, Mi Jeong [KR/KR] R & D Park LG Life Sciences Ltd 104-1 Moongi-dong Yuseong gu, Daejeon 305 380 (KR) PARK, Jung-Gyu [KR/KR] R & D Park, LG Life Sciences Ltd 104 1 Moongi-dong Yuseong gu Daejeon 305 380 (KR) PARK Hee-Dong [KR/KR] R & D Park LG Life Sciences Ltd 104 1 Moongi-dong Yuseong gu Daejeon 305 380 (KR) MIN Kyeong Sik [KR/KR] R & D Park, LG Life Sciences Ltd 104-1 Moongi-dong Yuseong gu Daejeon 305 380 (KR) LEE, Tae-Soo [KR/KR] R & D Park LG Life Sciences Ltd 104 1 Moongi-dong Yuseong gu Daejeon 305 380 (KR) LEE Sang-Kyun [KR/KR] R & D Park LG Life Sciences Ltd 104-1 Moongi-dong Yuseong gu Daejeon 305 380 (KR) KIM, Soo Hyeon [KR/KR] R & D Park, LG Life Sciences Ltd 104 1 Moongi-dong Yuseong gu Daejeon 305 380 (KR) JEONG Hee-Kyung [KR/KR]

R & D Park, LG Life Sciences Ltd 104 1 Moongi-dong Yuseong gu Daejeon 305 380 (KR) LEE, Sun Hwa [KR/KR] R & D Park LG Life Sciences Ltd 104-1 Moongi-dong Yuseong gu Daejeon 305 380 (KR) KIM, Hwa Dong [KR/KR] R & D Park, LG Life Sciences Ltd 104-1 Moongi-dong, Yuseong gu Daejeon 305 380 (KR) KIM, Ae Ri [KR/KR] R & D Park, LG Life Sciences Ltd 104-1 Moongi-dong Yuseong gu Daejeon 305 380 (KR) PARK, Ki-Sook [KR/KR] R & D Park, LG Life Sciences Ltd 104 1 Moongi-dong Yuseong gu Daejeon 305 380 (KR) SHIN Hyun Ik [KR/KR] R & D Park LG Life Sciences Ltd. 104 1 Moongi-dong Yuseong gu Daejeon 305 380 (KR) CHOI Hyeong Wook [KR/KR] R & D Park, LG Life Sciences Ltd 104 1 Moongi-dong Yuseong gu Daejeon 305 380 (KR) LEE, Kyu Woong [KR/KR] R & D Park LG Life Sciences Ltd 104-1 Moongi-dong Yuseong gu Daejeon 305 380 (KR) LEE, Jae Hoon [KR/KR] R & D Park, LG Life Sciences Ltd 104-1 Moongi-dong Yuseong gu Daejeon 305 380 (KR) HEO Tae-Ho [KR/KR] R & D Park LG Life Sciences Ltd 104-1 Moongi-dong, Yuseong gu Daejeon 305 380 (KR) KIM, Ho-Jun [KR/KR] R & D Park LG Life Sciences Ltd 104 1 Moongi-dong Yuseong gu Daejeon 305 380 (KR) KWON Tae-Sik [KR/KR] R & D Park LG Life Sciences Ltd 104 1 Moongi-dong Yuseong gu Daejeon 305 380 (KR)

(74) Agent CHOI Kyu Pal Halla Classic Building 4F 824-11 Yeoksam-dong Kangnam gu Seoul 135-080 (KR)

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

(84) Designated States (unless otherwise indicated for every kind of regional protection available) ARIPO (BW, GH, GM, KE, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW) Eurasian (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM) European (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IT, LU, MC, NL, PL, PT, RO, SE, SI, SK, TR) OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG)

Published
with international search report

[Continued on next page]

(54) Title CASPASE INHIBITORS CONTAINING ISOXAZOLINE RING

(57) Abstract The present invention relates to an isoxazoline derivative as an inhibitor against various caspases, a process for preparing the same and a therapeutic composition for preventing inflammation and apoptosis comprising the same

WO 2005/021516 A1

PATENT COOPERATION TREATY

PCT

INTERNATIONAL PRELIMINARY REPORT ON PATENTABILITY

(Chapter II of the Patent Cooperation Treaty)

(PCT Article 36 and Rule 70)

Applicant's or agent's file reference PC04010LGLS	FOR FURTHER ACTION See Form PCT/IPEA/416	
International application No PCT/KR2004/002139	International filing date(day/month/year) 26 AUGUST 2004 (26 08 2004)	Priority date (day/month/year) 27 AUGUST 2003 (27 08 2003)
International Patent Classification (IPC) or national classification and IPC IPC7 C07D 261/04		
Applicant LG LIFE SCIENCES LTD et al		

- 1 This report is the international preliminary examination report established by this International Preliminary Examining Authority under Article 35 and transmitted to the applicant according to Article 36
- 2 This REPORT consists of a total of 4 sheets including this cover sheet
- 3 This report is also accompanied by ANNEXES comprising
- a. ☐ (sent to the applicant and to the International Bureau) a total of _____ sheets as follows
- ☐ sheets of the description claims and/or drawings which have been amended and are the basis for this report and/or sheets containing rectifications authorized by this Authority (see Rule 70.16 and Section 607 of the Administrative Instructions)
- ☐ sheets which supersede earlier sheets but which this Authority considers contain an amendment that goes beyond the disclosure in the international application as filed as indicated in item 4 of Box No. I and the Supplemental Box
- b. ☐ (as the International Bureau) a total of (indicate type and number of electronic carrier(s)) _____ containing a sequence listing and/or tables related thereto in computer readable form only as indicated in the Supplemental Box relating to Sequence Listing (see Section 802 of the Administrative Instructions)

- 4 This report contains indications relating to the following items
- ☒ Box No. I Basis of the report
- ☐ Box No. II Priority
- ☐ Box No. III Non-establishment of opinion with regard to novelty, inventive step and industrial applicability
- ☐ Box No. IV Lack of unity of invention
- ☒ Box No. V Reasoned statement under Article 35(2) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability, citations and explanations supporting such statement
- ☐ Box No. VI Certain documents cited
- ☐ Box No. VII Certain defects in the international application
- ☐ Box No. VIII Certain observations on the international application

Date of submission of the demand 22 MARCH 2005 (22 03 2005)	Date of completion of this report 28 JUNE 2005 (28 06 2005)
Name and mailing address of the IPEA/KR  Korean Intellectual Property Office 920 Dunsan-dong, Seo-gu, Daejeon 302-701 Republic of Korea Facsimile No. 82-42-472 7140	Authorized officer Yoon Kyung Ae Telephone No. 82-42-481 5605 

INTERNATIONAL PRELIMINARY REPORT ON PATENTABILITY

International application No
PCT/KR2004/002139

Box No 1 Basis of the report

- 1 With regard to the language this report is based on the international application in the language in which it was filed unless otherwise indicated under this item.
- ☐ This report is based on translations from the original language into the following language _____ which is the language of a translation furnished for the purposes of
- ☐ international search (under Rules 12.3 and 23.1(b))
- ☐ publication of the international application (under Rule 12.4)
- ☐ international preliminary examination (under Rules 55.2 and/or 55.3)
- 2 With regard to the elements of the international application, this report is based on *(replacement sheets which have been furnished to the receiving Office in response to an invitation under Article 14 are referred to in this report as "originally filed" and are not annexed to this report)*
- ☒ the international application as originally filed/furnished
- ☐ the description
- pages _____ as originally filed/furnished
- pages _____ received by this Authority on _____
- pages _____ received by this Authority on _____
- ☐ the claims
- pages _____ as originally filed/furnished
- pages _____ as amended (together with any statement) under Article 19
- pages _____ received by this Authority on _____
- pages _____ received by this Authority on _____
- ☐ the drawings
- pages _____ as originally filed/furnished
- pages _____ received by this Authority on _____
- pages _____ received by this Authority on _____
- ☐ the sequence listing and/or any related table(s) see Supplemental Box Relating to Sequence Listing
- 3 ☐ The amendments have resulted in the cancellation of
- ☐ the description pages _____
- ☐ the claims Nos _____
- ☐ the drawings sheets _____
- ☐ the sequence listing (specify) _____
- ☐ any table(s) related to sequence listing (specify) _____
- 4 ☐ This report has been established as if (some of) the amendments annexed to this report and listed below had not been made since they have been considered to go beyond the disclosure as filed as indicated in the Supplemental Box (Rule 70.2(c))
- ☐ the description pages _____
- ☐ the claims Nos _____
- ☐ the drawings sheets _____
- ☐ the sequence listing (specify) _____
- ☐ any table(s) related to sequence listing (specify) _____

If item 4 applies some or all of those sheets may be marked superseded

INTERNATIONAL PRELIMINARY REPORT ON PATENTABILITY

International application No
PCT/KR2004/002139

Box No V Reasoned statement under Article 35(2) with regard to novelty Inventive step or industrial applicability citations and explanations supporting such statement

1 Statement

Novelty (N)	Claims	1 21	YES
	Claims		NO
Inventive step (IS)	Claims	1 21	YES
	Claims		NO
Industrial applicability (IA)	Claims	1 19	YES
	Claims	20 21	NO

2 Citations and explanations (Rule 70 7)

The following documents are referred to in this report

- D1 KR 1999-0079268 A (05 Nov 1999)
- D2 WO 01/21600 A1 (29 March 2001)
- D3 WO 95/14681 A1 (01 June 1995)
- D4 WO 95/14680 A1 (01 June 1995)
- D5 WO 94/12481 A1 (09 June 1994)

1 Novelty

The subject-matter of claims 1-21 in the present invention relates to an isoxazoline derivative of formula (1) as an inhibitor against various caspases a process for preparing the same and a therapeutic composition for preventing inflammation and apoptosis comprising the same

D1 discloses an isoxazoline derivative as an inhibitor against interleukin-1 β converting enzyme(ICE or caspase 1) and apopain/CPP-32(caspase 3) D2 discloses isoxazoline derivatives as a caspase inhibitor and they can be effectively used in treating diseases due to caspases such as dimentia cerebral stroke AIDS diabetes gastric ulcer hepatitis sepsis organ transplantation rejection and inflammation D3 and D4 disclose isoxazoline derivatives which are selective inhibitors of phosphodiesterase type IV and they are useful as anti-inflammatory agents D5 discloses isoxazoline derivatives having the ability to inhibit a 5-lipoxygenase enzyme and they are useful as anti-inflammatory agents

None of D1-D5 discloses the isoxazoline derivative of formula (1) in the present invention

Therefore claims 1-21 of the present invention can be considered to be novel over D1-D5[Article 33(2) PCT]

18

INTERNATIONAL PRELIMINARY REPORT ON PATENTABILITY

International application No
PCT/KR2004/002139

Supplemental Box

In case the space in any of the preceding boxes is not sufficient
Continuation of

Box V

The both isoxazoline derivatives in D2 and the present invention have the same backbone structures but slightly different substituents. According to the comparison data (Table 5) of experiment 7 written in the specification of the present invention, the compound of formula (1) in the present invention is surprisingly superior to the isoxazoline derivative (LB84068MP) in D2 in terms of the inhibitory effect against caspases and the solubility.

Therefore, the inventive step of claims 1-21 can be acknowledged over D2 [Article 33(3) PCT].

3 Industrial Applicability

The subject-matter of claims 1-19 appears to be industrially applicable.

The subject-matter of claims 20 and 21 relates to a method of therapeutic treatment and a medical use of the formula (1) compound. Concerning the assessment of the industrial applicability of the subject-matter relating to therapeutic applications, no unified criteria exist in the PCT. The patentability can also be dependent upon the formulation of the claim [Article 33(4) PCT].

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/KR2004/002139

A CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER IPC7 C07D 261/04 According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC														
B. FIELDS SEARCHED Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) IPC7 C07D 261/04 Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched Korean patents and applications for inventions since 1975 Electronic database consulted during the international search (name of database and, where practicable, search terms used) STN[Caslink]														
C DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT														
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.												
A	KR 1999-0079263 A (LG CHEMICAL LTD) 05 November 1999 See the whole document.	1 21												
D A	WO 01/21600 A1 (LG CHEMICAL LTD) 29 March 2001 See the whole document.	1 21												
A	WO 95/14681 A1 (PFIZER INC) 01 Jun 1995 See the whole document.	1 21												
A	WO 95/14680 A1 (PFIZER INC) 01 June 1995 See the whole document.	1 21												
A	WO 94/12481 A1 (PFIZER INC.) 09 June 1994 See the whole document.	1 21												
☐ Further documents are listed in the continuation of Box C ☒ See patent family annex.														
<table><tr><td>Special categories of cited documents</td><td>"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention</td></tr><tr><td>A document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance</td><td>"X" document of particular relevance the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone</td></tr><tr><td>"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date</td><td>"Y" document of particular relevance, the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to person skilled in the art</td></tr><tr><td>"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of citation or other special reason (as specified)</td><td>& document member of the same patent family</td></tr><tr><td>"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means</td><td></td></tr><tr><td>P document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed</td><td></td></tr></table>			Special categories of cited documents	"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention	A document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance	"X" document of particular relevance the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone	"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date	"Y" document of particular relevance, the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to person skilled in the art	"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of citation or other special reason (as specified)	& document member of the same patent family	"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means		P document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed	
Special categories of cited documents	"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention													
A document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance	"X" document of particular relevance the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone													
"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date	"Y" document of particular relevance, the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to person skilled in the art													
"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of citation or other special reason (as specified)	& document member of the same patent family													
"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means														
P document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed														
Date of the actual completion of the international search 09 NOVEMBER 2004 (09 11 2004)		Date of mailing of the international search report 10 NOVEMBER 2004 (10 11 2004)												
Name and mailing address of the ISA/KR  Korean Intellectual Property Office 920 Dunsan-dong, Seo gu, Daejeon 302 701 Republic of Korea Facsimile No 82-42-472 7140		Authorized officer LEE, Mi Jeong Telephone No. 82-42-481 5601 												

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/KR2004/002139

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
KR 19990079268 A	05 11 1999	None	
WO 0121600 A1	29 03 2001	WO 0121599 A1 US 6747050 A KR 1045347 A JP 2003509502 T2 EP 1212309 A1 CN 1137888 C CA 2388564 AA AU 5782899 A1	29 03 2001 08 06 2004 05 06 2001 11 03 2003 12 06 2002 11 02 2004 29 03 2001 24 04 2001
WO 9514681 A1	01 06 1995	US 5716967 A KR 0182324 B1 JP 02802547 B2 EP 0730588 B1 CN 1136314 A CA 2176255 AA AU 7821894 A1	10 02 1998 01 05 1999 24 09 1998 02 07 1997 20 11 1996 01 06 1995 13 06 1995
WO 95/14680 A1	01 06 1995	US 5686434 A JP 09500146 T2 EP 0730587 A1 CA 2177375 AA AT 0187447 E	11 11 1997 07 01 1997 11 09 1996 01 06 1995 15 12 1999
WO 94/12481 A1	09 06 1994	US 5552424 A KR 0163648 B1 JP 06157485 A2 EP 0689914 A1 CN 1091132 A CA 2149245 AA AU 0675256 B2	03 09 1996 01 12 1998 03 06 1994 06 09 1995 24 08 1994 09 08 1994 30 01 1997

Description

CASPASE INHIBITORS CONTAINING ISOXAZOLINE RING

[1]

TECHNICAL FIELD

[2]

[3]

The present invention relates to an isoxazoline derivative as an inhibitor against various caspases including caspase 1[interleukin 1 β converting enzyme ICE] and caspase 3[apopain/CPP 32] a process for preparing the same and a therapeutic composition for preventing inflammation and apoptosis comprising the same

[4]

BACKGROUND ART

[5]

[6]

Caspase is a new kind of cysteine protease in the form of $\alpha_2\beta_2$ discovered during the last 10 years. About 14 kinds thereof have been known until now. Caspase 1(ICE) one of them is a kind of cytokines and participates in converting the inactive prointerleukin 1 β to the active interleukin 1 β . Interleukin 1 consists of interleukin 1 α and interleukin 1 β both of which are synthesized in monocytes in the form of a precursor having 31kDa. Only prointerleukin 1 β is activated by ICE. The positions hydrolyzed by caspase 1 are Asp²⁷ Gly⁸ and Asp¹¹⁶ Ala¹¹⁷. The hydrolysis of the latter position gives interleukin 1 β . Interleukin 1 β has been reported to act as an important mediator in causing inflammation (1, 3). Caspase 1 has been discovered for the first time in 1989 and in two independent study groups the three dimensional structure thereof was determined by X ray crystallographic method.

[7]

[8]

Caspase 3(CPP 32) is broadly studied for its role or mechanism for action and its three dimensional structure was determined in 1996(2). Caspase 3(apopain) activated from procaspase 3 hydrolyzes (P4)Asp X X Asp(P1) motif and the known substrates include poly(ADP ribose) polymerase U1 70 000 Mr small nuclear ribonucleoprotein and catalytic subunit of 460 000 Mr DNA dependent protein kinase etc. The X ray structure of caspase 7 has been reported to be very similar to that of caspase 3(4).

[9]

[10]

Caspase 8 and 9 are present in the upstream of caspase 3, 6, 7 and these caspases are known to participate in the apoptosis cascade. The X ray structure of caspase 8

was determined in 1999(5) and particularly the inhibitors thereof may be advantageously used for treating the diseases related to apoptosis

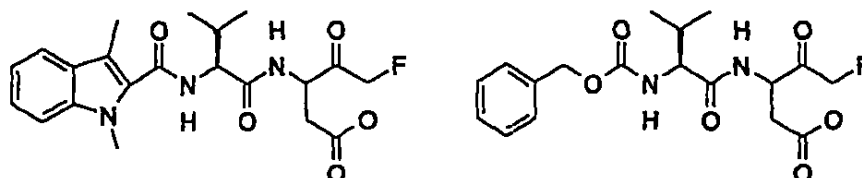
[11]

[12] Caspase inhibitors mean those compounds that inhibit the activity of caspase and so control such symptoms as inflammation apoptosis etc caused by the caspase activity Diseases or symptoms that may be treated or attenuated by administering the inhibitors include the following rheumatoid arthritis inflammatory bowel disease graft vs host disease sepsis osteoarthritis osteoporosis acute and chronic myelogenous leukemia meningitis salpingitis septic shock, cholangitis colitis encephalitis endocarditis glomerulonephritis hepatitis myocarditis pancreatitis type I diabetes mellitus multiple sclerosis Alzheimer's disease Parkinson's disease hepato cirrhosis(6)

[13]

[14] Among the caspase inhibitors known until now the most noted irreversible inhibitors are the following

[15]



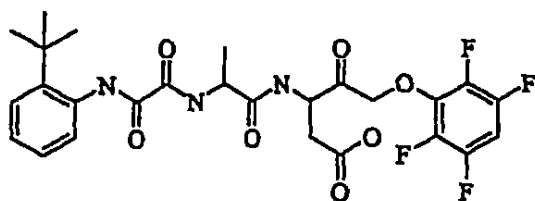
IDN-1965

MX-1013

[16]

[17] Both the above inhibitors exhibit their activity based on the common mechanism that they irreversibly inactivate the enzyme to suppress the cell apoptosis (irreversible broad spectrum inhibitor). It has been reported that irreversible inhibitor has much more effective inhibitory activity when comparing the irreversible and reversible inhibitors (7). Both IDN 1965 of IDUN Co. and MX 1013 of Maxim Co. are reported to show activity in cell apoptosis model for hepatic injury (8, 9). These compounds are now in the stage of preclinical test. The irreversible inhibitor IDN 6556, the structure of which has been recently reported, is now in the stage of phase II clinical test as a therapeutic agent for hepatic injury (10, 11).

[18]



IDN-6556

- [19]
- [20] References
- [21] (1) *Inflammation Basic Principles and Clinical Correlates* 2nd ed ed by Gahn Goldstein and Snyderman Raven Press Ltd New York 1992 pp211 232 *Blood* 1996 87(6) 2095 2147
- [22] (2) Wilson K P et al *Nature* 1994 370 270 Walker N P C et al *Cell* 1994 78 343 *Nature Structural Biology* 1996 3(7) 619
- [23] (3) Thornberry N A et al *Nature* 1992 356 768 *Nature Biotechnology* 1996 14 297 *Protein Science* 1995 4 3 *Nature* 1995 376(July 6) 37 *Protein Science* 1995 4 2149
- [24] (4) Wei Y et al *Chemistry and Biology* 2000 7 423
- [25] (5) Blanchard H et al *Structure* 1999 7 1125 Blanchard H et al *J of Mol Biol* 2000 302 9
- [26] (6) References for caspase related diseases
- [27] Dementia Arch Neurol 2003 Mar 60(3) 369 76 Caspase gene expression in the brain as a function of the clinical progression of Alzheimer disease Pompl RN Yemul S Xiang Z Ho L, Haroutunian V Purohit D Mohs R Pasinetti GM
- [28]
- [29] Cerebral stroke Proc Natl Acad Sci U S A 2002 Nov 12 99(23) 15188 93 Caspase activation and neuroprotection in caspase 3 deficient mice after in vivo cerebral ischemia and in vitro oxygen glucose deprivation Le DA Wu Y Huang Z Matsushita K Plesnila N Augustinack JC Hyman BT Yuan J Kuida K Flavell RA Moskowitz MA
- [30]
- [31] Brain impairment due to AIDS J Neurosci 2002 May 15 22(10) 4015 24 Caspase cascades in human immunodeficiency virus associated neurodegeneration Garden GA Budd SL Tsai E, Hanson L Kaul M D Emihia DM Friedlander RM Yuan J Mashah E Lipton SA
- [32]

- [33] Diabetes Diabetes 2002 Jun 51(6) 1938 48 Hyperglycemia induced apoptosis in mouse myocardium mitochondrial cytochrome C mediated caspase 3 activation pathway Cai L Li W Wang G Guo L Jiang Y Kang YJ
- [34]
- [35] Gastric ulcer J Physiol Pharmacol 1998 Dec 49(4) 489 500 Role of basic fibroblast growth factor in the suppression of apoptotic caspase 3 during chronic gastric ulcer healing Sbmiany BL Piotrowski J Sbmiany A
- [36]
- [37] Cerebral injury by hepatitis J Viral Hepat 2003 Mar 10(2) 81 6 Cerebral dysfunction in chronic hepatitis C infection Forton DM Taylor Robinson SD Thomas HC
- [38]
- [39] Fulminant hepatic failure Gastroenterology 2000 Aug 119(2) 446 60 Tumor necrosis factor alpha in the pathogenesis of human and murine fulminant hepatic failure Streetz K Leifeld L Grundmann D Ramakers J Eckert K Spengler U Brenner D Manns M Trautwein C
- [40]
- [41] Sepsis Nat Immunol 2000 Dec 1(6) 496 501 Caspase inhibitors improve survival in sepsis a critical role of the lymphocyte Hotchkiss RS Chang KC Swanson PE Tinsley KW Hui JJ Klender P Xanthoudakis S Roy S Black C Grimm E Aspiotis R Han Y Nicholson DW Karl IE
- [42]
- [43] Organ transplantation rejection Xenotransplantation 2001 May 8(2) 115 24 In vitro prevention of cell-mediated xeno-graft rejection via the Fas/FasL pathway in CrmA transduced porcine kidney cells Fujino M Li XK Suda T Hashimoto M Okabe K Yagnuma H Mikoshiba K Guo L Okuyama T Enosawa S Amemiya H Amano T Suzuki S
- [44]
- [45] Rheumatic arthritis Prog Med Chem 2002 39 1 72 Caspase inhibitors as anti inflammatory and antiapoptotic agents Graczyk PP
- [46]
- [47] Ischemic cardiac diseases Am J Physiol Heart Circ Physiol 2002 Sep 283(3) H990 5 Hypoxia induced cleavage of caspase 3 and DFF45/ICAD in human failed cardiomyocytes Todor A Sharov VG Tanhehco EJ Silverman N Bernabei A Sabbah HN

- [48]
- [49] Anti inflammation J Immunol 2003 Mar 15 170(6) 3386-91 A broad spectrum caspase inhibitor attenuates allergic airway inflammation in murine asthma model
Iwata A Nishio K Winn RK Chi EY Henderson WR Jr Harlan JM
- [50]
- [51] Cirrhosis i) J Pharmacol Exp Ther 2004 Mar 308(3) 1191-6 The caspase inhibitor Idn 6556 attenuates hepatic injury and fibrosis in the bile duct ligated mouse
Canbay A Feldstein A Baskin Bey E Bronk FS Gores GJ ii) Hepatology 2004 Feb 39(2) 273-8 Apoptosis: the nexus of liver injury and fibrosis Canbay A Friedman S Gores GJ iii) Hepatology 2003 Nov 38(5) 1188-98 Kupffer cell engulfment of apoptotic bodies stimulates death ligand and cytokine expression
Canbay A Feldstein AE Higuchi H Werneburg N Gramlichler A Bronk SF Gores GJ
- [52]
- [53] (7) Wu J et al *Methods: A Companion to Methods in Enzymology* 1999 17 320
- [54] (8) Hoglen N C et al *J of Pharmacology and Experimental Therapeutics* 2001 297 811
- [55] (9) Jaeschke H et al *Toxicology and Applied Pharmacology* 2000 169 77
- [56] (10) Hoglen NC et al *J Pharmacol Exp Ther* 2004 309(2) 634 Characterization of IDN 6556 (3-[2-(2-tert-butyl-phenylamino)oxalyl]amino]propionylamino]-4-oxo-5-(2,3,5,6-tetrafluorophenoxy)pentanoic acid) a liver targeted caspase inhibitor
- [57] (11) Canbay A et al *J Pharmacol Exp Ther* 2004 308(3) 1191 The caspase inhibitor IDN 6556 attenuates hepatic injury and fibrosis in the bile duct ligated mouse

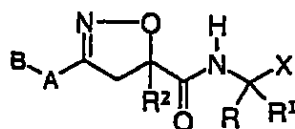
[58]

DISCLOSURE OF THE INVENTION

[59]

- [60] The present inventors newly designed and synthesized some compounds which can be used as an effective inhibitor against caspases and have a distinctive structure and high selectivity for similar enzymes and determined their binding ability and inhibitory activity for caspases. As a result, the inventors have discovered that a compound of the following formula (1) does meet such requirements and completed the present invention.

[61]



[62] (1)

[63] in which

[64] A B R R¹ R² and X are defined as described below

[65]

[66] Therefore the present invention provides the novel isoxazoline derivative of formula (1) salt, or stereoisomer thereof having effective inhibitory activity against caspases

[67]

[68] It is another object of the present invention to provide a process for preparing the compound of formula (1) salt or stereoisomer thereof

[69]

[70] It is also another object of the present invention to provide a composition a use or a method for inhibiting caspases specifically a therapeutic composition a use or a method for preventing inflammation and apoptosis comprising the compound of formula (1) salt or stereoisomer thereof as an active ingredient together with the pharmaceutically acceptable carrier

[71]

BRIEF DESCRIPTION OF THE DRAWINGS

[72]

[73] Figure 1 shows the inhibitory activity of Compound (Iu) against the hepatic fibrosis due to the bile stagnation a) in Figure 1 represents the case of Sham operation b) represents the case of BDL operation where only the vehicle was administered after the ligation of biliary duct, c) represents the case where Compound (Iu) was orally administered in a dosage of 3 mg / kg twice a day for 1 week after 1 week from the ligation of biliary duct and d) represents the case where Compound (Iu) was orally administered in a dosage of 10 mg / kg twice a day for 1 week after 1 week from the ligation of biliary duct

[74]

[75] Figure 2 shows the inhibitory activity of Compound (Iu) against the hepatic cell apoptosis due to the bile stagnation a) in Figure 2 represents the case of Sham operation b) represents the case of BDL operation where only the vehicle was administered after the ligation of biliary duct c) represents the case where Compound

(Iii) was orally administered in a dosage of 3 mg / kg twice a day for 1 week after 1 week from the ligation of biliary duct d) represents the case where Compound (Iii) was orally administered in a dosage of 10 mg / kg twice a day for 1 week after 1 week from the ligation of biliary duct, and e) is a graph showing the number of hepatic cells subjected to apoptosis in each treatment group

[76]

BEST MODE FOR CARRYING OUT THE INVENTION

[77]

[78] In advance of illustrating the present invention in detail the following important terms are defined first

[79] a) Simple Alkyl Chain (SAC below) means a hydrocarbon having 1 to 8 carbon atoms in either linear or branched isomeric form

[80]

[81] b) Simple CycloAlkyl Chain (SCAC below) means a cyclic radical having 3 to 10 carbon atoms

[82]

[83] c) Aryl group (Ar below) includes both the aromatic and heteroaromatic groups. The aromatic group means a 5 to 15 membered single or fused unsaturated cycle. One or more hydrogens may be replaced with a group(s) selected from the following: acyl, amino, carboalkoxy, carboxy, carboxyamino, cyano, halo, hydroxy, nitro, thiol, alkyl, cycloalkyl, alkoxy, aryloxy, sulfoxy, and guanido group. The heteroaromatic group means the aromatic group containing 1 to 5 hetero atoms selected from a group consisting of oxygen, sulfur, and nitrogen. Likewise, one or more hydrogens may be replaced with a group(s) selected from the following: acyl, amino, carboalkoxy, carboxy, carboxyamino, cyano, halo, hydroxy, nitro, thiol, alkyl, cycloalkyl, alkoxy, aryl, aryloxy, sulfoxy, and guanido group. Or, for example, in the case of pyridyl, an alkyl group can be added to the nitrogen atom to convert the pyridyl group to a pyridinium group having (+)-charge on the nitrogen atom.

[84]

[85] The aryl group includes phenyl, biphenyl, 1-naphthyl, 2-naphthyl, pyridinyl, N-alkyl-pyridinium, pyrimidinyl, quinolinyl, benzothienyl, indolyl, pyrazinyl, isoindolyl, isoquinolyl, quinoxalinyl, phthalazinyl, imidazolyl, isoxazolyl, pyrazolyl, oxazolyl, thiazolyl, indolizinyl, indazolyl, benzothiazolyl, benzimidazolyl, benzofuranyl, thienyl, pyrrolyl, oxadiazolyl, thiadiazolyl, triazolyl, tetrazolyl, oxazolopyridinyl, imidazopyridinyl, isothiazolyl, cinnolinyl, carbazolyl, isochromanlyl.

28
28

chromanyl tetrahydroisoquinonyl isoindolonyl isobenzotetrahydrofuranyl isobenzotetrahydro-thienyl isobenzothienyl benzoxazolyl pyridopyridinyl benzotetrahydrofuranyl benzotetrahydrothienyl purinyl benzodioxolyl triazinyl phenoxazinyl phenothiazinyl pteridinyl benzothiazolyl imidazopyridinyl imidazothiazolyl dihydrobenzisoxazinyl benzisoxazinyl benzoxazinyl dihydrobenzisothiopyranyl benzopyranyl benzothiopyranyl coumarinyl isocoumarinyl chromonyl chromanonyl pyridinyl-N oxide tetrahydroquinonyl-N oxide dihydroquinonyl dihydroquinononyl dihydroisoquinolonyl dihydrocoumarinyl dihydroisocoumarinyl isoindolonyl benzodioxanyl benzoxazolonyl N alkyl-pyridium pyrrol-N oxide pyrimidinyl-N oxide pyrazinyl-N oxide quinonyl-N oxide indolyl-N oxide indolonyl-N oxide isoquinolyl-N oxide quinoxalonyl-N oxide phthalazinyl-N oxide imidazolonyl-N oxide isoxazolyl-N oxide oxazolyl-N oxide thiazolyl-N oxide indoliziny-N oxide indazolyl-N oxide benzothiazolyl-N oxide benzimidazolyl-N oxide pyrrolyl-N oxide oxadiazolyl-N oxide thiadiazolyl-N oxide triazolyl-N oxide tetrazolyl-N oxide etc

[86]

[87] d) Simple Alkyl Chain substituted by Aryl (SAC Ar below) means a straight chain or branched alkyl which has 1 to 8 carbon atoms and is substituted by the above mentioned aryl group

[88]

[89] e) Natural amino acid includes the following Glycine Alanine Valine Leucine Isoleucine Serine Threonine Cysteine Methionine Proline Aspartic acid Asparagine Glutamic acid Glutamine Lysine Arginine Histidine Phenylalanine Tyrosine and Tryptophan

[90]

[91] f) The protecting group of simple ester is a hydrocarbon having 1 to 8 carbon atoms in either linear or branched isomeric form

[92]

[93] Further the present specification includes the following abbreviations

[94] N chlorosuccinimide NCS

[95] N methylmorpholine NMM

[96] O (7 azabenzotriazol-1 yl) N,N,N,N tetramethyluroniumhexafluorophosphate HATU

[97] N,N dimethyl formamide DMF

[98] 1 (3 dimethylaminopropyl) 3 ethylcarbodiimide EDC

- [99] 1 hydroxybenzotriazole hydrate HOBt
- [100] trifluoroacetic acid TFA
- [101] t butoxycarbonyl Boc
- [102] benzyloxycarbonyl Cbz
- [103] methyl Me
- [104] ethyl Et
- [105] equivalent Eq
- [106]
- [107] The substituents included in the above formula (1) are specifically defined as follows
- [108] I) R represents H simple alkyl chain (-SAC) simple cycloalkyl chain (-SCAC) aryl group (Ar) or simple alkyl chain substituted by aryl (SAC Ar)
- [109]
- [110] II) R¹ represents SAC SCAC Ar SAC Ar or a side chain residue of all the natural amino acids and the compound of formula (1) may exist in a specific diastereomeric form or mixtures thereof when the carbon to which R¹ is attached becomes a stereocenter due to the R¹ group or the compound of formula (1) may have a protecting group in an ester form (CO₂R³ wherein R³ is SAC) or a sulfonamide form (CONHSO₂R⁴ wherein R⁴ is SAC) or may exist in the form of pharmaceutically acceptable salt when R¹ is a side chain residue of an amino acid containing carboxyl moiety or the compound of formula (1) may also exist in the form of pharmaceutically acceptable salt when R¹ is a side chain residue of an amino acid containing a base moiety
- [111]
- [112] III) R² represents -SAC SCAC Ar SAC Ar or a side chain residue of the natural amino acids and the compound of formula (1) may exist in a specific diastereomeric form or mixtures thereof when the carbon to which R² is attached becomes a stereocenter due to the R² group the compound of formula (1) may have a protecting group in an ester form (CO₂R⁵ wherein R⁵ is SAC) or a sulfonamide form (CONHSO₂R⁶ wherein R⁶ is SAC) or may exist in the form of pharmaceutically acceptable salt when R² is a side chain residue of an amino acid containing carboxyl moiety or the compound of formula (1) may also exist in the form of pharmaceutically acceptable salt when R² is a side chain residue of an amino acid containing a base moiety or R² further represents H (CH₂)_nOR⁷ wherein R⁷ is SAC SCAC Ar or SAC Ar and n = 1 or 2 or (CH₂)_nOC(=O)R⁸ wherein R⁸ is SAC SCAC Ar or

SAC Ar and $n = 1$ or 2

[113]

[114] IV) A represents $(CH_2)_n$ ($n = 0-4$) $O(CH_2)_n$ ($n = 0-4$) or $NR^9(CH_2)_n$ ($n = 0-4$) wherein R^9 is -SAC SCAC Ar or -SAC Ar

[115]

[116] V) Brepresents H SAC SCAC Ar or SAC Ar or

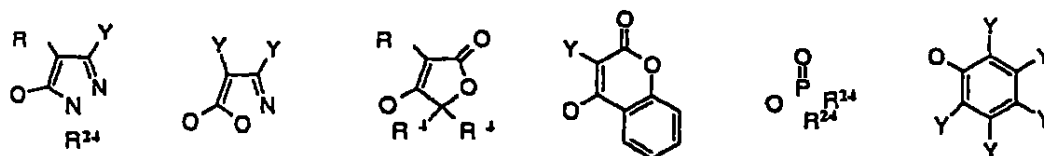
[117]

[118] VI) R and R^1 may form a cycle together with the carbon atom to which they are attached where $R R^1$ is $(CH_2)_n$ $(CH_2)_m O(CH_2)_n$ or $(CH_2)_n NR^{10}(CH_2)_m$ wherein $n+m < 9$ and R^{10} is SAC SCAC Ar -SAC Ar $C(=O)$ SAC $C(=O)$ SCAC $-C(=O)$ Ar or $C(=O)$ SAC Ar

[119]

[120] VII) X represents $C(=O)CH_2 OR^{11}$ wherein R^{11} is SAC SCAC Ar or SAC Ar $C(=O)CH_2 OC(=O)R^{12}$ wherein R^{12} is -SAC SCAC Ar or SAC Ar $CH=CH CO_2 R^{13}$ wherein R^{13} is SAC SCAC Ar or SAC Ar $CH=CH SO_2 R^{14}$ wherein R^{14} is SAC SCAC Ar or SAC Ar $C(=O)CH=CH_2$ or $COCH_2 W$ wherein W is N_2 F Cl Br I $NR^{15}R^{16}$ (R^{15} and R^{16} each are SAC SCAC Ar or SAC Ar or together may form 3 to 6 membered saturated or unsaturated cyclic group) SR^{17} (R^{17} is SAC SCAC Ar or SAC Ar) or is the following formula

[121]



[122]

[123] wherein

[124] Y is H OH OR^{18} ($R^{18} = SAC$ or $SCAC$) $C(=O)R^{19}$ ($R^{19} = H$ SAC or $SCAC$) F Cl Br I CN NC N_3 $CO_2 H$ CF_3 $CO R^{20}$ ($R^{20} = SAC$ or $SCAC$) $C(=O)NHR^{21}$ ($R^{21} = SAC$ or $SCAC$) or $C(=O)NR^{22}R^{23}$ (R^{22} and R^{23} each are SAC -SCAC Ar or SAC Ar)

[125] R^{24} is H SAC SAC Ar or Ar

[126]

[127] The preferred compounds among the compound of formula (1) above are those wherein

[128] R represents H

- [129] R^1 represents CH_2COOH CH_2COOR^3 ($R^3=SAC$) or $CH_2CONHSO_2R^4$ ($R^4=SAC$)
- [130] R^2 represents H SAC Ar or $(CH_2)_nOR^7$ ($R^7=SAC$ $SCAC$ Ar or SAC Ar and $n=1$ or 2) or
- [131] X represents $C(=O)CH_2OAr$ $C(=O)CH_2OC(=O)Ar$ or $COCH_2W$ wherein W is N_2 F Cl Br I $NR^{15}R^{16}$ (R^{15} and R^{16} each are $-SAC$ $-SCAC$ Ar or SAC Ar or together may form 3 to 6-membered saturated or unsaturated cyclic group) or SR^{17} (R^{17} is SAC $SCAC$ Ar or SAC Ar)
- [132]
- [133] More preferred compounds among the compound of formula (1) above are those wherein
- [134] I) R represents H
- [135] II) R^1 represents CH_2COOH CH_2COOR^3 ($R^3=SAC$) or $CH_2CONHSO_2R$ ($R=SAC$)
- [136] III) R^2 represents H SAC Ar or $(CH_2)_nOR^7$ ($R^7=SAC$ $SCAC$ Ar or SAC Ar and $n=1$ or 2)
- [137] IV) A represents $(CH_2)_n$ ($n=0-4$) or $O-(CH_2)_n$ ($n=0-4$)
- [138] V) B represents H $-SAC$ $SCAC$ Ar or SAC Ar
- [139] VI) X represents $COCH_2N$ $COCH_2F$ $COCH_2Cl$ $COCH_2Br$ $COCH_2I$ $COCH_2OAr$ $COCH_2OCOAr$ or $COCH_2SR^{17}$ (R^{17} is $-SAC$ $SCAC$ Ar or SAC Ar)
- [140]
- [141] Particularly preferred compounds are those selected from the following group
- [142] (1) (3*S*) 5 [(2,6-dichlorobenzoyl)oxy]
3 ({[5-methyl-3-phenyl-4,5-dihydro-5-isoxazolyl]carbonyl}amino)-4-oxopentanoic acid (Iaa)
- [143] (2) (3*S*) 3 ({[5-methyl-3-phenyl-4,5-dihydro-5-isoxazolyl]
carbonyl}amino)-4-oxo-5-phenoxypentanoic acid (Ibb)
- [144] (3) (3*S*) 3 ({[5-ethyl-3-phenyl-4,5-dihydro-5-isoxazolyl]
carbonyl}amino)-4-oxo-5-(2,3,5,6-tetrafluorophenoxy)pentanoic acid (Icc)
- [145] (4) (3*S*) 3 ({[5-ethyl-3-(1-naphthyl)-4,5-dihydro-5-isoxazolyl]
carbonyl}amino)-4-oxo-5-(2,3,5,6-tetrafluorophenoxy)pentanoic acid (Idd)
- [146] (5) (3*S*) 3 ({[5-ethyl-3-(2-naphthyl)-4,5-dihydro-5-isoxazolyl]
carbonyl}amino)-4-oxo-5-(2,3,5,6-tetrafluorophenoxy)pentanoic acid (Iee)
- [147] (6) (3*S*) 3 ({[5-ethyl-3-(1-isoquinolyl)-4,5-dihydro-5-isoxazolyl]
carbonyl}amino)-4-oxo-5-(2,3,5,6-tetrafluorophenoxy)pentanoic acid (If)

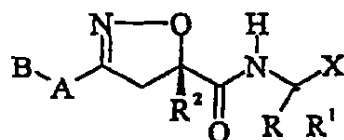
- [148] (7) 3 ([5-ethyl-3 (1 isoquinolyl) 4 5 dihydro 5 isoxazolyl] carbonyl)amino) 5 fluoro 4-oxopentanoic acid (Igg)
- [149] (8) ethyl 3 ([5 ethyl-3 (1 isoquinolyl)-4 5 dihydro 5 isoxazolyl] carbonyl)amino) 5 fluoro 4-oxopentanoate (Ihh)
- [150] (9) 5 fluoro 3 ([[(5R) 5 isopropyl-3 (1 isoquinolyl)-4 5-dihydro 5 isoxazolyl] carbonyl)amino) 4-oxopentanoic acid (Iii)
- [151] (10) 3 ([5 ethyl-3 (4-quinolyl) 4 5 dihydro-5 isoxazolyl] carbonyl)amino) 5 fluoro 4-oxopentanoic acid (Ijj)
- [152] (11) 3 ([3 (benzothiophen 2 yl) 5 ethyl-4 5 dihydro 5 isoxazolyl] carbonyl)amino) 5 fluoro 4-oxopentanoic acid (Ikk)
- [153] (12) (3S) 3 ([3 (1 3 dimethyl-1 H indol-2 yl)-5 ethyl-4 5-dihydro 5 isoxazolyl] carbonyl)amino)-4 oxo 5 (2 3 5 6 tetrafluorophenoxy)pentanoic acid (II)
- [154] (13) 3 ([3 (1 3 dimethyl-1 H indol-2 yl) 5 ethyl-4 5-dihydro 5 isoxazolyl] carbonyl)amino) 5 fluoro 4 oxopentanoic acid (Imm)
- [155] (14) (3S) 3 ([5 ethyl-3 (1 naphthylmethyl)-4 5 dihydro 5 isoxazolyl] carbonyl)amino) 4-oxo 5 (2 3 5 6 tetrafluorophenoxy)pentanoic acid (Inn)
- [156] (15) (3S)-5 [(2 6 dichlorobenzoyl)oxy] 3 ([5 ethyl-3 [2 (1 naphthyl)ethyl] 4 5 dihydro-5 isoxazolyl]carbonyl)amino] 4 oxopentanoic acid (Ioo)
- [157] (16) (3S) 3 ([5-ethyl-3 [(1 naphthyl)oxy)methyl] 4 5 dihydro 5 isoxazolyl]carbonyl)amino] 4 oxo 5 (2 3 5 6 tetrafluorophenoxy)penta noic acid (Ipp)
- [158] (17) (3S) 3 ([3 [(4 chloro 1 naphthyl)oxy] methyl] 5-ethyl-4 5 dihydro 5 isoxazolyl]carbonyl)amino]-4 oxo 5 (2 3 5 6-tetrafluor ophenoxy)pentanoic acid (Iqq)
- [159] (18) (3S 4E)-6 ethoxy 3 ([[(5R) 5 isopropyl-3 (1 isoquinolyl) 4 5 dihydro 5 isoxazolyl]carbonyl)amino) 6-oxo 4- hexenoic acid (Irr)
- [160] (19) (3S 4E) 3 ([[(5R) 5 isopropyl-3 (1 isoquinolyl)-4 5 dihydro 5 isoxazolyl] carbonyl)amino) 5 (methylsulfonyl) 4 pentenoic acid (Iss)
- [161] (20) 5 fluoro 3 ([[(5S) 3 (1 isoquinolyl) 5 propyl-4 5-dihydro 5 isoxazolyl] carbonyl)amino)-4-oxopentanoic acid (Itt)
- [162] (21) 3 ([[(5S)-5 ethyl-3 (1 naphthyl)-4 5 dihydro 5 isoxazolyl] carbonyl)amino) 5 fluoro-4-oxopentanoic acid (Iuu)
- [163] (22) 3 ([[(5S) 5 ethyl-3 (2 quinolyl) 4 5 dihydro 5 isoxazolyl] carbonyl)amino) 5 fluoro 4 oxopentanoic acid (Ivv)

- [164] (23) 3 (((5*R*) 5 ethyl-3 (3 isoquinolyl) 4 5 dihydro-5 isoxazolyl] carbonyl)amino) 5 fluoro 4 oxopentanoic acid (Iww)
- [165] (24) 3 ([[5 ethyl-3 (8 quinolyl)-4 5 dihydro 5 isoxazolyl] carbonyl)amino) 5 fluoro 4 oxopentanoic acid (Ixx)
- [166] (25) 3-([([5 ethyl-3 (3 quinolyl)-4 5 dihydro-5 isoxazolyl] carbonyl)amino) 5 fluoro 4-oxopentanoic acid (Iyy)
- [167] (26) 5 fluoro 3 (((5*R*)-5 isopropyl-3 (2-quinolyl) 4 5 dihydro 5 isoxazolyl] carbonyl)amino) 4-oxopentanoic acid (Izz)
- [168] (27) 3 ([[5 ethyl-3 (2 isopropylphenyl)-4 5 dihydro 5 isoxazolyl] carbonyl)amino) 5 fluoro-4-oxopentanoic acid (Iaa1)
- [169] (28) 3 [[[3 (3 (*tert* butyl)phenyl] 5 ethyl-4 5 dihydro 5 isoxazolyl]carbonyl)amino] 5 fluoro-4-oxopentanoic acid (Iaa2)
- [170] (29) 3 [[[3 (4-(*tert* butyl)phenyl] 5 ethyl-4 5 dihydro 5 isoxazolyl]carbonyl)amino] 5 fluoro 4-oxopentanoic acid (Iaa3)
- [171] (30) 5 fluoro 3 (((5*R*) 5 isopropyl-3 (2 isopropylphenyl)-4 5 dihydro 5 isoxazolyl]carbonyl)amino)-4-oxopentanoic acid (Iaa4)
- [172] (31) 3 (((5*R*) 3 [3 (*tert* butyl)phenyl] 5 isopropyl-4 5 dihydro-5 isoxazolyl]carbonyl)amino) 5 fluoro-4 oxopentanoic acid (Iaa5)
- [173] (32) 3 [[[3 (1 1 biphenyl] 3 yl-5 isopropyl-4 5 dihydro 5 isoxazolyl]carbonyl] amino) 5 fluoro-4-oxopentanoic acid (Iaa6)
- [174] (33) 3 ([[5-ethyl-3 (2 pyridinyl)-4 5-dihydro 5 isoxazolyl] carbonyl)amino) 5 fluoro-4-oxopentanoic acid (Iaa7)
- [175] (34) 3 [[[3 (4-(*tert* butyl) 2 pyridinyl] 5 ethyl-4 5 dihydro 5 isoxazolyl]carbonyl)amino] 5 fluoro-4-oxopentanoic acid (Iaa8)
- [176] (35) 3 (((5*R*) 3 [4-(*tert* butyl) 2 pyridinyl] 5 isopropyl-4 5 dihydro-5 isoxazolyl]carbonyl)amino) 5 fluoro 4 oxopentanoic acid (Iaa9)
- [177] (36) 3 ([[5-ethyl-3 (4-isobutyl-2 pyridinyl) 4 5-dihydro 5 isoxazolyl] carbonyl)amino) 5 fluoro-4-oxopentanoic acid (Iaa10)
- [178] (37) 3 [[[3 (4-acetyl-2 pyridinyl) 5-ethyl-4 5 dihydro 5 isoxazolyl]

- carbonyl}amino) 5 fluoro 4 oxopentanoic acid (Iaa11)
- [179] (38) 3 ([[3 (4-cyclopropyl-2 pyridinyl) 5 ethyl-4 5 dihydro 5 isoxazolyl] carbonyl}amino) 5 fluoro 4-oxopentanoic acid (Iaa12)
- [180] (39) 3 ([[3 (4-cyclopentyl-2 pyridinyl) 5 ethyl-4 5 dihydro 5 isoxazolyl] carbonyl}amino) 5 fluoro-4-oxopentanoic acid (Iaa13)
- [181] (40) 3-([[(5R) 3 (4-cyclopentyl-2 pyridinyl) 5 isopropyl-4 5 dihydro 5 isoxazolyl] carbonyl}amino) 5 fluoro 4-oxopentanoic acid (Iaa14)
- [182] (41) 3 ([[3 (4-cyclohexyl-2 pyridinyl) 5 ethyl-4 5 dihydro 5 isoxazolyl] carbonyl}amino) 5 fluoro 4-oxopentanoic acid (Iaa15)
- [183] (42) 3 ([[5 ethyl-3 (5 6 7 8 tetrahydro 1 isoquinolnlyl) 4 5 dihydro 5 isoxazolyl] carbonyl}amino) 5 fluoro-4-oxopentanoic acid (Iaa16)
- [184] (43) 5 fluoro 3 ([[5 isopropyl-3 (4 phenyl-2 pyridinyl)-4 5 dihydro 5 isoxazolyl] carbonyl}amino) 4 oxopentanoic acid (Iaa17)
- [185] (44) (3S) 5 [(diphenylphosphoryl)oxy] 3 ([[(5R) 5 isopropyl-3 (1 isoquinolnlyl) 4 5 dihydro 5 isoxazolyl]carbonyl}amino) 4 oxopen tanoic acid (Iaa18)
- [186] (45) (3S) 3 ([[(5R) 5 isopropyl-3 (1 isoquinolnlyl)-4 5 dihydro 5 isoxazolyl] carbonyl}amino) 4 oxo 5 [[1 phenyl-3 (trifluoromethyl) 1 H pyrazol-5 yl] oxy]pentanoic acid (Iaa19)
- [187] (46) (3S) 5 [(4 benzyl-5 oxo 2 5 dihydro 3 furanyl)oxy] 3 ([[(5R) 5 isopropyl-3 (1 isoquinolnlyl) 4 5 dihydro 5 isoxazolyl]carbonyl}amino) 4 oxopen tanoic acid (Iaa20)
- [188] (47) (3S) 5 (isobutyryloxy) 3 ([[(5R) 5 isopropyl-3 (1 isoquinolnlyl) 4 5 dihydro 5 isoxazolyl]carbonyl}amino)-4-oxopen tanoic acid (Iaa21)
- [189] (48) (3S)-3 ([[(5R) 5 isopropyl-3 (1 isoquinolnlyl)-4 5 dihydro-5 isoxazolyl] carbonyl}amino) 4 oxo 5 hexenoic acid (Iaa22)
- [190] (49) (3S) 3-([[(5R) 5 isopropyl-3 (1 isoquinolnlyl)-4 5 dihydro-5 isoxazolyl] carbonyl}amino) 4-oxo 5 (2 pyridinyloxy)pentanoic acid (Iaa23)
- [191] (50) (3S) 3 ([[5-ethyl-3 (2 isopropylphenyl) 4 5 dihydro-5 isoxazolyl] carbonyl}amino)-4-oxo-5 (2 pyridinyloxy)pentanoic acid (Iaa24)
- [192] (51) 2 ([[(3S) 4-carboxy 3 ([[(5R) 5 isopropyl-3 (1 isoquinolnlyl) 4 5 dihydro 5 isoxazolyl]carbonyl}amino) 2 oxobut yl]oxy] 1 methylpyridinium trifluoromethanesulfonate (Iaa25)
- [193] (52) 2 ([[(3S

-) 4-carboxy 3 ({[5 ethyl-3 (2 isopropylphenyl)-4,5 dihydro 5 isoxazolyl]carbonyl}amino) 2-oxobutyl]oxy} 1 methylpyridinium trifluoromethanesulfonate (Iaa26)
- [194] (53) 3 ({[3 (5 chloro 1 methyl-1 *H* indol-2 yl) 5 isopropyl-4,5 dihydro 5 isoxazolyl]carbonyl}amino) 5 fluoro-4-oxopentanoic acid (Iaa27)
- [195] (54) 3 ({[3 (1,5-dimethyl-1 *H* indol-2 yl) 5 isopropyl-4,5-dihydro-5 isoxazolyl]carbonyl}amino) 5 fluoro 4 oxopentanoic acid (Iaa28) and
- [196] (55) (3*S*) 5 fluoro 3 ({[(5 *R*) 5 isopropyl-3 (1 isoquinolyl)-4,5 dihydro 5 isoxazolyl]carbonyl}amino) 4 oxopentanoic acid (Iii 1)
- [197]
- [198] The compound of formula (1) according to the present invention has two (2) asymmetric carbon atoms and so may exist in its stereoisomeric form including diastereomer. Particularly preferred compounds among the stereoisomers are those having the following formula (1a)

[199]



[200] (1a)

[201]

[202] and so it is another object of the present invention to provide the compound of formula (1a) in the stereoisomeric form

[203]

[204] Among the compound of formula (1a) for example the compound of (3*S*)-5 fluoro 3 ({[(5 *R*) 5 isopropyl-3 (1 isoquinolyl)-4,5-dihydro-5 isoxazolyl]carbonyl}amino)-4-oxopentanoic acid (Iii 1) may be obtained by a process comprising the steps of dissolving a mixture of (3*S*) and (3*R*) in methyl *t* butyl ether adding a small amount of crystalline (3 *S*) 5 fluoro-3 ({[(5 *R*) 5 isopropyl-3 (1 isoquinolyl)-4,5 dihydro 5 isoxazolyl]carbonyl}amino) 4-oxopentanoic acid as a seed material to give a crystal and recrystallizing this crystal from ethyl acetate/*n* hexane solvent system

[205]

[206] The most preferred compounds among the compounds of formulae (1) and (1a) are

5 fluoro 3 (((5*R*) 5 isopropyl-3 (1 isoquinolyl)-4,5 dihydro-5 isoxazolyl] carbonyl)amino-4-oxopentanoic acid (Iu) and (3*S*) 5 fluoro 3 (((5*R*) 5 isopropyl-3 (1 isoquinolyl)-4,5 dihydro-5 isoxazolyl]carbonyl)amino-4-oxopentanoic acid (Iu 1)

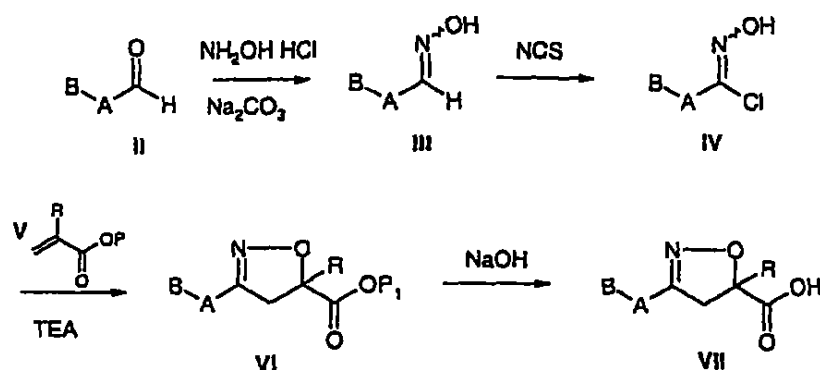
[207]

[208] The processes for the preparation of the novel isoxazoline derivative of formula (1) showing an inhibitory activity against caspases are depicted in the following Reaction Schemes 1 to 5. However, those illustrated in the following Reaction Schemes represent only the typical processes used in the present invention. The manipulation order may be changed with no limit, and so the processes are not restricted to those explained below.

[209]

[210] Reaction Scheme 1

[211]



[212] in which

[213] A, B, and R² are defined as described above, and[214] P¹ represents simple alkyl chain

[215]

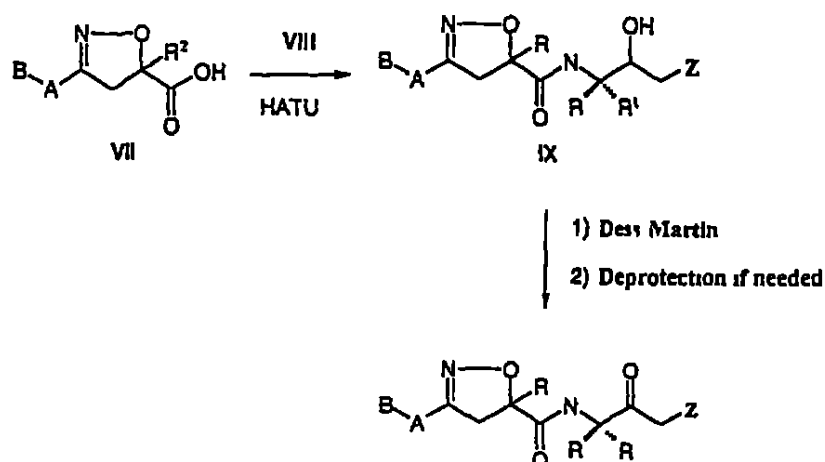
[216] In Reaction Scheme 1 above, an aldehyde derivative (II) is reacted with hydroxylamine hydrochloride and sodium carbonate in a solvent mixture of alcohol-water to give an oxime derivative (III) (a mixture of *syn* and *anti* oximes). The resulting oxime derivative (III) is treated by NCS (N-chlorosuccinimide) in dimethylformamide solution to give a hydroxamoyl chloride derivative (IV). Thus obtained hydroxamoyl chloride derivative (IV) is reacted with an acrylate derivative (V) to give an isoxazoline derivative (VI), which is then hydrolyzed, if needed, to give a deprotected isoxazoline derivative (VII). If appropriate, the oxime derivative (III), the acrylate derivative (V), and NaOCl may react together in a reaction vessel (*in situ*) to directly

give the isoxazoline derivative (VI) (see Preparations 16 and 17)

[217]

[218] Reaction Scheme 2

[219]



[220] in which A B R R¹ R¹¹ R¹ and W are defined as described above

[221]

[222] In Reaction Scheme 2 above a carboxylic acid derivative (VII) is coupled with an aspartic acid derivative (VIII) (see the following Reaction Scheme 3) to give a compound (IX) which is then subjected to Dess Martin periodinane oxidation reaction and deprotection reaction if needed to give the desired compound of formula (I)

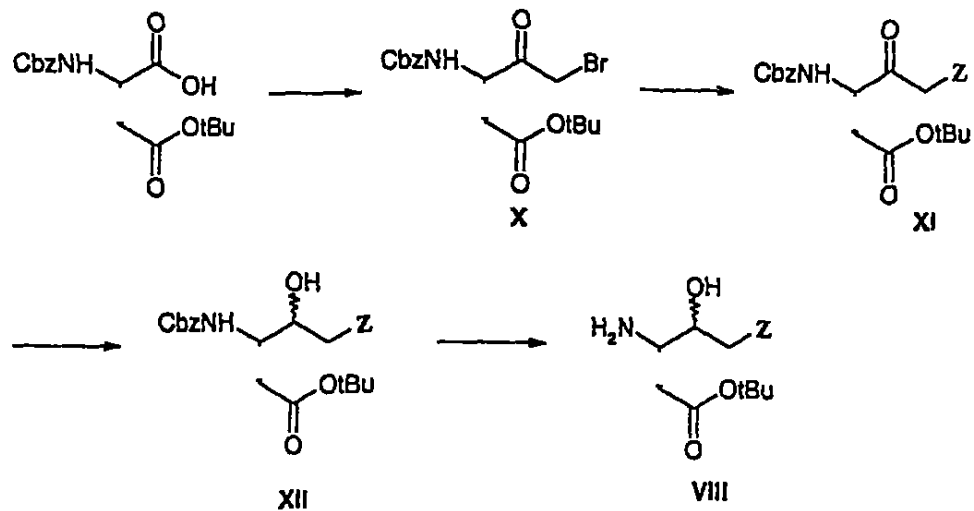
[223]

[224] The functional group Z in the compound (I) of Reaction Scheme 2 may be formed through several steps as exemplified in the following Preparations 5 and 7 after the carboxylic acid compound (VII) on the left side is combined with an aspartic acid (β t Bu) methylester. Otherwise as depicted in the following Reaction Scheme 3 the compound (VIII) already having the desired Z is synthesized first and coupled with the compound (VII) (Ref WO 00/23421). Further when W is F the racemic compound may be prepared according to a method known in *Tetrahedron Letters* 1994 35(52) 9693-9696.

[225]

[226] Reaction Scheme 3

[227]



[228] in which Z is defined as described above

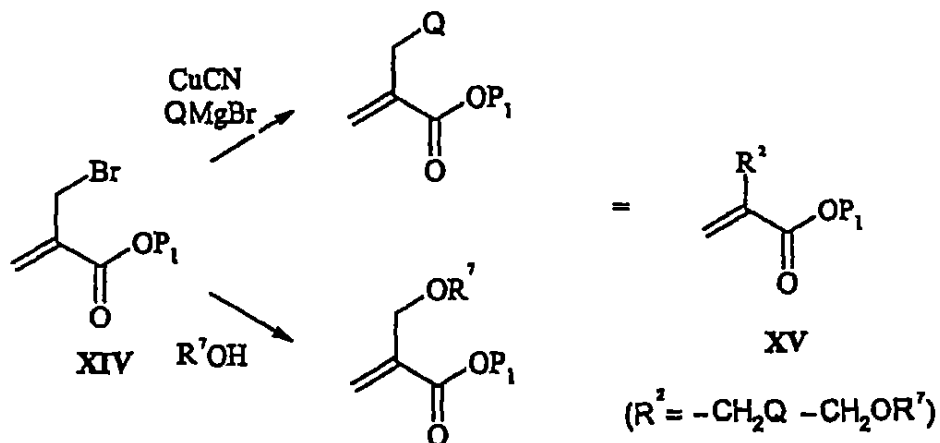
[229]

[230] The acrylate derivative (V) used as a reactant in the above Reaction Scheme 1 may be prepared via two (2) pathways. That is, a compound (XV) can be easily prepared from a known compound (XIV) (*Synthesis* 1982 p 924) as depicted in the following Reaction Scheme 4, or methyl (ethyl) 2-propylacrylate, the compound (V) can be prepared from dimethyl(diethyl)malonate (*J. Chemical Society Perkin Trans. 1* 1997 1559-1570).

[231]

[232] Reaction Scheme 4

[233]



[234] in which P₁ and R² are defined as described above

[235]

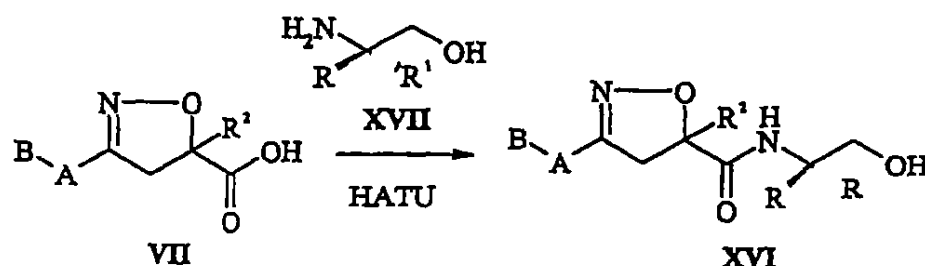
[236] The following Reaction Scheme 5 shows a synthetic process for preparing a

compound wherein α β -unsaturated ester or α β unsaturated sulfon is introduced into the P₁ site. According to this, the carboxylic acid derivative (VII) as prepared in Reaction Scheme 1 is reacted with an amino alcohol derivative (XVII) to give a compound (XVI) which is then subjected to Dess Martin oxidation and Wittig reactions to give the compound (I).

[237]

[238] Reaction Scheme 5

[239]



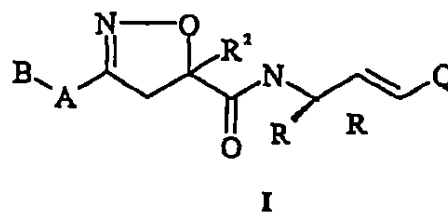
1) Dess Martin

2) $\text{Ph}_3\text{P}=\text{CHCO}_2\text{Et}$

or

 $(\text{EtO})_2\text{POCH}_2\text{SO}_2\text{CH}_3/\text{NaH}$

3) Deprotection if needed



[240] in which

[241] R, A, B, R¹ and R² are defined as described above and[242] Q represents CO_2R^{13} or SO_2R^{14} wherein R¹³ and R¹⁴ are defined as described above

[243]

[244] The compound of formula (1) according to the present invention has a broad spectrum of inhibitory activity against caspases as demonstrated by the results of the following Experiments and so has an effect for preventing inflammation and apoptosis. Thus, the present invention provides a composition for inhibiting caspases, specifically a therapeutic composition for preventing inflammation and apoptosis comprising the compound of formula (1) as an active ingredient together with the pharmaceutically acceptable carrier. Specifically, the composition of the present invention has a therapeutic effect for dementia, cerebral stroke, brain impairment due

to AIDS diabetes gastric ulcer cerebral injury by hepatitis hepatitis induced hepatic diseases acute hepatitis fulminant hepatic failure liver cirrhosis sepsis organ transplantation rejection rheumatic arthritis or cardiac cell apoptosis due to ischemic cardiac diseases particularly specifically for acute hepatitis liver cirrhosis or rheumatic arthritis

[245]

[246] Caspase inhibitor particularly the compound of formula (1) may be formulated into various pharmaceutical forms for administration purpose To prepare the pharmaceutical composition according to the present invention an effective amount of the caspase inhibitor particularly the compound of formula (1) or its salt, is mixed with a pharmaceutically acceptable carrier that may take a wide variety of forms depending on the formulation to be prepared

[247]

[248] The caspase inhibitor compound may be formulated as a parenteral injection or percutaneous or oral preparation depending on its application purpose It is especially advantageous to formulate the composition in a unit dosage form for ease of administration and uniformity of dosage

[249]

[250] For the oral preparation any usual pharmaceutical carrier may be used For example water glycols oils alcohols and the like may be used for such oral liquid preparations as suspensions syrups elixirs and solutions or starches sugars kaolin lubricants binders disintegrating agents and the like may be used for such solid preparations as powders pills capsules and tablets Due to their ease of administration tablets and capsules are the most advantageous dosage unit forms It is also desirable for tablets and pills to be formulated into enteric coated preparation

[251]

[252] For the parenteral preparation sterile water is usually used as the carrier though other ingredients such as solubility aids may be used Injections for example sterilized aqueous or oily suspension for injection can be prepared according to the known procedure using suitable dispersing agent, wetting agent or suspending agent Solvents that can be used for preparing injections include water Ringer's fluid and isotonic NaCl solution and also sterilized fixing oil may be conveniently used as the solvent or suspending media. Any non stimulative fixing oil including mono- di glyceride may be used for this purpose Fatty acid such as oleic acid may also be used for injections

[253]

[254] For the percutaneous administration the carrier may include a penetration enhancing agent and/or a suitable wetting agent, optionally combined with suitable additives having no significant skin irritation. Said additives may facilitate the administration through the skin and/or may assist preparation of a desired composition. These percutaneous preparations are administered via various manners e.g. as a transdermal patch, a spot on or an ointment.

[255]

[256] When the caspase inhibitor specifically the compound of formula (1) is used for clinical purpose it is preferably administered to the subject patient in an amount ranging from 0.1 to 100 mg per kg of body weight a day. The total daily dosage may be administered once or over several times. However, specific administration dosage for an individual patient can be varied with specific compound used, body weight, sex, hygienic condition, or diet of subject patient, time or method of administration, excretion rate, mixing ratio of agent, severity of disease to be treated, etc.

[257]

[258] The present invention will be more specifically explained by the following examples. However, it should be understood that these examples are intended to illustrate the present invention but not in any manner to limit the scope of the present invention.

[259]

[260] Preparation 1

[261] Benzaldehyde oxime

[262] Benzaldehyde (5.31g, 50.0mmol) was dissolved in ethanol (60 mL), water (30 mL) and hydroxylamine hydrochloride (5.21g, 1.5 Eq) and anhydrous sodium carbonate (Na_2CO_3 , 3.97g, 0.75 Eq) were added thereto at 0°C. When a large amount of solid was formed after about one minute, water-ethanol (1:1, 60 mL) was added and the mixture was stirred for one hour. Saturated aqueous sodium chloride solution (100 mL) was added and the mixture was extracted twice with ethyl acetate (300 mL). The extract was washed with 1.0 N aqueous sodium bicarbonate solution (NaHCO_3 , 100 mL x 2), dried (anhydrous Na_2SO_4) and concentrated under reduced pressure to give the title compound (6.06g, Yield 99%) as a white powder as a mixture of *cis* and *trans*.

[263]

[264] ^1H NMR(500MHz, CDCl_3) δ 8.9(br, 1H), 8.1(s, 1H), 7.5(m, 2H), 7.3(m, 3H).

[265]

[266] Preparation 2

[267] Benzaldehyde hydroxamoyl chloride

[268] The oxime prepared in Preparation 1 (3.00g, 24.8mmol) was dissolved in dimethylformamide (100 ml) and N-chlorosuccinimide (3.47g, 1.05 Eq) was added. The resulting solution was stirred for one hour in a water bath of about 40 °C and the volatile solvent was removed by distillation under reduced pressure. The residue was dissolved in ethyl acetate/hexane (1:1, 150 ml), washed with water (100 ml x 3), dried (anhydrous Na_2SO_4) and concentrated under reduced pressure to give the title compound (3.86g, Yield 99%). This compound was used in the next reaction without any further purification.

[269]

[270] Preparation 3

[271] Methyl 5-methyl-3-phenyl-4,5-dihydro-5-isoxazolecarboxylate (VIa)

[272] The hydroxamoyl chloride prepared in Preparation 2 (3.86g, 24.8mmol) and methyl methacrylate (4.0 ml, 37.2mmol, 1.5 Eq) were dissolved in dry diethylether (120 ml) under nitrogen atmosphere. The mixture was kept at 78 °C and triethylamine (6.9 ml, 2.0 Eq) was added. The mixture was stirred overnight while it was slowly warmed to room temperature. Water (100 ml) was added and then the mixture was extracted with ethyl acetate (100 ml x 2), washed with water (100 ml), dried (anhydrous Na_2SO_4) and concentrated under reduced pressure. The residue was purified by column chromatography (15% ethyl acetate/hexane) to give the title compound (5.34g, Yield 98%) which was then identified by ^1H NMR to be 1:1 mixture of diastereomers.

[273]

[274] ^1H NMR(400MHz, CDCl_3) δ 6.7(m, 2H), 6.5(m, 3H), 3.0(d, J = 16.7Hz, 1H), 2.9(s, 3H), 2.3(d, J = 16.7Hz, 1H), 0.8(s, 3H).

[275]

[276] Preparation 4

[277] 5-Methyl-3-phenyl-4,5-dihydro-5-isoxazolecarboxylic acid (VIIa)

[278] The compound prepared in Preparation 3 (VIa, 5.34g) was dissolved in distilled tetrahydrofuran (120 ml) and 1N aqueous sodium hydroxide solution (36.5 ml, 1.5 Eq) was added. After about four hours, the mixture was neutralized by 1N aqueous hydrochloric acid solution and distilled under reduced pressure to remove most of tetrahydrofuran. The residue was dissolved in excess ethyl acetate (>700 ml), washed with water, dried (anhydrous Na_2SO_4) and concentrated under reduced pressure to give the title compound (4.77g, Yield 95%) as a white powder. This compound was

used in the next reaction without any further purification

[279]

[280] Preparation 5

[281] (3S) 3 {[(benzyloxy)carbonyl]amino} 5 (t butoxy) 2 hydroxy 5 oxopentyl
2,6-dichlorobenzoate (XIIa)

[282] To N-benzyloxycarbonyl-β-t-butylaspartic acid (5.03g, 15.6mmol) and NMM (1.90ml, 17.1mmol) was added dry tetrahydrofuran (60ml) under nitrogen atmosphere the mixture was kept 15°C and isobutyl chloroformate (2.12ml, 16.3mmol) was added thereto. The mixture was stirred for about 20 minutes. To the reaction mixture being kept at 0°C was added diazomethane ether solution (synthesized from 2.0 Eq of 1-methyl-3-nitro-1-nitroso-guanidine, 60ml) to prepare diazoketone derivative (~30 minutes). 30% HBr/AcOH (6.42ml, 2.0 Eq) was added thereto at 0°C. The resulting mixture was stirred (30-60 minutes), extracted with ethyl acetate, washed twice with saturated aqueous sodium bicarbonate solution and once with aqueous sodium chloride solution, dried (anhydrous Na₂SO₄) and concentrated under reduced pressure to give bromomethyl ketone derivative (X-6, 4g).

[283]

[284] Thus obtained bromomethyl ketone derivative (X-4, 36g) and 2,6-dichlorobenzoic acid (2.28g, 1.1 Eq) were dissolved in dimethylformamide (18ml). KF (1.58g, 2.5 Eq) was added and the mixture was stirred for two hours to give 2,6-dichlorobenzoyloxymethyl ketone derivative (XIa). This compound was dissolved in methanol (20ml) and reacted by adding NaBH₄ (412mg) methanol solution (40ml) (10°C–room temperature, two hours). The reaction was stopped by acetic acid and the reaction solution was distilled under reduced pressure to remove methanol. The residue was extracted with ethyl acetate (50ml x 2), washed with water and aqueous sodium chloride solution, dried (anhydrous Na₂SO₄), concentrated under reduced pressure and separated/purified by column chromatography (ethyl acetate/hexane 1/5) to give the title compound (4.80g, Yield 86%) in a diastereomeric form.

[285]

[286] ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.3-7.2(m, 8H), 5.9(m, 1H), 5.2(m, 4H), 4.7(m, 1H), 2.9(m, 1H), 2.7(m, 1H), 1.4(s, 9H).

[287]

[288] Preparation 6

[289] (3S) 3-amino-5-(t-butoxy)-2-hydroxy-5-oxopentyl 2,6-dichlorobenzoate (VIIIa)

44

[290] The benzyloxycarbonyl group of the compound prepared in Preparation 5 was removed (Pd/C) under hydrogen balloon for 40 minutes to give the title compound (Yield 100%)

[291]

[292] ^1H NMR (400 MHz DMSO d_6) δ 8.2(br 2H) 7.6-7.5(m 3H) 6.1(m 1H) 4.4-3.9(m 3H) 3.0-2.6(m 2H) 1.4(s 9H)

[293]

[294] Example 1

[295] (3S) 5 (t butoxy) 3 {[(5 methyl 3 phenyl 4,5 dihydro 5 isoxazolyl)carbonyl]amino} 2,5 dioxopentyl 2,6 dichlorobenzoate (Ia)

[296] A mixture of the carboxylic acid derivative prepared in Preparation 4 (VIIa 300mg 1.46 mmol) the amino alcohol derivative prepared in Preparation 6 (VIIIa, 667 mg 1.1 Eq) and HATU (722mg 1.3 Eq) was cooled to 0°C triethylamine (0.82 mL 4.0 Eq) was added in a solvent of DMF (5 mL) and the resulting mixture was reacted for 5 hours. The solvent was distilled under reduced pressure and the residue was extracted with ethyl acetate (200 mL x 2) washed with water aqueous sodium bicarbonate solution and aqueous sodium chloride solution dried (anhydrous Na_2SO_4) concentrated under reduced pressure and purified by column chromatography to give Compound (IXa) (810mg Yield 98%). To this compound and Dess Martin reagent (1.70g 3.0 Eq) was added dry dichloromethane (25 mL) and the mixture was stirred for one hour at room temperature. The reaction was stopped by isopropyl alcohol (3 mL). The solid was removed by filtration under reduced pressure through Celite and the filtrate was extracted with ethyl acetate (20 mL x 2) washed with water saturated aqueous sodium bicarbonate solution and aqueous sodium chloride solution dried (anhydrous Na_2SO_4) concentrated under reduced pressure and preliminarily purified by column chromatography (36% ethyl acetate hexane) to give the diastereomeric title compound (780 mg)

[297]

[298] ^1H NMR (400MHz CDCl_3) δ 7.8(m NH 1H) 7.6(m 2H) 7.3(m 3H) 7.2(m 3H) 5.1-5.0(m 2H) 4.8(m 1H) 3.8(m 1H) 3.2(m 1H) 2.9-2.8(m 2H) 1.7(s 3H) 1.4(s 9H)

[299]

[300] Example 2

[301] (3S) 5 [(2,6 dichlorobenzoyl)oxy]

3 {[(5 methyl 3 phenyl 4,5 dihydro 5 isoxazolyl)carbonyl]amino}-4-oxopentanoic

acid (Iaa)

[302] The compound prepared in Example 1 (44 mg) was dissolved in dichloromethane (2 ml) and trifluoroacetic acid (1 ml) was added at 0°C. The mixture was stirred for two hours while it was slowly warmed to room temperature and then concentrated under reduced pressure to give the title compound (Iaa) in a stoichiometric amount

[303]

[304] $^1\text{H NMR}$ (500MHz CDCl_3) δ 8.1(m 1H) 7.5((m 2H) 7.3(m 3H) 7.2(m 3H) 5.1-4.9(m 2H) 4.9-4.8(m 1H) 3.8(m 1H) 3.2(m 1H) 1.7(m 3H)

[305]

[306] Preparation 7

[307] *t*-Butyl (3*S*) 3-amino-4-hydroxy- α -phenoxypentanoate (VIIIb)

[308] To *N*-benzyloxycarbonyl- β -*t*-butyl-aspartic acid (10.0 g, 31.0 mmol) and NMM (3.75 ml, 1.1 Eq) was added dry tetrahydrofuran (120 ml) under nitrogen atmosphere and the mixture was kept at 15°C. Isobutyl chloroformate (4.22 ml, 1.05 Eq) was added thereto and the mixture was stirred for about 20 minutes. The reactants were kept at 0°C which was then mixed with diazomethane-ether solution (synthesized from 2.0 Eq of 1-methyl-3-nitro-1-nitrosoguanidine, 60 ml) to prepare diazoketone derivative (~30 minutes). 30% HBr/AcOH (12.83 ml, 2.0 Eq) was added thereto to prepare bromomethyl ketone derivative (30-60 minutes). The product was extracted with ethyl acetate, washed twice with saturated aqueous sodium bicarbonate solution and aqueous sodium chloride solution, dried (anhydrous Na_2SO_4) and concentrated under reduced pressure to give bromomethyl ketone derivative (12.9 g) in a stoichiometric amount.

[309]

[310] Thus obtained bromomethyl ketone derivative (X, 12.9 g, 31.0 mmol) and phenol (3.23 g, 1.2 Eq) were dissolved in dimethylformamide (30 ml). KF (4.53 g, 2.5 Eq) was added and the mixture was stirred for two hours to give phenoxymethyl ketone derivative (XIb). This compound was dissolved in methanol (40 ml), THF (100 ml) and was reacted by adding NaBH_4 (2.35 g) methanol solution (40 ml) (10°C, room temperature, two hours). The reaction was stopped by acetic acid and the reaction mixture was distilled under reduced pressure to remove methanol. The residue was extracted with ethyl acetate (50 ml x 2), washed with water and aqueous sodium chloride solution, dried (anhydrous Na_2SO_4), concentrated under reduced pressure and separated/purified by column chromatography (ethyl acetate/hexane 1/7) to give a compound (XIb, 6.50 g, Yield 50%) in a diastereomeric form of which amino group is

protected by benzyloxycarbonyl

[311]

[312] $^1\text{H NMR}(400\text{ MHz } \text{CDCl}_3) \delta$ 7.3-7.2(m 8H) 5.9(m 1H) 5.2(m 4H) 4.7(m 1H) 2.9(m 1H) 2.7(m 1H) 1.4(s 9H)

[313]

[314] The benzyloxycarbonyl group of the compound obtained above was removed (Pd/C) under hydrogen balloon to give the title compound (4.16g Yield 95%)

[315]

[316] $^1\text{H NMR}(400\text{ MHz } \text{DMSO}-d_6) \delta$ 8.1(br 2H) 7.3(m 5H) 5.6(m 1H) 4.1-4.0(m 3H) 2.6(m 2H) 1.4(s 9H)

[317]

[318] Example 3

[319] *t*-butyl (3*S*)-3-[(5-methyl-3-phenyl-4,5-dihydro-5-isoxazolyl)carbonyl]amino-4-oxo-5-phenoxy-pentanoate (Ib)

[320] A mixture of the carboxylic acid derivative prepared in Preparation 4 (VIIa 273 mg 1.33 mmol) the amino alcohol derivative prepared in Preparation 7 (VIIIb 412 mg 1.1 Eq) and HATU (657 mg 1.3 Eq) was cooled to 0°C triethylamine (0.74 mL 4.0 Eq) was added in a solvent of DMF (5 mL) and the resulting mixture was reacted for 5 hours. The solvent was distilled under reduced pressure and the residue was extracted with ethyl acetate (200 mL x 2) washed with water aqueous sodium bicarbonate solution and aqueous sodium chloride solution dried (anhydrous Na_2SO_4) concentrated under reduced pressure and purified by column chromatography (30-40% EA/Hex) to give Compound (IXb) (545 mg Yield 88%). To this compound and Dess Martin reagent (1.43 g 3.0 Eq) was added dry dichloromethane (25 mL) and the mixture was stirred for one hour at room temperature. The reaction was stopped by isopropyl alcohol (2 mL). The solid was removed by filtration under reduced pressure through Celite and the filtrate was extracted with ethyl acetate (20 mL x 2) washed with water saturated aqueous sodium bicarbonate solution and aqueous sodium chloride solution dried (anhydrous Na_2SO_4) concentrated under reduced pressure and preliminarily purified by column chromatography (eluent 25% ethyl acetate hexane) to give the diastereomeric title compound (540 mg Yield 99%)

[321]

[322] $^1\text{H NMR}(400\text{ MHz } \text{CDCl}_3) \delta$ 7.8(NH 1H) 7.5(m 2H) 7.3(m 3H) 7.3(m 1H) 7.1(m 1H) 6.8(m 2H) 6.7(m 1H) 4.9(s 1H) 4.7-4.6(m 2H) 3.7(d $J=17\text{ Hz}$ 1H) 3.2(d $J=17\text{ Hz}$ 1H) 2.9(m 1H) 2.8(m 1H) 1.7(s 3H) 1.4(s 9H)

[323]

[324] Example 4

[325] (3S) 3 {[(5 methyl 3 phenyl 4,5 dihydro 5 isoxazolyl)carbonyl] amino} 4 oxo 5 phenoxy pentanoic acid (Ibb)

[326] The compound prepared in Example 3 (530 mg 1.136 mmol) was dissolved in dichloromethane (6 mL) and trifluoroacetic acid (3 mL) was added at 0°C. The mixture was stirred for two hours while it was slowly warmed to room temperature and concentrated under reduced pressure to give the title compound (Ibb) (465 mg) with a stoichiometric yield.

[327]

[328] ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.5 (m, 2H), 7.3 (m, 3H), 7.1 (NH, 1H), 6.7 (m, 5H), 5.0-4.6 (m, 2H), 4.2 (m, 1H), 3.8 (m, 1H), 3.2 (m, 1H), 3.0-2.7 (m, 2H), 1.6 (s, 3H).

[329]

[330] Preparation 8

[331] Ethyl 2 ethylacrylate (XVb)

[332] To CuCN (26.9 g, dried in advance under vacuum) was added under nitrogen atmosphere about 500 mL of dry tetrahydrofuran. The mixture was kept at 78°C and 100 mL of methyl magnesium bromide (3.0 M diethylether solution) was slowly added thereto under mechanical stirring. The thick mixture was stirred for about 30 minutes at 78°C. Ethyl 2 bromomethylacrylate (28.9 g, 150 mmol, Synthetic method Villieras J and Rambaud M, Synthesis 1982, 914) dissolved in about 30 mL of dry tetrahydrofuran was slowly added thereto. The temperature of the reaction mixture was slowly raised to room temperature over two hours. The reaction was completed by slowly adding saturated ammonium chloride solution (~50 mL). The reaction mixture was filtered through Celite to remove the precipitates and then washed with diethylether. The organic layer was washed with water and saturated sodium bicarbonate solution (300 mL x 2), dried (anhydrous Na₂SO₄) and concentrated under reduced pressure to give 26.7 g (stoichiometric yield) of a transparent liquid. This liquid was identified by ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) and was confirmed to be the title compound having about 75% of w/w purity.

[333]

[334] ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 6.12 (1H, s), 5.50 (1H, s), 4.20 (2H, q, J = 7.3 Hz), 2.31 (2H, qt), 1.28 (3H, t, J = 7.3 Hz), 1.07 (3H, t, J = 7.8 Hz).

[335]

[336] Preparation 9

[337] Ethyl 5 ethyl 3 phenyl 4,5 dihydro 5 isoxazolecarboxylate (VIb)

[338] The compound of Preparation 8 (XVa) was reacted according to the same procedure as Preparation 5 to give the title compound

[339]

[340] $^1\text{H NMR}(400\text{MHz } \text{CDCl}_3) \delta$ 7.6(m 2H) 7.4-7.3(m 3H) 4.3-4.2(m 2H) 4.0(d J = 17.2Hz 1H) 3.4(d J=17.2Hz 1H) 2.1-2.0(m 2H) 1.3(t 3H) 1.0(t, 3H)

[341]

[342] Preparation 10

[343] *t* Butyl (3S) 3 amino 4 hydroxy 5 (2,3,5,6 tetrafluorophenoxy) pentanoate (VIIIc)

[344] 2,3,5,6 Tetrafluorophenol was reacted according to the same procedure as Preparations 5 and 6 to give the title compound in a total yield of 72%

[345]

[346] $^1\text{H NMR}(400\text{MHz } \text{DMSO}-d_6) \delta$ 8.2(br 2H) 7.6-7.5(m 1H) 5.9(m 1H) 4.3-4.1(m 3H) 3.6(m 1H) 2.7(m 1H) 1.4(s 9H)

[347]

[348] Example 5

[349] *t* Butyl (3S) 3-[[[(5 ethyl 3-phenyl 4,5 dihydro 5 isoxazolyl)carbonyl] amino] 4 oxo 5 (2,3,5,6 tetrafluorophenoxy)pentanoate (Ic)

[350] The compounds of Preparations 9 and 10 were reacted according to the same procedure as Preparation 4 and Example 1 to give the title compound

[351]

[352] $^1\text{H NMR}(400\text{MHz } \text{CDCl}_3) \delta$ 7.6(dd J = 3.6, 1.6Hz 1H) 7.6(m 2H) 7.4-7.3(m 3H) 6.7(m 1H) 5.1-4.9(m 2H) 4.9-4.8(m 1H) 3.7(dd J = 17.6, 17.2Hz 1H) 3.3(1H d J = 17.2Hz) 3.0-2.8(m 1H) 2.8-2.7(m 1H) 2.1(m 1H) 1.9(m 1H) 1.4-1.3(two s 9H) 1.0(m 3H)

[353]

[354] Example 6

[355] (3S) 3-[[[(5 ethyl 3-phenyl 4,5 dihydro 5 isoxazolyl)carbonyl] amino] 4 oxo 5 (2,3,5,6-tetrafluorophenoxy)pentanoic acid (Icc)

[356] The compound of Example 5 was reacted according to the same procedure as Example 2 to give the title compound

[357]

[358] $^1\text{H NMR}(400\text{MHz } \text{DMSO}-d_6) \delta$ 7.6(br 1H) 7.6-7.5(m 2H) 7.4-7.3(m 3H) 6.8-6.7(m 1H) 4.9-4.8(m 1H) 4.5(br 2H) 3.7(d J = 16Hz 1H) 3.3(d J = 16Hz

1H) 3.330(m 1H) 2.827(m 1H) 2.1(m 1H) 2.019(m 1H) 1.0(m 3H)

[359] MS [M+H] 497

[360]

[361] Preparation 11

[362] Ethyl 5-ethyl-3-(1-naphthyl)-4,5-dihydro-5-isoxazolecarboxylate (VIc)

[363] 1-Naphthaldehyde and ethyl 2-ethylacrylate were reacted according to the same procedure as Preparations 1, 2, and 3 to give the title compound

[364]

[365] ¹H NMR(400MHz CDCl₃) δ 8.9(d J = 8.8Hz 1H) 7.978(m 2H) 7.6-7.4(m 4H) 4.342(m 2H) 4.0(d J = 17.2Hz 1H) 3.4(d J = 17.2Hz 1H) 2.120(m 2H) 1.3(t, 3H) 1.0(t, 3H)

[366]

[367] Example 7

[368] *t*-Butyl (3S)-3-([(5-ethyl-3-(1-naphthyl)-4,5-dihydro-5-isoxazolyl)carbonyl]amino)-4-oxo-5-(2,3,5,6-tetrafluorophenoxy)pentanoate (Id)

[369] The compounds of Preparations 11 and 10 were reacted according to the same procedure as Preparation 4 and Example 1 to give the title compound

[370]

[371] ¹H NMR(400MHz CDCl₃) δ 8.9(m 1H) 7.978(m 3H) 7.674(m 4H) 6.569(m 1H) 5.149(m 2H) 4.9(m 1H) 3.9(dd 1H) 3.5(d J = 17.2Hz 1H) 3.0-2.9(m 1H) 2.8(m 1H) 2.2(m 1H) 2.0(m 1H) 1.413(two s 9H) 1.1(m 3H)

[372]

[373] Example 8

[374] (3S)-3-([(5-ethyl-3-(1-naphthyl)-4,5-dihydro-5-isoxazolyl)carbonyl]amino)-4-oxo-5-(2,3,5,6-tetrafluorophenoxy)pentanoic acid (Idd)

[375] The compound of Example 7 was reacted according to the same procedure as Example 2 to give the title compound

[376]

[377] ¹H NMR(400MHz CDCl₃) δ 8.8(m 1H) 7.977(m 3H) 7.674(m 4H) 6.7(m 1H) 4.9(m 1H) 4.5(br 2H) 3.9(d J = 17.2Hz 1H) 3.5(d J = 17.2Hz 1H) 3.129(m 1H) 2.827(m 1H) 2.2(m 1H) 2.0(m 1H) 1.0(m 3H)

[378] MS [M+MeOH+Na] 601

[379]

[380] Preparation 12

[381] Ethyl 5-ethyl-3-(2-naphthyl)-4,5-dihydro-5-isoxazolecarboxylate (VIId)

[382] 2 Naphthaldehyde and ethyl 2 ethylacrylate were reacted according to the same procedure as Preparations 1 2 and 3 to give the title compound

[383]

[384] ^1H NMR(500MHz CDCl_3) δ 8.7(d $J=8.8\text{Hz}$ 1H) 7.8 7.7(m 2H) 7.5 7.3(m 4H) 4.3-4.2(m 2H) 4.0(d $J=17.2\text{Hz}$ 1H) 3.4(d $J=17.2\text{Hz}$ 1H) 2.1 2.0(m 2H) 1.3(t 3H) 1.0(t 3H)

[385]

[386] Example 9

[387] *t* Butyl (3*S*) 3 ([β ethyl 3 (2 naphthyl) 4,5 dihydro-5 isoxazolyl] carbonyl)amino 4 oxo β (2 3,5 6 tetrafluorophenoxy)pentanoate (Ie)

[388] The compounds of Preparations 12 and 10 were reacted according to the same procedure as Preparation 4 and Example 1 to give the title compound

[389]

[390] ^1H NMR(400MHz CDCl_3) δ 7.8 7.7(m 6H) 7.5(m 2H) 6.7 & 6.5(m 1H) 5.1 4.9(m 2H) 4.9 4.8(m 2H) 3.8(dd $J=16\text{Hz}$ 1H) 3.4(d $J=16\text{Hz}$ 1H) 3.0(m 1H) 2.8(m 1H) 2.8 2.7(m 1H) 2.2 2.1(m 1H) 2.0(m 1H) 1.4-1.3(two s 9H) 1.1 1.0(m 3H)

[391]

[392] Example 10

[393] (3*S*) 3 ([β ethyl 3 (2 naphthyl) 4,5 dihydro 5 isoxazolyl] carbonyl)amino 4 oxo β (2 3,5,6 tetra fluorophenoxy)pentanoic acid (Iee)

[394] The compound of Example 9 was deprotected according to the same procedure as Example 2 and the isomers were resolved by prep TLC to give the following two compounds

[395]

[396] Weakly polar diastereomer

[397] ^1H NMR(400MHz $\text{DMSO}-d_6$) δ 12.4(br 1H) 8.7(br 1H) 8.1(s 1H) 7.9 8.0(m 3H) 7.8 7.9(m 1H) 7.5 7.6(m 3H) 5.2(br 2H) 4.7(br 1H) 3.8(d $J=17.2\text{Hz}$ 1H) 3.5(d $J=17.6\text{Hz}$ 1H) 2.7(m 1H) 2.5(m 1H) 2.0(m 1H) 1.9(m 1H) 0.9-0.8(m 3H)

[398] MS [$M+H$] 547

[399]

[400] Highly polar diastereomer

[401] ^1H NMR(400MHz $\text{DMSO}-d_6$) δ 8.6(br 1H) 8.2(s 1H) 8.0-7.9(m 3H) 7.9(m 1H) 7.6(m 2H) 7.4(m 1H) 5.0(br 2H) 4.8(m 1H) 3.9(d $J=17.6\text{Hz}$, 1H) 3.6(d J

= 17.6 Hz (1H), 2.9-2.7 (m, 2H), 2.1-2.0 (m, 1H), 2.0-1.9 (m, 1H), 0.9 (m, 3H)

[402]

[403] **Preparation 13**

[404] **Ethyl 5-ethyl-3-(1-isoquinolinyl)-4,5-dihydro-5-isoxazolecarboxylate (VIe)**

[405] 1-Isoquinolinealdehyde and ethyl 2-ethylacrylate were reacted according to the same procedure as Preparations 1-2 and 3. The title compound in an active chiral isomeric form was separated by Chiral OD HPLC (Daicel Chemical Industries, 2.00 cm x 25 cm, OD00CJ1C005, 3% i-PrOH in Hexane, 220 nm), which was then used in the next reaction.

[406]

[407] ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 9.25 (m, 1H), 8.55 (d, 1H), 7.85 (d, 1H), 7.74-7.65 (m, 3H), 4.29 (m, 2H), 4.13 (d, 1H), 3.71 (d, 1H), 2.11 (m, 2H), 1.53 (t, 3H), 1.06 (t, 3H).

[408]

[409] **Example 11**

[410] ***t*-Butyl (3S)-3-([(5-ethyl-3-(1-isoquinolinyl)-4,5-dihydro-5-isoxazolyl]carbonyl)amino)-4-oxo-5-(2,3,5,6-tetrafluorophenoxy)pentanoate (If)**

[411] The compounds of Preparations 13 and 10 were reacted according to the same procedure as Preparation 4 and Example 1 to give the title compound.

[412]

[413] ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 9.14 (m, 1H), 8.53 (m, 1H), 7.91-7.85 (m, 2H), 7.74-7.64 (m, 3H), 6.73-6.62 (m, 1H), 5.30-4.91 (m, 3H), 4.09 (two d, 1H), 3.72 (two d, 1H), 3.04-2.76 (m, 2H), 2.24 (m, 1H), 2.04 (m, 1H), 1.45 & 1.35 (two s, 9H), 1.08 (two t, 3H).

[414]

[415] **Example 12**

[416] **(3S)-3-([(5-ethyl-3-(1-isoquinolinyl)-4,5-dihydro-5-isoxazolyl]carbonyl)amino)-4-oxo-5-(2,3,5,6-tetrafluorophenoxy)pentanoic acid (If)**

[417] The compound of Example 11 was reacted according to the same procedure as Example 2 to give the title compound.

[418]

[419] ^1H NMR (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 9.02 (m, 1H), 8.76 (m, 1H), 8.59 (m, 1H), 8.08-7.73 (m, 4H), 7.61-7.32 (m, 1H), 5.19-5.10 (m, 2H), 4.93-4.65 (m, 1H), 3.91 (two d, 1H), 3.68 (two d, 1H), 2.91-2.52 (m, 2H), 2.10-1.94 (m, 2H), 0.94 (two t, 3H).

[420] **Mass $M+H$ 548**

[421]

[422] **Example 13**

[423] *t* Butyl 3-([5-ethyl-3-(1-isoquinolinyl)-4,5-dihydro-5-isoxazolyl]carbonyl)amino-5-fluoro-4-oxopentanoate (Ig)

[424] The compound of Preparation 13 and *t* butyl 3-amino-5-fluoro-4-hydroxypentanoate were reacted according to the same procedure as Preparation 4 and Example 1 to give the title compound

[425]

[426] ¹H NMR(400MHz CDCl₃) δ 9.15(m 1H) 8.55(d 1H) 7.87 7.66(m 5H) 5.22 4.89(m 3H) 4.12(two d 1H) 3.72(two d 1H) 3.05 2.75(m 2H) 2.22 (m 1H) 2.04(m 1H) 1.45 & 1.34(two s 9H) 1.07(two t, 3H)

[427]

[428] **Example 14**

[429] 3-([5-Ethyl-3-(1-isoquinolinyl)-4,5-dihydro-5-isoxazolyl]carbonyl)amino-5-fluoro-4-oxopentanoic acid (Igg)

[430] The compound of Example 13 was reacted according to the same procedure as Example 2 to give the title compound

[431]

[432] ¹H NMR(400MHz DMSO-d₆) δ 9.03(m 1H) 8.67 8.59(m, 2H) 8.08(d 1H) 7.97 7.78(m 3H) 5.26 5.07(m 2H) 4.75(m 1H) 3.94(two d 1H) 3.67(two d 1H) 2.88 2.58(m 2H) 2.07 1.94(m 2H) 0.96(two t 3H)

[433] Mass M+H 402

[434]

[435] **Example 15**

[436] Ethyl 3-([5-ethyl-3-(1-isoquinolinyl)-4,5-dihydro-5-isoxazolyl]carbonyl)amino-5-fluoro-4-oxopentanoate (Ihh)

[437] The compound of Example 14 was reacted according to a method known in *Tetrahedron Letters* 1994 35(52) 9693-9696 to give the title compound

[438]

[439] ¹H NMR(400MHz CDCl₃) δ 9.15(m 1H) 8.55(d 1H) 7.89 7.67(m 5H) 5.23 4.94(m 3H) 4.18(m 2H) 4.11(two d 1H) 3.72(two d 1H) 3.08 2.82 (m 2H) 2.22(m 1H) 2.05(m 1H) 1.29 1.04(m 6H)

[440]

[441] **Preparation 14**

[442] Methyl 5-isopropyl-3-(1-isoquinolinyl)-4,5-dihydro-5-isoxazolecarboxylate and resolution (VIi)

[443] 1 Isoquinolinealdehyde and methyl 2 isopropylacrylate were reacted according to the same procedure as Preparations 1 2 and 3 to give the title compound. From this obtained compound (5*R*) active chiral isomer (9.7min-11.7min) was separated by prep HPLC using chiral OD column (Daicel Chemical Industries 2.00cm x 25cm OD00CJ 1C005 5% iPrOH in Hexane 1.4 mL/min 220nm) (the other (5*S*) isomer was eluted during the retention time of 15.3-20.1min) which was then used in the next reaction (see Preparation 23 for the resolution after hydrolysis).

[444]

[445] ¹H NMR(500MHz CDCl₃) δ 9.24(m 1H) 8.55(d 1H) 7.85(d 1H) 7.72(t, 3H) 7.67(m 2H) 4.11(d 1H) 3.83(s 3H) 3.74(d 1H) 2.50(septet 1H) 1.07(d 3H) 1.02(d 3H)

[446]

[447] Example 16

[448] *t*-Butyl 5-fluoro 3-(((5*R*) 5-isopropyl 3-(1-isoquinoliny) 4,5-dihydro 5-isoxazolyl)carbonyl)amino) 4-oxopentanoate (Ih)

[449] The compound of Preparation 14 and *t*-butyl 3-amino 5-fluoro 4-hydroxypentanoate were reacted according to the same procedure as Preparation 4 and Example 1 to give the title compound.

[450]

[451] ¹H NMR(500MHz CDCl₃) δ 9.14(m 1H) 8.55(d 1H) 7.87-7.65(m 5H) 5.23-4.93(m 2H) 4.90(m 1H) 4.05-4.00(two d 1H) 3.84-3.79(two 1H) 3.06-2.74(m 2H) 2.40(m 1H) 1.45 & 1.34(two s 9H) 1.12-1.07(m 6H)

[452]

[453] Example 17

[454] 5-Fluoro 3-(((5*R*) 5-isopropyl 3-(1-isoquinoliny) 4,5-dihydro 5-isoxazolyl)carbonyl)amino) 4-oxopentanoic acid (Iii)

[455] The compound of Example 16 was reacted according to the same procedure as Example 2 to give the title compound (the compound of (5*S*) isomer Iii u was obtained according to the same procedure)

[456]

[457] ¹H NMR(400MHz DMSO-d₆) δ 9.00(m 1H) 8.63-8.48(m 2H) 8.08(d 1H) 7.97(m 1H) 7.87-7.76(m 2H) 5.31-4.82(br 2H) 4.74(m 1H) 3.91(two d 1H) 3.73(two d 1H) 2.88-2.61(m 2H) 2.33(m 1H) 0.98(m 6H)

[458] Mass M+H 416

[459]

[460] Preparation 15

[461] Ethyl 5-ethyl-3-(4-quinoliny)-4,5-dihydro-5-isoxazolecarboxylate (VIg)

[462] 4-Quinolinaldehyde and ethyl 2-ethylacrylate were reacted according to the same procedure as Preparations 1, 2, and 3 to give the title compound

[463]

[464] $^1\text{H NMR}$ (400MHz CDCl_3) δ 8.95(d, 1H), 8.89(m, 1H), 8.11(d, 1H), 7.83(m, 1H), 7.71(m, 1H), 7.65(d, 1H), 4.27(m, 2H), 4.01(d, 1H), 3.67(d, 1H), 2.10(m, 2H), 1.31(t, 3H), 1.02(t, 3H)

[465]

[466] Example 18

[467] *t*-Butyl 3-(((5-ethyl-3-(4-quinoliny)-4,5-dihydro-5-isoxazolyl)carbonyl)amino)-5-fluoro-4-oxopentanoate (Ii)

[468] The compound of Preparation 15 and *t*-butyl 3-amino-5-fluoro-4-hydroxypentanoate were reacted according to the same procedure as Preparation 4 and Example 1 to give the title compound

[469]

[470] $^1\text{H NMR}$ (400MHz CDCl_3) δ 8.97(d, 1H), 8.89(m, 1H), 8.17(d, 1H), 7.87, 7.64(m, 3H), 7.36(d, 1H), 5.21, 4.93(m, 3H), 3.93(two d, 1H), 3.48(two d, 1H), 3.05, 2.78(m, 2H), 2.24(m, 1H), 2.03(m, 1H), 1.46 & 1.33(two s, 9H), 1.06(two t, 3H)

[471]

[472] Example 19

[473] 3-(((5-Ethyl-3-(4-quinoliny)-4,5-dihydro-5-isoxazolyl)carbonyl)amino)-5-fluoro-4-oxopentanoic acid (Ijj)

[474] The compound of Example 18 was reacted according to the same procedure as Example 2 to give the title compound

[475]

[476] $^1\text{H NMR}$ (400MHz $\text{DMSO}-d_6$) δ 9.16, 9.10(m, 2H), 8.25, 7.86(m, 5H), 5.20(br, 2H), 4.75(m, 1H), 4.00-3.89(two d, 1H), 3.73(two d, 1H), 2.87, 2.71(m, 2H), 2.26, 2.05(m, 2H), 1.07(two t, 3H)

[477] Mass $M+H$ 402

[478]

[479] Preparation 16

[480] Ethyl 3-(benzothiophen-2-yl)-5-ethyl-4,5-dihydro-5-isoxazolecarboxylate (VIh)

[481] Benzothiophen 2 aldehyde oxime derivative (400 mg 2.26 mmol) prepared according to the same procedure as Preparation 1 was dissolved in THF (25 mL) and the mixture was kept at 0°C. Ethyl 2-ethylacrylate (434 mg 1.5 Eq) and triethylamine (7 drops) were dissolved in THF (5 mL). This obtained solution was slowly added to the above and sodium hypochlorite solution (6.0 mL) was further added. The reaction solution was warmed to room temperature and stirred for 4 hours. Water (20 mL) was added and the mixture was extracted with ethyl acetate (40 mL x 2), washed with aqueous sodium chloride solution (20 mL), dried over magnesium sulfate, filtered and concentrated under reduced pressure. The residue was purified by column chromatography (20% ethyl acetate/hexane) to give the title compound (121 mg, Yield 18%).

[482]

[483] ¹H NMR(400MHz, CDCl₃) δ 7.82-7.75(m, 2H), 7.40-7.32(m, 3H), 4.28(m, 2H), 3.90(d, 1H), 3.31(d, 1H), 2.07(m, 2H), 1.33(t, 3H), 1.01(t, 3H).

[484]

[485] Example 20

[486] *t*-Butyl 3-(((3-(benzothiophen-2-yl)-5-ethyl-4,5-dihydro-5-isoxazolyl)carbonyl)amino)-5-fluoro-4-oxopentanoate (Ij)

[487] The compound of Preparation 16 and *t*-butyl 3-amino-5-fluoro-4-hydroxypentanoate were reacted according to the same procedure as Preparation 4 and Example 1 to give the title compound.

[488]

[489] ¹H NMR(400MHz, CDCl₃) δ 7.83-7.68(m, 3H), 7.42-7.35(m, 3H), 5.21-4.88(m, 3H), 3.80(two d, 1H), 3.38(two d, 1H), 3.03-2.78(m, 2H), 2.17(m, 1H), 2.01(m, 1H), 1.46 & 1.38(two s, 9H), 1.03(two t, 3H).

[490]

[491] Example 21

[492] 3-(((3-(benzothiophen-2-yl)-5-ethyl-4,5-dihydro-5-isoxazolyl)carbonyl)amino)-5-fluoro-4-oxopentanoic acid
(3-(((3-(benzothiophen-2-yl)-5-ethyl-4,5-dihydro-5-isoxazolyl)carbonyl)amino)-5-fluoro-4-oxopentanoic acid) (Ikk)

[493] The compound of Example 20 was reacted according to the same procedure as Example 2 to give the title compound.

[494]

[495] ¹H NMR(400MHz, DMSO-d₆) δ 8.63(m, 1H), 8.11-7.79(m, 3H), 7.47-7.36(m,

56

2H) 5.24, 5.06(m, 2H), 4.73(m, 1H), 3.79(two d, 1H), 3.53(two d, 1H), 2.83, 2.58(m, 2H), 2.03, 1.86(m, 2H), 0.91(two t, 3H)

[496] Mass M+H 407

[497]

[498] Preparation 17

[499] Ethyl 3-(1,3-dimethyl-1H-indol-2-yl)-5-ethyl-4,5-dihydro-5-isoxazole carboxylate (VI)

[500] 1,3-Dimethyl-1H-indol-2-aldehyde oxime derivative (356 mg, 2.07 mmol) was dissolved in dichloromethane (20 mL) and the mixture was kept at 0°C. Ethyl 2-ethylacrylate (345 mg, 1.3 Eq) and triethylamine (6 drops) were dissolved in dichloromethane (5 mL); thus obtained solution was slowly added to the above and sodium hypochlorite solution (5.5 mL) was further added. The reaction solution was warmed to room temperature and stirred for 4 hours. Water (20 mL) was added and the mixture was extracted with dichloromethane (40 mL x 2), washed with aqueous sodium chloride solution (20 mL), dried over magnesium sulfate, filtered and concentrated under reduced pressure. The residue was purified by column chromatography (15% ethyl acetate/hexane) to give the title compound (230 mg, Yield 35%).

[501]

[502] ¹H NMR(400MHz, CDCl₃) δ 7.60(d, 1H), 7.31(m, 2H), 7.12(m, 1H), 4.29(m, 2H), 3.98(d, 1H), 3.94(s, 3H), 3.40(d, 1H), 2.47(s, 3H), 2.08(m, 2H), 1.34(t, 3H), 1.04(t, 3H)

[503] Mass M+H 315

[504]

[505] Example 22

[506] *t*-Butyl (3S)-3-(((3-(1,3-dimethyl-1H-indol-2-yl)-5-ethyl-4,5-dihydro-5-isoxazolyl)carbonyl)amino)-4-oxo-5-(2,3,5,6-tetrafluorophenoxy)pentanoate (Ik)

[507] The compounds of Preparations 17 and 10 were reacted according to the same procedure as Preparation 4 and Example 1 to give the title compound.

[508]

[509] ¹H NMR(400MHz, CDCl₃) δ 7.85, 7.79(m, 1H), 7.57(m, 1H), 7.37, 7.26(m, 2H), 7.13(m, 1H), 6.75, 6.49(m, 1H), 5.12-4.90(m, 3H), 3.95(two d, 1H), 3.89(two s, 3H), 3.45(two d, 1H), 3.03, 2.79(m, 2H), 2.44(two s, 3H), 2.22(m, 1H), 2.01(m, 1H), 1.58 & 1.37(two s, 9H), 1.05(two t, 3H)

[510]

[511] Example 23

[512] (3S) 3 ([3 (1,3 dimethyl 1*H* indol 2 yl) 5 ethyl 4,5 dihydro 5 isoxazolyl] carbonyl)amino) 4 oxo 5 (2,3,5,6 tetrafluorophenoxy)pentanoic acid (III)

[513] The compound of Example 22 was reacted according to the same procedure as Example 2 to give the title compound

[514]

[515] ¹H NMR(400MHz DMSO d₆) δ 8.67(br 1H) 7.61-7.43(m 3H) 7.27(m 1H) 7.08(m 1H) 5.20(br 2H) 4.83(m 1H) 3.84(two s 3H) 3.76(two d 1H) 3.59(two d 1H) 2.91-2.60(m 2H) 2.50(two s 3H) 2.07-1.91(m 2H) 0.95(two t, 3H)

[516]

[517] Example 24

[518] *t* Butyl 3-([3 (1,3 dimethyl 1*H* indol 2 yl) 5 ethyl 4,5 dihydro 5 isoxazolyl] carbonyl)amino) 5 fluoro-4 oxopentanoate (II)

[519] The compound of Preparation 17 and *t* butyl 3 amino 5 fluoro-4-hydroxypentanoate were reacted according to the same procedure as Preparation 4 and Example 1 to give the title compound

[520]

[521] ¹H NMR(400MHz CDCl₃) δ 7.79(m 1H) 7.60(m 1H) 7.32(m 2H) 7.13(m 1H) 5.20-4.90(m 3H) 3.97-3.89(m 4H) 3.46(two d 1H) 3.03-2.77(m 2H) 2.21(m 1H) 2.01(m 1H) 1.46 & 1.38(two s 9H) 1.05(two t 3H)

[522]

[523] Example 25

[524] 3 ([3-(1,3-Dimethyl 1*H* indol 2 yl) 5 ethyl 4,5 dihydro 5 isoxazolyl] carbonyl)amino) 5 fluoro 4 oxopentanoic acid (Imm)

[525] The compound of Example 24 was reacted according to the same procedure as Example 2 to give the title compound

[526]

[527] ¹H NMR(400MHz, DMSO d₆) δ 8.68(br 1H) 7.60(m 1H) 7.45(m 1H) 7.26(m 1H) 7.07(m 1H) 5.20(br 2H) 4.81(m 1H) 3.84(two s 3H) 3.76 (two d 1H) 3.59(two d 1H) 2.94-2.59(m 2H) 2.38(two s 3H) 2.07-1.91 (m 2H) 0.95(two t, 3H)

[528] Mass M+H 418

[529]

[530] Preparation 18

[531] Ethyl 5 ethyl 3 (1 naphthylmethyl) 4,5 dihydro 5 isoxazolecarboxylate (VI₁)

[532] 1 Naphthylacetaldehyde and ethyl 2 ethylacrylate were reacted according to the same procedure as Preparations 1 2 and 3 to give the title compound

[533]

[534] ¹H NMR(500MHz CDCl₃) δ 8.180(d J=8Hz 1H) 7.8(d J=7.6Hz 1H) 7.877(d J=8Hz, 1H) 7.574(m 2H) 7.4-7.3(m 2H) 4.140(m 4H) 3.1(d J=17.6Hz 1H) 2.6(d J=17.6Hz 1H) 1.817(m 2H) 1.2(t, 3H) 0.7(t, 3H)

[535]

[536] Example 26

[537] *t* Butyl (3*S*) 3-([5 ethyl 3 (1 naphthylmethyl)-4,5 dihydro-5 isoxazolyl] carbonyl)amino) 4 oxo 5 (2,3,5,6 tetrafluorophenoxy)pentanoate (Im)

[538] The compounds of Preparations 18 and 10 were reacted according to the same procedure as Preparation 4 and Example 1 to give the title compound

[539]

[540] ¹H NMR(400MHz CDCl₃) δ 8.0(m 1H) 7.8(m 1H) 7.8(m 1H) 7.7(m 1H) 7.5(m 2H) 7.473(m 2H) 6.7(m 1H) 5.0-4.9(m 2H) 4.948(m 1H) 4.2-4.0(m 2H) 3.1(dd J=24.8Hz 1H) 2.926(m 3H) 1.9(m 1H) 1.7(m 1H) 1.4(two s 9H) 0.8(m 3H)

[541]

[542] Example 27

[543] (3*S*) 3 ([5 ethyl 3-(1 naphthylmethyl) 4,5 dihydro 5 isoxazolyl]carbonyl) amino) 4 oxo-5 (2,3,5,6 tetrafluorophenoxy)pentanoic acid (Inn)

[544] The compound of Example 26 was reacted according to the same procedure as Example 2 to give the title compound

[545]

[546] ¹H NMR(400MHz DMSO d₆) δ 12.3(br 1H) 8.4(br 1H) 8.0(m 1H) 7.9(m 1H) 7.8(m 1H) 7.574(m 5H) 5.0(br 2H) 4.7(m 1H) 4.0(s 2H) 3.3(m 1H) 3.1(m 1H) 2.8(m 2H) 2.5(m 1H) 1.8(m 1H) 1.7(m 1H) 0.8(m 3H)

[547] MS [M+H]⁺ 561

[548]

[549] Example 28

[550] (3*S*) 5 (*t* butoxy) 3-([5 ethyl 3 [2 (1 naphthyl)ethyl] 4,5 dihydro 5 isoxazolyl]carbonyl)amino] 2,5 dioxopentyl 2,6 dichlorobenzoate (In)

[551] 1 Naphthylpropionaldehyde and the compound of Preparation 6 were reacted according to the same procedure as Preparations 1 2 3 and 4 and Example 1 to give

the title compound

[552]

[553] $^1\text{H NMR}(400\text{MHz } \text{CDCl}_3) \delta$ 8.00(d, 1H) 7.85(m, 1H) 7.76(m, 2H) 7.57 7.28(m, 7H) 7.34-7.27(m, 3H) 5.20 5.05(m, 2H) 4.94 & 4.88(two m, 1H) 3.39 3.27(m, 3H) 2.97 2.72(m, 5H) 2.07(m, 1H) 1.86(m, 1H) 1.46 & 1.45(two s, 9H) 1.00 & 0.96(two t, 3H)

[554]

[555] **Example 29**

[556] (3S) 5 [(2,6-dichlorobenzoyl)oxy] 3-[[[5-ethyl 3-[2-(1-naphthyl)ethyl] 4,5-dihydro-5-isoxazolyl]carbonyl]amino]-4-oxopentanoic acid (Ioo)

[557] The compound of Example 28 was reacted according to the same procedure as Example 2 to give the title compound

[558]

[559] $^1\text{H NMR}(400\text{MHz } \text{DMSO}-d_6) \delta$ 8.45(bd, 1H) 8.06(d, 1H) 7.90(d, 1H) 7.77(d, 1H) 7.60 7.37(m, 7H) 5.21 5.03(m, 2H) 4.73(m, 1H) 3.06(m, 2H) 2.65(bd, 4H) 1.91 & 1.74(two m, 2H) 0.84(m, 3H)

[560]

[561] **Preparation 19**

[562] Ethyl 5-ethyl 3-[(1-naphthyloxy)methyl] 4,5-dihydro 5-isoxazole carboxylate (VII)

[563] 2-Nitroethanol pyranil derivative (see *Synthesis* 1993 /2/ 1206-1208) and ethyl 2-ethylacrylate were reacted and the resulting product was deprotected to give ethyl 5-ethyl-(3-hydroxymethyl) 4,5-dihydro 5-isoxazolecarboxylate (23%). This compound was subjected to bromination (CBr_4 , PPh_3 , 94%) and then reacted with 1-naphthol (NaH , DMF, 82%) to give the title compound

[564]

[565] $^1\text{H NMR}(500\text{MHz } \text{CDCl}_3) \delta$ 8.20(m, 1H) 7.81(d, 1H) 7.55 7.42(m, 3H) 7.36(m, 1H) 6.88(d, 1H) 5.01(dd, 2H) 4.22(m, 2H) 3.61(d, 1H) 3.07(d, 1H) 1.97(m, 2H) 1.27(t, 3H) 0.93(t, 3H)

[566]

[567] **Example 30**

[568] (3S) 3-[[[5-Ethyl 3-[(1-naphthyloxy)methyl] 4,5-dihydro 5-isoxazolyl]carbonyl]amino] 4-oxo 5-(2,3,5,6-tetrafluorophenoxy)pentanoic acid (Ipp)

[569] The compounds of Preparations 19 and 10 were reacted according to the same

procedure as Preparation 4 and Examples 1 and 2 to give the title compound

[570]

[571] ^1H NMR(400MHz DMSO d_6) δ 8.51(br 1H) 8.13(m 1H) 7.87(m 1H)
7.54-7.38(m 5H) 7.02(m 1H) 5.18-4.97(m 4H) 4.71(m 1H) 3.58(two d 1H)
3.21(two d 1H) 2.68(m 2H) 1.97(m 1H) 1.81(m 1H) 0.86(two t, 3H)

[572] Mass $M+H$ 577

[573]

[574] Example 31

[575] (3S) 3 {[(3 {[(4 Chloro 1 naphthyl)oxy] methyl} 5 ethyl 4,5 dihydro-5 isoxazolyl)carbonyl]amino} 4-oxo-5 (2,3,5 6-tetrafluorophenoxy)pentanoic acid (Iqq)

[576] The bromo derivative obtained as an intermediate during the process of Preparation 19 and 4-chloro-1 naphthol were reacted according to the same procedure as Preparation 19 to give ethyl 5 ethyl-3 [(4-chloro 1 naphthyloxy)methyl] 4,5 dihydro 5 isoxazoldecaboxylate which was then reacted according to the same procedure as Preparation 4 and Examples 1 and 2 to give the title compound

[577]

[578] ^1H NMR(400MHz DMSO d_6) δ 8.65(m 1H) 8.24-8.09(m 2H) 7.78 7.35(m 4H) 7.06(m 1H) 5.17 5.07(m 4H) 4.82-4.69(m 1H) 3.45(two d 1H) 3.23(two d 1H) 2.83 2.52(m 2H) 1.96 1.79(m 2H) 0.86(two t 3H)

[579] Mass $M+H$ 611

[580]

[581] Preparation 20

[582] *tert* Butyl (3S) 3 amino-4 hydroxybutanoate

[583] To N benzyloxycarbonyl- β t butylaspartic acid (3.0 g 9.28 mmol) and NMM (1.12 mL 1.1 Eq) was added dry tetrahydrofuran (20 mL) under nitrogen atmosphere. The reaction solution was kept at 0°C. Isobutyl chloroformate (1.26 mL 1.05 Eq) was added and the mixture was stirred for about 40 minutes. Thus obtained slurry was filtered under nitrogen and the resulting solution was added to NaBH_4 (702 mg 2.0 Eq) solution [methanol (10 mL) dry tetrahydrofuran (20 mL)] at 78°C. The resulting mixture was slowly warmed to room temperature (two hours). The reaction was stopped by acetic acid (2.3 mL) and the reaction solution was distilled under reduced pressure to remove methanol. The residue was extracted with ethyl acetate (50 mL x 2), washed with water and aqueous sodium chloride solution, dried (anhydrous Na_2SO_4), concentrated under reduced pressure and separated/purified by column chro

matography (ethyl acetate hexane 1/5) to give an alcohol compound (2.52g Yield 88%)

[584]

[585] The benzyloxycarbonyl group of the compound obtained above was removed (Pd/C) under hydrogen balloon for one hour to give the title compound (Yield 100%)

[586]

[587] $^1\text{H NMR}$ (400MHz DMSO d_6) δ 4.60(bs 1H) 3.21(m 2H) 2.96(m 1H) 2.41(dd 1H) 2.03(dd 1H) 1.40(s 9H)

[588]

[589] Preparation 21

[590] *tert* Butyl (3*S*)-4-hydroxy-3-(((5*R*)-5-isopropyl-3-(1-isoquinoliny)-4,5-dihydro-5-isoxazolyl)carbonyl)amino)butanoate (XVI)

[591] The compound of Preparation 14 was reacted according to the same procedure as Preparation 4 to give an active carboxylic acid derivative (VII*f*). A mixture of said active carboxylic acid derivative (VII*f*, 224 mg, 0.79 mmol), the amino alcohol derivative prepared in Preparation 20 (166 mg, 1.2 Eq) and HATU (390 mg, 1.3 Eq) was cooled to 0°C, triethylamine (0.33 mL, 3.0 Eq) was added in a solvent of DMF (5 mL) and the resulting mixture was reacted for two hours. The solvent was distilled under reduced pressure and the residue was extracted with ethyl acetate (50 mL x 2), washed with water, aqueous sodium bicarbonate solution and aqueous sodium chloride solution, dried (anhydrous Na_2SO_4), concentrated under reduced pressure and purified by column chromatography (60-70% EA/Hex) to give the title compound (330 mg, Yield 95%).

[592]

[593] $^1\text{H NMR}$ (400MHz CDCl_3) δ 9.16(d, 1H) 8.55(d, 1H) 7.85(d, 1H) 7.73-7.70(m, 3H) 7.56(NH, d, 1H) 4.26(m, 1H) 4.12(d, 1H) 4.04(d, 1H) 3.79(d, 1H) 3.75(t, 2H) 2.94(bs, 1H) 2.57(m, 2H) 2.41(m, 1H) 1.10 & 1.07(two d, 6H)

[594]

[595] Example 32

[596] 6-(*tert* Butyl)-1-ethyl-(2*E*,4*S*)-4-(((5*R*)-5-isopropyl-3-(1-isoquinoliny)-4,5-dihydro-5-isoxazolyl)carbonyl)amino)-2-hexenedioate (Iq)

[597] To the compound of Preparation 21 (107 mg, 0.24 mmol) and Dess Martin reagent (153 mg, 1.5 Eq) was added dry dichloromethane (4 mL) and the mixture was stirred

for one hour at room temperature and concentrated under reduced pressure. To the residue were added dry THF (3 mL) and (carboethoxymethylene)triphenylphosphorane (108 mg, 1.3 Eq) and the mixture was refluxed for two hours. The reaction mixture was extracted with ethyl acetate (20 mL x 2), washed with water, saturated aqueous sodium bicarbonate solution and aqueous sodium chloride solution, dried (anhydrous Na_2SO_4), concentrated under reduced pressure and preliminarily purified by prep-chromatography (40% ethyl acetate/hexane) to give the title compound (98 mg, 80%) with the diastereomer ratio of 3:1.

[598]

[599] ^1H NMR(500MHz, CDCl_3) of major isomer δ 9.15(d, 1H), 8.54(d, 1H), 7.86(d, 1H), 7.74-7.62(m, 4H), 6.93(dd, 1H), 6.00(dd, 1H), 4.98(m, 1H), 4.19(qt, 2H), 4.02(d, 1H), 3.81(d, 1H), 2.58(m, 2H), 2.43(m, 1H), 1.36(s, 9H), 1.27(t, 3H), 1.07 & 1.06(two d, 6H).

[600]

[601] Example 33

[602] (3*S*,4*E*)-6-ethoxy-3-(((5*R*)-5-isopropyl-3-(1-isoquinolinyl)-4,5-dihydro- Δ -isoxazolyl]carbonyl)amino)-6-oxo-4-hexenoic acid (Irr)

[603] The compound of Example 32 was reacted according to the same procedure as Example 2 to give the title compound.

[604]

[605] ^1H NMR(500MHz, $\text{MeOD}-d_3$) of major isomer δ 9.04(d, 1H), 8.61(d, 1H), 8.52(d, 1H), 7.95(d, 1H), 7.81-7.68(m, 3H), 6.94(dd, 1H), 6.00(dd, 1H), 5.01(m, 1H), 4.17(qt, 2H), 3.90(d, 1H), 3.82(d, 1H), 2.71(d, 2H), 2.39(septet, 1H), 1.26(t, 3H), 1.07 & 1.06(two d, 6H).

[606] MS: $M + H$ 454

[607]

[608] Example 34

[609] *tert*-Butyl (3*S*,4*E*)-3-(((5*R*)-5-isopropyl-3-(1-isoquinolinyl)-4,5-dihydro-5-isoxazolyl]carbonyl)amino)-5-(methylsulfonyl)-4-pentenoate (Ir)

[610] Anhydrous dichloromethane (4 mL) was added to the compound of Example 21 (109 mg, 0.25 mmol) and Dess-Martin reagent (157 mg, 1.5 Eq) and the mixture was stirred for one hour at room temperature and concentrated under reduced pressure. The reaction was stopped by isopropyl alcohol (0.5 mL). The solid was removed by

filtration under reduced pressure using Celite. The filtrate was extracted with ethyl acetate (20 mL x 2), washed with water, saturated aqueous sodium bicarbonate solution and aqueous sodium chloride solution, dried (anhydrous Na_2SO_4) and concentrated under reduced pressure to give an aldehyde compound (540mg, Yield 99%).

[611]

[612] Diethyl methylsulfonmethanephosphonate (113 mg, 2.0 Eq, *Synthesis* 1969, 170) was dissolved in THF (3 mL). NaH (60% in mineral oil, 20 mg, 2.0 Eq) and above obtained aldehyde compound were added, and the mixture was refluxed for two hours. After extraction by ethyl acetate (20 mL x 2), the extract was washed with water, saturated aqueous sodium bicarbonate solution and aqueous sodium chloride solution, dried (anhydrous Na_2SO_4), concentrated under reduced pressure and purified by prep chromatography (60% ethyl acetate/hexane) to give the title compound (52 mg, 41%) with the diastereomer ratio of 4:1.

[613]

[614] ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) of major diastereomer: δ 9.14 (d, 1H), 8.55 (d, 1H), 7.86 (d, 1H), 7.76-7.65 (m, 4H), 6.92 (dd, 1H), 6.57 (dd, 1H), 5.03 (m, 1H), 4.02 (d, 1H), 3.81 (d, 1H), 2.94 (s, 3H), 2.61 (m, 2H), 2.41 (septet, 1H), 1.36 (s, 9H), 1.10 & 1.08 (two set of d, 6H).

[615]

[616] **Example 35**

[617] (3*S*,4*E*)-3-(((5*R*)-5-isopropyl-3-(1-isoquinoliny)-4,5-dihydro- α -isoxazolyl)carbonyl)amino-5-(methylsulfonyl)-4-pentenoic acid (Iss)

[618] The compound of Example 34 was reacted according to the same procedure as Example 2 to give the title compound.

[619]

[620] ^1H NMR (500 MHz, $\text{MeOD}-d_3$) of major isomer: δ 9.04 (d, 1H), 8.52 (d, 1H), 7.95 (d, 1H), 7.82-7.69 (m, 3H), 6.90 (dd, 1H), 6.71 (dd, 1H), 5.06 (m, 1H), 3.86 (m, 2H), 2.98 (s, 3H), 2.76 (d, 2H), 2.39 (m, 1H), 1.08 & 1.06 (two set of d, 6H).

[621] MS: $M + H$ 460

[622]

[623] Preparation method of Examples 36-42

[624] The compounds which were obtained by reacting (iso)quinolinealdehyde (or 1- or 2-naphthaldehyde) and ethyl 2-ethyl acrylate (or ethyl 2-propyl acrylate) according to the same procedure as Preparations 1, 2 and 3 (or Preparations 1 and 16) were purified if necessary by prep HPLC using chiral OD column to isolate active chiral isomers.

The isolated active chiral isomers or inactive chiral isomers were hydrolyzed according to the same procedure as Preparation 4 and the resulting compounds were reacted with t butyl 3 amino 5 fluoro 4 hydroxypentanoate according to the same procedure as Examples 1 and 2 to give the title compounds of following Examples 36-42

[625]

[626] Example 36

[627] 5 Fluoro-3-(((5S)-3-(1-isoquinoliny)-5-propyl-4,5-dihydro-5-isoxazolyl)carbonyl)amino-4-oxopentanoic acid (Itt)

[628]

[629] ¹H NMR(500MHz DMSO d₆) δ 9.02(t, 1H) 8.61(m, 2H) 8.08(d, 1H) 7.96(m, 1H) 7.85(t, 1H) 7.78(m, 1H) 5.05(bs, 2H) 4.73(m, 1H) 3.97-3.92(dd, 1H) 3.70-3.65(two d, 1H) 2.90-2.70(two m, 2H) 2.03(m, 1H) 1.91(m, 1H) 1.48(m, 1H) 1.32(m, 1H) 0.93(m, 3H)

[630] Mass M+H 416

[631]

[632] Example 37

[633] (3-(((5S)-5-ethyl-3-(1-naphthyl)-4,5-dihydro-5-isoxazolyl)carbonyl)amino)-5-fluoro-4-oxopentanoic acid (Iuu)

[634]

[635] ¹H NMR(500MHz DMSO d₆) δ 8.84(s, 1H) 8.59(bs, 1H) 8.02(m, 2H) 7.75(s, 1H) 7.60(m, 3H) 5.01(bs, 2H) 4.73(m, 1H) 3.87-3.82(dd, 1H) 3.70-3.65(two d, 1H) 2.82-2.73(two m, 2H) 2.05(m, 1H) 1.95(m, 1H) 0.96(m, 3H)

[636] Mass M+H 401

[637]

[638] Example 38

[639] (3-(((5S)-5-ethyl-3-(2-quinoliny)-4,5-dihydro-5-isoxazolyl)carbonyl)amino)-5-fluoro-4-oxopentanoic acid (Ivv)

[640]

[641] ¹H NMR(500MHz DMSO d₆) δ 8.61(dd, 1H) 8.41(m, 1H) 8.02(m, 3H) 7.79(t, 1H) 7.65(t, 1H) 5.22-5.06(m, 1H) 4.72(m, 1H) 4.49-4.28(m, 1H) 3.84(m, 1H) 3.54(m, 1H) 2.99-2.54(two m, 2H) 2.01(m, 1H) 1.91(m, 1H) 0.91(m, 3H)

[642] Mass M+H 402

[643]

[644] Example 39

65

- [645] (3 ([[5*R*] 5 ethyl 3 (3 isoquinoliny)-4,5 dihydro-5 isoxazolyl] carbonyl]amino) 5 fluoro 4 oxopentanoic acid) (Iww)
- [646]
- [647] ¹H NMR(400MHz CDCl₃) δ 9.25 & 9.16(two s 1H) 8.08-7.64(m 5H) 4.90-4.84(m 1H) 4.79-4.54(m 2H) 4.01-3.93(two d 1H) 3.54(d 1H) 3.03-2.87(m 2H) 2.27-2.19 & 2.10-2.01(two m 2H) 1.10-1.06(m 3H)
- [648] Mass M+H 402
- [649]
- [650] Example 40
- [651] 3 ([[5 ethyl 3 (8 quinoliny) 4,5 dihydro 5 isoxazolyl] carbonyl]amino) 5 fluoro-4 oxopentanoic acid) (Ixx)
- [652]
- [653] ¹H NMR(500MHz CDCl₃) δ 8.98 & 8.93(two m 1H) 8.56-8.21(m 1H) 8.03-7.94(m 2H) 7.73(bs 1H) 7.60(m 1H) 7.53-7.48(two m 1H) 4.94-4.64(m 3H) 4.27-4.22(two d 1H) 3.77(d 1H) 3.07 & 2.92(two m 2H) 2.31-2.22(m 1H) 2.12-2.05(m 1H) 1.10(t, 3H)
- [654] Mass M+H 402
- [655]
- [656] Example 41
- [657] 3 ([[5 ethyl 3-(3 quinoliny) 4,5 dihydro 5 isoxazolyl] carbonyl]amino) 5 fluoro 4-oxopentanoic acid) (Iyy)
- [658]
- [659] ¹H NMR(400MHz CDCl₃) δ 9.32 & 9.25(two d 1H) 8.16-8.03(m 2H) 7.83-7.73(m 3H) 7.62-7.55(m 1H) 4.95-4.76(m 3H) 3.86(two d 1H) 3.45-3.39(two d 1H) 3.17-3.01(two m 1H) 2.90-2.82(m 1H) 2.27-2.20(m 1H) 2.09-2.00(m 1H) 1.10-1.05(m 3H)
- [660] Mass M+H 402
- [661]
- [662] Example 42
- [663] 5 Fluoro 3 ([[5*R*] 5 isopropyl 3-(2 quinoliny) 4,5 dihydro 5 isoxazolyl] carbonyl]amino) 4 oxopentanoic acid) (Izz)
- [664]
- [665] ¹H NMR(400MHz CDCl₃) δ 8.24(m 1H) 8.14(m 1H) 8.04(d 1H) 7.88(d 1H) 7.79(m 1H) 7.65(m 1H) 7.51(bs 1H) 5.13-4.35(m 3H) 4.05-4.00(two d 1H) 3.73(d 1H) 3.05-2.82(m 2H) 2.42(m 1H) 1.10(m 6H)

[666] Mass M+H 416

[667]

[668] Preparation method of Examples 43-48

[669] The compounds obtained by reacting an aromatic aldehyde (Bioorg Med Chem Lett 1996 6 p2173 J Org Chem 1978 43 1372) and ethyl 2 ethyl acrylate (or ethyl 2 isopropyl acrylate) according to the same procedure as Preparations 1 2 and 3 (or Preparations 1 and 16) were purified if necessary by prep HPLC using chiral OD column to isolate active chiral isomers. The isolated active chiral isomers or inactive chiral isomers were hydrolyzed according to the same procedure as Preparation 4 and the resulting compounds were reacted with *t* butyl 3-amino-5-fluoro-4-hydroxypentanoate according to the same procedure as Examples 1 and 2 to give the title compounds of following Examples 43-48

[670]

[671] Example 43

[672] 3-([(5-Ethyl-3-(2-isopropylphenyl)-4,5-dihydro-5-isoxazolyl)carbonyl]amino)-5-fluoro-4-oxopentanoic acid (Iaa1)

[673]

[674] ¹H NMR(500MHz DMSO d₆) δ 8.53(bs 1H) 7.40(m 2H) 7.32(m 1H) 7.25(m 1H) 5.02(bs 2H) 4.72(m 1H) 3.60-3.54(two d 1H) 3.46-3.43(two d, 1H) 3.40(m 1H) 2.78-2.60(two m 2H) 1.95(m 1H) 1.85(m 1H) 1.14(s 6H) 0.88(m 3H)

[675] Mass M+H 393

[676]

[677] Example 44

[678] 3-([(3-[3-(*tert*-Butyl)phenyl]-5-ethyl-4,5-dihydro-5-isoxazolyl)carbonyl]amino)-5-fluoro-4-oxopentanoic acid (Iaa2)

[679]

[680] ¹H NMR(400MHz DMSO d₆) δ 8.56(dd 1H) 7.67(s 1H) 7.48(m 1H) 7.38(d 2H) 5.24-5.12(q 1H) 4.76-4.69(m 1H) 4.59-4.26(m 1H) 3.68(m 1H) 3.49-3.43(two d 1H) 2.96-2.56(two m 2H) 1.98(m 1H) 1.85(m 1H) 1.29(s 9H) 0.89(d 3H)

[681] Mass M+H 407

[682]

[683] Example 45

[684] 3-([(3-[4-(*tert*-Butyl)phenyl]-5-ethyl-4,5-dihydro-5-isoxazolyl)carbonyl]amino)-5-fluoro-4-oxopentanoic acid (Iaa3)

[685]

[686] ^1H NMR(500MHz DMSO d_6) δ 8.52(bs 1H) 7.58(m 2H) 7.43(dd 2H) 5.10(bs 2H) 4.71 4.65(m 1H) 3.63 3.59(two d 1H) 3.40-3.35(two d 1H) 2.86 2.60(two m 2H) 1.94(m 1H) 1.82(m 1H) 1.24(s 9H) 0.86(m 3H)

[687] Mass $M+H$ 407

[688]

[689] Example 46

[690] 5 Fluoro 3-(((5*R*)-isopropyl 3-(2-isopropylphenyl)-4,5-dihydro-5-isoxazolyl)carbonyl)amino-4-oxopentanoic acid (Iaa4)

[691]

[692] ^1H NMR(500MHz CDCl_3) δ 7.60 7.53(m 1H) 7.41(m 2H) 7.27 7.23(m 2H) 5.20 4.91(m 1H) 4.71(m 1H) 4.54-4.42(m 1H) 3.69 3.64(two d 1H) 3.45 3.38(m 2H) 3.12 2.77(m 2H) 2.32(m 1H) 1.22(d 6H) 1.05(d 6H)

[693] Mass $M+H$ 407

[694]

[695] Example 47

[696] 3-(((5*R*)-3-(3-(*tert*-butyl)phenyl)-5-isopropyl-4,5-dihydro-5-isoxazolyl)carbonyl)amino-5-fluoro-4-oxopentanoic acid (Iaa5)

[697]

[698] ^1H NMR(500MHz CDCl_3) δ 7.69(s 1H) 7.48(d 1H) 7.41(d 1H) 7.35(t 1H) 4.74 4.50(m 3H) 3.69(d 1H) 3.40(d 1H) 3.06-2.77(m 2H) 2.32(m 1H) 1.33(s 9H) 1.04(m 6H)

[699] Mass $M+H$ 421

[700]

[701] Example 48

[702] 3-(((3-(1,1-biphenyl)-3-yl-5-isopropyl-4,5-dihydro-5-isoxazolyl)carbonyl)amino)-5-fluoro-4-oxopentanoic acid (Iaa6)

[703] 3-Biphenylcarboxaldehyde (see Synthesis 2003 337) was used as a starting material to give the title compound

[704]

[705] ^1H NMR(500MHz DMSO d_6) δ 8.42(bs 1H) 7.87(d 1H) 7.73 7.69(m 4H) 7.52(m 1H) 7.45(m 2H) 7.38(m 1H) 5.03(bs 2H) 4.63(m 1H) 3.73 3.57(m 2H) 2.67 2.63(two m 2H) 2.22(m 1H) 0.89(m 6H)

[706] Mass $M+H$ 441

68

[707]

[708] Preparation method of Examples 49-59

[709] 4-Substituted pyridine 2-carboxaldehydes were obtained by a method known in US 6043248 JOC 1982 47 p4315 and they were reacted according to the same procedure as Preparations 1-2 and 3 (or Preparations 1 and 16). The resulting compounds were purified, if necessary, by prep HPLC using chiral OD column to isolate active chiral isomers. The isolated active chiral isomers or inactive chiral isomers were hydrolyzed according to the same procedure as Preparation 4 and the resulting compounds were reacted with *t*-butyl 3-amino-5-fluoro-4-hydroxypentanoate according to the same procedure as Examples 1 and 2 to give the title compounds of following Examples 49-59.

[710]

[711] Example 49

[712] 3-([5-ethyl-3-(2-pyridinyl)-4,5-dihydro-5-isoxazolyl]carbonyl)amino-5-fluoro-4-oxopentanoic acid (Iaa7)

[713]

[714] ¹H NMR(500MHz, DMSO-d₆) δ 12.41(bs, 1H), 8.61(s, 1H), 8.59-8.53(dd, 1H), 7.87(m, 1H), 7.44(m, 1H), 5.19-5.04(two d, 1H), 4.70(m, 1H), 4.45-4.27(m, 1H), 3.67(m, 1H), 3.42(m, 1H), 2.95-2.53(two m, 2H), 1.96(m, 1H), 1.86(m, 1H), 0.85(m, 3H).

[715] Mass M+H 352

[716]

[717] Example 50

[718] 3-([(3-[4-(*tert*-butyl)-2-pyridinyl]5-ethyl-4,5-dihydro-5-isoxazolyl)carbonyl)amino]-5-fluoro-4-oxopentanoic acid (Iaa8)

[719]

[720] ¹H NMR(400MHz, CDCl₃) δ 8.58(d, 1H), 7.90(s, 1H), 7.65(bs, 1H), 7.45-7.39(m, 1H), 4.98-4.68(m, 3H), 3.92 & 3.88(two d, 1H), 3.52 & 3.47(two d, 1H), 3.05-2.86(m, 2H), 2.23-2.18(m, 1H), 2.08-2.00(m, 1H), 1.38(s, 9H), 1.05(t, 3H).

[721] Mass M+H 408

[722]

[723] Example 51

[724] 3-([(5*R*)-3-[4-(*tert*-butyl)-2-pyridinyl]5-isopropyl-4,5-dihydro-5-isoxazolyl]carbonyl)amino]-5-fluoro-4-oxopentanoic

89
69

acid (Iaa9)

[725]

[726] ^1H NMR(400MHz CDCl_3) δ 8.58(d 1H) 7.88(d 1H) 7.61(bs 1H) 7.43(m 1H)
4.84(m 1H) 4.60(bs 2H) 3.89 3.82(two d 1H) 3.60-3.55(two d 1H) 3.04 2.86(m
2H) 2.38(m 1H) 1.38(s 9H) 1.07(m 6H)

[727] Mass M+H 422

[728]

[729] Example 52

[730] 3-([5 Ethyl 3-(4-isobutyl 2 pyridinyl)-4,5 dihydro 5 isoxazolyl]
carbonyl)amino) 5 fluoro 4 oxopentanoic acid (Iaa10)

[731]

[732] ^1H NMR(500MHz $\text{DMSO}-d_6$) δ 8.58 8.52(dd 1H) 8.49(s 1H) 7.68(s 1H)
7.27(s 1H) 5.19 5.04(m 1H) 4.69(m 1H) 4.46-4.29(m 1H) 3.68(m 1H)
3.41 3.37(dd 1H) 2.93 2.46(m 4H) 1.95 1.85(two m 3H) 0.86-0.82(m 9H)

[733] Mass M+H 408

[734]

[735] Example 53

[736] 3-([3 (4 Acetyl 2 pyridinyl) 5 ethyl 4,5 dihydro-5 isoxazolyl]
carbonyl)amino) 5 fluoro 4 oxopentanoic acid (Iaa11)

[737]

[738] ^1H NMR(500MHz CDCl_3) δ 8.79(d 1H) 8.35(s 1H) 7.76(d 1H) 7.46(bs 1H)
4.84 4.40(m 3H) 3.90 3.85(two d 1H) 3.51 3.46(two d 1H) 3.04 2.84(m 2H)
2.65(s 3H) HHHkdkdk2 1.6(m 1H) 2.02(m 1H) 1.03(m 3H)

[739] Mass M+H 394

[740]

[741] Example 54

[742] 3-([3 (4 Cyclopropyl 2 pyridinyl) 5 ethyl 4,5 dihydro 5 isoxazolyl]
carbonyl)amino) 5 fluoro 4 oxopentanoic acid (Iaa12)

[743]

[744] ^1H NMR(500MHz $\text{DMSO}-d_6$) δ 12.39(bs 1H) 8.41(t, 1H) 7.56(d 1H) 7.12(m
1H) 5.19 5.04(m 1H) 4.72-4.66(m 1H) 4.46-4.27(m 1H) 3.69 3.63(m 1H)
3.39 3.35(two d 1H) 2.80 2.74(m 1H) 2.63 2.52(m 1H) 2.00-1.80(m 3H) 1.06(m
2H) 0.86 0.80(m 5H)

[745] Mass M+H 392

[746]

[747] Example 55

[748] 3 ([3 (4 Cyclopentyl 2 pyridinyl) 5 ethyl 4,5 dihydro 5 isoxazolyl] carbonyl)amino) 5 fluoro 4 oxopentanoic acid (Iaa13)

[749]

[750] ^1H NMR(500MHz CDCl_3) δ 8.50(d 1H) 7.67(m 2H) 7.26(m 1H) 4.88 4.82(m 1H) 4.65(bs 2H) 3.88 3.81(two d 1H) 3.45 3.41(two d 1H) 3.05(m 1H) 2.96 2.80(m 2H) 2.20 2.12(m 3H) 2.02 1.96(m 1H) 1.83(m 2H) 1.72(m 2H) 1.60(m 2H) 1.01(t, 3H)

[751] Mass $\text{M}+\text{H}$ 420

[752]

[753] Example 56

[754] 3 ([[(5*R*) 3 (4-cyclopentyl 2 pyridinyl) 5 isopropyl-4,5 dihydro-5 isoxazolyl] carbonyl)amino) 5 fluoro 4 oxopentanoic acid (Iaa14)

[755]

[756] ^1H NMR(400MHz CDCl_3) δ 8.58(m 1H) 7.74(d 1H) 7.63(bs 1H) 7.38 7.32(dd 1H) 4.88 4.81(m 1H) 4.53(bs 2H) 3.87 3.79(two d 1H) 3.56 3.53(two d 1H) 3.12 3.04(m 1H) 3.02 2.85(m 2H) 2.38(m 1H) 2.16(m 2H) 1.88(m 2H) 1.78(m 2H) 1.65(m 2H) 1.07(m 6H)

[757] Mass $\text{M}+\text{H}$ 434

[758]

[759] Example 57

[760] 3-([3-(4 Cyclohexyl 2 pyridinyl) 5 ethyl 4,5 dihydro 5 isoxazolyl] carbonyl)amino) 5 fluoro 4 oxopentanoic acid (Iaa15)

[761]

[762] ^1H NMR(400MHz CDCl_3) δ 8.61(m 1H) 7.75(d 1H) 7.64(bs 1H) 7.39 7.33(dd 1H) 4.86-4.53(two m 3H) 3.87(t, 1H) 3.50 3.45(dd 1H) 3.05 2.85(two m 2H) 2.63(m 1H) 2.22(m 1H) 2.03(m 1H) 1.93 1.80(two m 5H) 1.44(m 5H) 1.05(t, 3H)

[763] Mass $\text{M}+\text{H}$ 434

[764]

[765] Example 58

[766] 3 ([5 Ethyl 3 (5,6,7,8 tetrahydro 1 isoquinolinyl) 4,5-dihydro 5 isoxazolyl] carbonyl)amino) 5 fluoro 4 oxopentanoic acid (Iaa16)

[767]

[768] ^1H NMR(500MHz $\text{DMSO}-d_6$) δ 8.60 8.53(dd 1H) 8.30(d 1H) 7.15(d 1H)

5.20 5.05(m 1H) 4.74-4.66(m 1H) 4.45-4.25(m 1H) 3.75 3.68(m 1H)
3.47 3.41(m 1H) 2.94 2.88(m 2H) 2.80 2.72(m 3H) 2.62 2.53(m 1H)
1.99 1.93(m 1H) 1.88 1.80(m 1H) 1.71 1.69(m 4H) 0.88-0.84(m 3H)

[769] Mass M+H 406

[770]

[771] Example 59

[772] 5-Fluoro 3-(((5-isopropyl 3-(4-phenyl-2-pyridinyl)-4,5-dihydro-5-isoxazolyl)carbonyl)amino)-4-oxopentanoic acid (Iaa17)

[773]

[774] ¹H NMR(400MHz CDCl₃) δ 8.68(d, 1H) 8.14(s 1H) 7.68(m 1H) 7.58(m 1H)
7.54-7.43(m 5H) 4.86 4.60(m 3H) 3.92 3.87(two d 1H) 3.62(d 1H) 3.09 2.86(m
2H) 2.39(m 1H) 1.11 1.06(m 6H)

[775] Mass M+H 442

[776]

[777] Preparation method of Examples 60-63

[778] (2S)-4-(tert-butoxy)-2-(((5R)-5-isopropyl-3-(1-isoquinolyl)-4,5-dihydro-5-isoxazolyl)carbonyl)amino)-4-oxobutanoic acid [obtained by coupling reaction of Compound (VII-f) with Asp(O-t-Bu)-OMe and hydrolysis] was reacted according to the same procedure as Preparation 5 to give bromomethyl ketone derivative (tert-butyl (3S)-5-bromo-3-(((5R)-5-isopropyl-3-(1-isoquinolyl)-4,5-dihydro-5-isoxazolyl)carbonyl)amino)-4-oxopentanoate). This bromomethyl ketone derivative was reacted with diphenylphosphinic acid in KF/DMF (see Preparation 5) to give diphenylphosphoryloxymethyl ketone derivative which was then reacted according to the same procedure as Example 2 to give the title compound (Compound of Example 60).

[779]

[780] The compounds of following Examples 61-63 were obtained from 1-phenyl-3-(trifluoromethyl)-1H-pyrazol-5-yl 3-benzyl-4-hydroxy-2-(5H)-furanone or isobutyric acid according to the same procedure as above.

[781]

[782] Example 60

[783] (3S)-5-[(diphenylphosphoryl)oxy]-3-(((5R)-5-isopropyl 3-(1-isoquinolyl)-4,5-dihydro-5-isoxazolyl)carbonyl)amino)-4-oxopentanoic acid (Iaa18)

[784]

[785] ¹H NMR(500MHz DMSO-d₆) δ 8.92(m 1H) 8.58(m 1H) 8.05(m 1H) 7.94(m

1H) 7.81(m 1H) 7.75-7.72(m 3H) 7.57(m 3H) 7.49(m 4H) 7.35(m 2H)
4.90-4.65(two m 3H) 3.79-3.75(two d 1H) 3.69-3.67(two d 1H) 2.65(two m 2H)
2.22(m 1H) 0.84(m 6H)

[786] Mass M+H 614

[787]

[788] Example 61

[789] (3S) 3-(((5R) 5-isopropyl 3-(1-isoquinoliny)-4,5-dihydro-5-isoxazolyl]
carbonyl)amino)-4-oxo-5-[[1-phenyl-3-(trifluoromethyl)-1H-pyrazol-5-yl]
oxy]pentanoic acid (Iaa19)

[790]

[791] ¹H NMR(500MHz DMSO d₆) δ 8.95(m 1H) 8.83(d 1H) 8.57(m 1H) 8.03(d
1H) 7.92(d 1H) 7.80(m 1H) 7.74(m 1H) 7.65(d 1H) 7.57(m 1H) 7.51-7.34(m
3H) 6.27(s 1H) 5.29-5.15(m 2H) 4.76(m 1H) 3.92-3.88(m 1H) 3.75-3.69(m 1H)
2.84-2.60(m 2H) 2.33(m 1H) 0.96(m 6H)

[792] Mass M+H 624

[793]

[794] Example 62

[795] (3S) 5-[(4-benzyl-5-oxo-2,5-dihydro-3-furanyl)oxy]-3-(((5R
) 5-isopropyl 3-(1-isoquinoliny)-4,5-dihydro-5-isoxazolyl]carbonyl)amino)-4-oxo
pentanoic acid (Iaa20)

[796]

[797] ¹H NMR(500MHz DMSO d₆) δ 8.97(t 1H) 8.58(d 1H) 8.04(d 1H) 7.92(d
1H) 7.81(m 1H) 7.73(m 1H) 7.23-7.07(m 6H) 7.51(m 1H) 4.79-4.65(m 3H)
3.92-3.87(two d 1H) 3.74-3.68(two d 1H) 2.82-2.58(m 2H) 2.31(m 1H) 0.95(m
6H)

[798] Mass M+H 586

[799]

[800] Example 63

[801] (3S) 5-(isobutyryloxy)-3-(((5R
) 5-isopropyl 3-(1-isoquinoliny)-4,5-dihydro-5-isoxazolyl]carbonyl)amino)-4-oxo
pentanoic acid (Iaa21)

[802]

[803] ¹H NMR(500MHz DMSO d₆) δ 12.39(bs 1H) 8.96(t, 1H) 8.73(m 1H) 8.58(dd
1H) 8.04(d 1H) 7.92(d 1H) 7.81(t 1H) 7.73(m 1H) 4.78(m 2H) 4.68(m 1H)
3.87(t, 1H) 3.73-3.68(two d 1H) 2.79-2.60(two m 2H) 2.56(m 1H) 2.31(m 1H)

1.05(d, 3H) 0.95(m, 9H)

[804] Mass M+H 484

[805]

[806] Example 64

[807] (3S) 3 (((5R)-5-isopropyl-3-(1-isoquinolinyl)-4,5-dihydro-5-isoxazolyl)carbonyl)amino-4-oxo-5-hexenoic acid (Iaa22)

[808] Weinreb amide derivative of (2S)-4-(*tert*-butoxy)-2-(((5R)-5-isopropyl-3-(1-isoquinolinyl)-4,5-dihydro-5-isoxazolyl)carbonyl)amino-4-oxobutanoic acid (condensed derivative with N,O-dimethylhydroxylamine) and vinyl magnesium bromide were reacted and the resulting compound was reacted according to the same procedure as Example 2 to give the title compound

[809]

[810] ¹H NMR(400MHz, DMSO-d₆) δ 12.27(bs, 1H) 8.95(t, 1H) 8.74-8.67(two d, 1H) 8.58(m, 1H) 8.04(d, 1H) 7.92(d, 1H) 7.83-7.72(m, 2H) 6.47(m, 1H) 6.22-6.11(two dd, 1H) 5.71-5.62(two dd, 1H) 4.77(m, 1H) 3.90-3.79(m, 1H) 3.72-3.64(m, 1H) 2.82(m, 1H) 2.62-2.49(m, 1H) 2.30(m, 1H) 0.94(m, 6H)

[811] Mass M+H 410

[812]

[813] Preparation 22

[814] *t*-Butyl (3S)-3-amino-4-hydroxy-5-(2-pyridinyloxy)pentanoate (VIII)

[815] The bromomethyl ketone derivative X (3.2 g, 7.93 mmol) an intermediate in Preparation 5 was dissolved in benzene (30 mL). Ag₂CO₃ (2.62 g, 1.2 Eq) and 2-hydroxypyridine (0.93 g, 1.2 Eq) were added and the mixture was stirred under reflux at 80°C for 3 days. The reaction mixture was filtered through Celite, concentrated under reduced pressure and purified by column chromatography to give 2-pyridinyloxymethyl ketone derivative (XI_f) (466 mg, Yield 14%)

[816]

[817] 2-Pyridinyloxymethyl ketone derivative (XI_f) (227 mg, 0.548 mmol) thus obtained was dissolved in a solvent mixture of tetrahydrofuran/methanol (3:2 v/v) (10 mL). NaBH₄ (43 mg, 2.0 Eq) was added at 0°C and the mixture was stirred for 30 minutes at room temperature. The reaction was stopped by saturated ammonium chloride solution and the reaction solution was concentrated under reduced pressure. The residue was extracted with ethyl acetate, washed with water and aqueous sodium chloride solution, dried (anhydrous Na₂SO₄) and concentrated under reduced pressure to give Compound (XIIf) (230 mg) where the ketone group was reduced to hydroxyl

74

group

[818]

[819] The benzyloxycarbonyl group of the compound prepared above was removed (Pd/C) under hydrogen balloon for 40 minutes to give the title compound (155 mg 99%)

[820]

[821] Preparation method of Examples 65-66

[822] Compound VIIf (or VIIu) and VIIIf were reacted according to the same procedure as Examples 1 and 2 to give the title compounds of Examples 65-66. Here VIIu represents 5-ethyl-3-(2-isopropylphenyl)-4,5-dihydro-5-isoxazolecarboxylic acid

[823]

[824] Example 65

[825] (3*S*)-3-(((5*R*)-5-isopropyl-3-(1-isoquinolinyl)-4,5-dihydro-5-isoxazolyl]carbonyl)amino)-4-oxo-5-(2-pyridinyloxy)pentanoic acid (Iaa23)

[826]

[827] ¹H NMR(500MHz MeOH d₄) δ 9.04(d, 1H), 8.50(d, 1H), 7.95(d, 1H), 7.81(d, 1H), 7.77(t, 1H), 7.69(t, 1H), 7.59(m, 1H), 6.85-6.80(m, 2H), 6.67(bs, 1H), 5.07(bs, 1H), 4.95(t, 1H), 4.84(m, 1H), 3.94-3.79(Abq, 2H), 2.92-2.80(m, 2H), 2.39(m, 1H), 1.09(m, 6H)

[828] Mass M+H 491

[829]

[830] Example 66

[831] (3*S*)-3-(((5-ethyl-3-(2-isopropylphenyl)-4,5-dihydro-5-isoxazolyl]carbonyl)amino)-4-oxo-5-(2-pyridinyloxy)pentanoic acid (Iaa24)

[832]

[833] ¹H NMR(500MHz DMSO d₆) δ 8.71(bs, 1H), 8.02-7.94(two bs, 1H), 7.71-7.64(m, 1H), 7.42-7.18(m, 4H), 6.96-6.90(two t, 1H), 6.85-6.80(two d, 1H), 4.99(bs, 2H), 4.86-4.78(m, 1H), 3.58(two d, 1H), 3.48(two d, 1H), 3.36(m, 1H), 2.81-2.61(m, 2H), 2.05-1.80(two m, 2H), 1.14-1.03(m, 6H), 0.93-0.88(m, 3H)

[834] Mass M+H 468.21

[835]

[836] Example 67

[837] 2-(((3*S*)-4-carboxy-3-(((5*R*)-5-isopropyl-3-(1-isoquinolinyl)-4,5-dihydro-5-isoxazolyl]carbonyl)amino)-2-oxobutyl]oxy)-1-methylpyridinium trifluoromethanesulfonate (Iaa25)

[838] The intermediate *t*-butyl ((3*S*) 3-(((5*R*) 5-isopropyl-3-(1-isoquinolyl)-4,5-dihydro-5-isoxazolyl]carbonyl)amino)-4-oxo-5-(2-pyridinyloxy)pentanoate (49 mg, 90 μmol) obtained after the Dess-Martin oxidation reaction in Example 65 was dissolved in dichloromethane (2 mL), methyl trifluoromethanesulfonate (1.1 Eq, 10.1 μL) was added, and the mixture was stirred for one day at room temperature. After concentration under reduced pressure, the residue was subjected to the same procedure as Example 2 to give the title compound (60 mg).

[839]

[840] ¹H NMR(500MHz, DMSO-*d*₆) δ 9.00 (m, 2H), 8.76 (m, 2H), 8.42 (m, 1H), 8.04 (m, 1H), 7.93 (m, 1H), 7.80 (m, 1H), 7.75 (m, 1H), 7.54 (m, 1H), 5.77 (m, 2H), 4.85 (m, 1H), 4.00 (s, 3H), 3.94-3.69 (m, 2H), 2.87 (m, 2H), 2.33 (m, 1H), 0.98 & 0.94 (two d, 6H).

[841] Mass: M+ 505.20

[842]

[843] Example 68

[844] 2-(((3*S*) 4-carboxy-3-(((5-ethyl-3-(2-isopropylphenyl)-4,5-dihydro-5-isoxazolyl]carbonyl)amino)-2-oxobutyl]oxy)-1-methylpyridinium trifluoromethanesulfonate (Iaa26)

[845] The intermediate *t*-butyl (3*S*) 3-(((5-ethyl-3-(2-isopropylphenyl)-4,5-dihydro-5-isoxazolyl]carbonyl)amino)-4-oxo-5-(2-pyridinyloxy)pentanoate (55 mg, 0.105 mmol) obtained after the Dess-Martin oxidation reaction in Example 66 was dissolved in dichloromethane (2 mL), methyl trifluoromethanesulfonate (1.1 Eq, 13 μL) was added, and the mixture was stirred for one day at room temperature. After concentration under reduced pressure, the residue was subjected to the same procedure as Example 2 to give the title compound (59 mg, 94%).

[846]

[847] ¹H NMR(500MHz, DMSO-*d*₆) δ 8.80 (two d, 1H), 8.65 (m, 1H), 8.45 (m, 1H), 7.56 (m, 2H), 7.51 (m, 2H), 7.43 (m, 3H), 7.24-7.12 (m, 1H), 5.72 (m, 2H), 4.91 (m, 1H), 4.01 & 3.99 (two s, 3H), 3.64 (two d, 1H), 3.48 (two d, 1H), 3.42 (m, 1H), 2.90-2.62 (m, 2H), 2.05 (m, 2H), 1.80 (two m, 2H), 1.15 (m, 6H), 0.93-0.88 (m, 3H).

[848] Mass: M+ 482.17

[849]

[850] Preparation method of Examples 69-70

[851] Oxime derivative of 5-chloro-1-methyl-1*H*-indol-2-aldehyde or 1,5-dimethyl-1*H*-

26
76

indol-2 aldehyde was reacted with t butyl 3 amino 5 fluoro-4 hydroxypentanoate according to the same procedure as Preparations 1 17 4 and Examples 1 2 to give the title compounds of Examples 69 70

[852]

[853] Example 69

[854] 3 ([[3 (5-chloro 1 methyl 1*H* indol 2 yl) 5 isopropyl 4 5 dihydro 5 isoxazolyl] carbonyl]amino) 5 fluoro 4 oxopentanoic acid (Iaa27)

[855]

[856] ¹H NMR(500MHz CDCl₃) δ 7.59(s 1H) 7.46 7.39(two d 1H) 7.30 7.23(m 3H) 5.01(m 1H) 4.75 4.46(m 2H) 4.02(d 1H) 3.95(s 3H) 3.71(d 1H) 2.95(m 1H) 2.77(m 1H) 2.35(m 1H) 1.04(m 6H)

[857] Mass M+H 452

[858]

[859] Example 70

[860] 3 ([[3 (1,5 dimethyl 1*H* indol 2 yl) 5 isopropyl 4 5 dihydro 5 isoxazolyl] carbonyl]amino) 5 fluoro 4 oxopentanoic acid) (Iaa28)

[861]

[862] ¹H NMR(500MHz CDCl₃) δ 7.48(bs 1H) 7.39(d 1H) 7.23 7.14(m 3H) 4.76(m 1H) 4.70 4.50(m 2H) 4.07-4.02(two d 1H) 3.99 3.94 & 3.93(three s 3H) 3.75 3.48(m 1H) 2.94-2.82(two m 1H) 2.46 2.43(two s 3H) 2.34(m 1H) 1.05(m 6H)

[863] Mass M+H 432

[864]

[865] Preparation 23

[866] Resolution of (5*R*) 5 isopropyl 3 (1 isoquinoliny)-4,5 dihydro-5 isoxazole carboxylic acid

[867] 5 Isopropyl-3 (1 isoquinoliny) 4 5 dihydro 5 isoxazolecarboxylic acid was dissolved in acetone (190 ml) by heating at 60 C and (S) α methyl-benzylamine (14.5 ml 112 mmol) was added. The reaction mixture was cooled to room temperature and stirred for 4 hours. The resulting precipitate was filtered and washed three times by acetone (40 ml)

[868]

[869] Thus obtained (S) α methyl-benzylamine salt of (5*R*) 5 isopropyl-3 (1 isoquinoliny) 4 5 dihydro 5 isoxazolecarboxylic acid was dissolved in the mixture (150 ml) of acetone and water (4:1) by heating at 90 C

cooled to room temperature and stirred for 3 hours. The resulting precipitate was filtered and washed by acetone (40 mL) three times to give pure (S) a methyl-benzylamine salt of (5R) 5 isopropyl-3 (1 isoquinolyl)-4,5-dihydro-5 isoxazolecarboxylic acid (12.8g, 24.3%, 99.8% ee).

[870]

[871]

The optical purity of (5R) 5 isopropyl-3 (1 isoquinolyl)-4,5-dihydro-5 isoxazolecarboxylic acid was estimated by using ChiralCel OD column (4.6 x 250 mm, 5 mm). The mixture of n-hexane/isopropanol/trifluoroacetic acid (92/8/0.1) was used as the mobile phase at the flow rate of 1 mL/min. The column temperature was 40 °C and the detection wavelength was 225 nm. The two optical isomers were observed at the retention times of 7.8 min (R isomer) and 21.1 min (S isomer) respectively.

[872]

[873]

Example 71

[874]

Resolution of Compound (Iu 1)

[875]

1) Isolation of the SEED compound

[876]

The two diastereomers of Example 16 were separated by using preparative liquid chromatography silica column (diameter 40 mm, DYNAMAX 100A). The mixture of n-hexane/ethanol/trifluoroacetic acid (4000/32/2) was used as the mobile phase at the flow rate of 50 mL/min and the desired diastereomer was collected with the ratio of 99:1 during the retention time of 62~66 min at the detection wavelength of 227 nm (the two diastereomers were broadly eluted with the continuously changed ratio until 86 min). Thus obtained diastereomer of the 99:1 ratio was deprotected and used as the seed for the resolution.

[877]

[878]

The optical purity was estimated by using Atlantis C₁₈ column (4.6 x 250 mm, 5 mm). The mixture of acetonitrile/water/trifluoroacetic acid was used as the mobile phase at the flow rate of 1 mL/min according to the following gradient.

[879]

[880]

t = 0 min 0 100 0 1

[881]

3 min 20 80 0 1

[882]

50 min 100 0 0 1

[883]

[884]

Under the detection wavelength of 227 nm, the two optical isomers were observed.

28

at the retention times of 36.6 min (3R, 5R isomer) and 37.1 min (3S, 5R isomer) respectively

[885]

[886] (3S, 5R isomer) *tert* butyl (3S) 5-fluoro-3-(((5R)-5-isopropyl-3-(1-isoquinolinyl)-4,5-dihydro-5-isoxazolyl)carbonyl)amino-4-oxopentanoate

[887]

[888] ¹H NMR(500MHz, CDCl₃) δ 9.13(d, 1H), 8.55(d, 1H), 7.85(d, 1H), 7.78, 7.65(m, 4H), 5.22, 5.02(two m, 2H), 4.90(m, 1H), 4.02(d, 1H), 3.80(d, 1H), 2.92, 2.88(dd, 1H), 2.79, 2.75(dd, 1H), 2.41(m, 1H), 1.34(s, 9H), 1.09(m, 6H)

[889] Mass: M+H 472

[890]

[891] (3R, 5R isomer) *tert* butyl (3R) 5-fluoro-3-(((5R)-5-isopropyl-3-(1-isoquinolinyl)-4,5-dihydro-5-isoxazolyl)carbonyl)amino-4-oxopentanoate

[892]

[893] ¹H NMR(400MHz, CDCl₃) δ 9.14(d, 1H), 8.56(d, 1H), 7.87(d, 1H), 7.77, 7.64(m, 4H), 5.25, 5.00(two q, 2H), 4.90(m, 1H), 4.03(d, 1H), 3.82(d, 1H), 2.93(dd, 1H), 2.77(dd, 1H), 2.42(m, 1H), 1.35(s, 9H), 1.11(m, 6H)

[894] Mass: M+H 472

[895]

[896] (3S) 5-fluoro-3-(((5R)-5-isopropyl-3-(1-isoquinolinyl)-4,5-dihydro-5-isoxazolyl)carbonyl)amino-4-oxopentanoic acid (In 1)

[897]

[898] ¹H NMR(400MHz, CDCl₃) δ 9.07(d, 1H), 8.57(d, 1H), 7.89(d, 1H), 7.78, 7.69(m, 3H), 7.69(d, 1H), 4.88, 4.79(m, 2H), 4.67(bs, 1H), 4.07(d, 1H), 3.81(d, 1H), 3.08, 2.93(m, 1H), 2.91, 2.82(m, 1H), 2.43(m, 1H), 1.12(m, 6H)

[899] Mass: M+H 416

[900]

[901] (3R) 5-fluoro-3-(((5R)-5-isopropyl-3-(1-isoquinolinyl)-4,5-dihydro-5-isoxazolyl)carbonyl)amino-4-oxopentanoic acid (In 2)

[902]

[903] ¹H NMR(500MHz, CDCl₃) δ 9.07(d, 1H), 8.55(d, 1H), 7.87(d, 1H), 7.75, 7.68(m

3H) 7.52(bs, 1H), 5.20-4.35(m, 3H), 4.02(d, 1H), 3.80(d, 1H), 3.13-2.90(m, 2H), 2.39(m, 1H), 1.08(m, 6H)

[904] Mass M+H 416

[905]

[906] 2) Recrystallization

[907] (3*S*) 5-fluoro-3-(((5*R*

) 5-isopropyl-3-(1-isoquinolyl)-4,5-dihydro-5-isoxazolyl]carbonyl)amino)-4-oxopentanoic acid (Iu 1)

[908] Crude *t*-butyl 5-fluoro-3-(((5*R*

) 5-isopropyl-3-(1-isoquinolyl)-4,5-dihydro-5-isoxazolyl]carbonyl)amino)-4-oxopentanoate (366 g) was dissolved in methylene chloride (1.9 kg) and cooled to 0 °C. Triethylsilane (235 g) and trifluoroacetic acid (1.88 kg) were added and stirred for one hour at 0 °C. The reaction mixture was distilled under reduced pressure, redissolved in ethyl acetate (2.4 kg) and the pH was adjusted to 5.2 by adding 2*N* aqueous sodium hydroxide solution (3.1 L). The organic layer was separated and the aqueous layer was extracted once with ethyl acetate (2.4 kg). Combined organic layer was distilled under reduced pressure to remove the solvent, the resulting residue was dissolved in methyl *t*-butyl ether (530 g) and small amount of crystalline (3*S*) 5-fluoro-3-(((5*R*) 5-isopropyl-3-(1-isoquinolyl)-4,5-dihydro-5-isoxazolyl]carbonyl)amino)-4-oxopentanoic acid was added. After stirring for 16 hours at room temperature, resulting precipitate was filtered and washed with the 9:1 mixture of methyl *t*-butyl ether and *n*-hexane (210 mL).

[909]

[910] Thus obtained (3*S*) 5-fluoro-3-(((5*R*

) 5-isopropyl-3-(1-isoquinolyl)-4,5-dihydro-5-isoxazolyl]carbonyl)amino)-4-oxopentanoic acid was dissolved in ethyl acetate (240 mL) by heating at 50 °C. *n*-hexane (240 mL) was slowly added and gradually cooled to room temperature. After stirring for 24 hours at room temperature, the resulting precipitate was filtered and washed with the 1:1 mixture of ethyl acetate and *n*-hexane (30 mL) to give the title compound (Iu 1) 46.0 g (3*S*/3*R*=94/6.0). The optical purity was estimated using Luna column (4.6 x 250 mm, 5 μm, C₁₈). The mixture of acetonitrile/20 mM NH₄ OAc (pH 6) (30/70) was used as the mobile phase at the flow rate of 1 mL/min. Under the detection wavelength of 227 nm, the two optical isomers were observed at the retention times of 8.0 min (3*R* isomer) and 9.0 min (3*S* isomer) respectively.

[911]

[912] Experiment 1

[913] Determination of the caspase inhibitory effect

[914] Caspase 1 and caspase 8 known as cysteine proteases in the form of $\alpha_1\beta_2$ were expressed purified and activated by modifying a method known in Thornberry N A et al *Nature* 1992 356 768 Thornberry N A. *Methods in Enzymology* 1994 244 615 Walker N P C et al *Cell* 1994 78 343 and caspase 9 was also purified by a similar method and the inhibitory activity against them was tested Briefly describing p10 and p20 subunits (Thornberry N A et al *Nature* 1992 356 768) were expressed in *E.coli* and purified by nickel column and anionic exchange chromatography to give caspase 1 caspase 8 and caspase 9 The fluorescent substrate AcYVAD AFC for thus obtained caspase 1 AcDEVD AFC for caspase 8 and AcLEHD AFC for caspase 9 were used for determining specific activity of the synthesized inhibitors The enzyme reaction was carried out at 25 °C with various concentrations of the inhibitors in a buffer solution containing 50mM HEPES(pH 7.5) 10%(w/v) sucrose 0.1%(w/v) CHAPS 100mM NaCl 1mM EDTA and 10mM DTT in the presence of 50μM AcYVAD AFC for 10nM caspase 1 50μM AcDEVD-AFC for 2.1nM caspase 8 and 150μM AcLEHD AFC for 200nM caspase 9 The inhibitory constants K_i and K_{obs} of the inhibitors were determined by measuring the reaction velocity with the time lapse using a fluorescent spectrometer and by obtaining the initial rate constant K_i was calculated from the Lineweaver Burk Plot, and K_{obs} from the following Equation 1

[915]

[916] Equation 1

$$[917] K_{obs} = -\ln(1 - A/A_{\infty})/t$$

[918] in which

[919] A means cleavage rate (%) at time t, and

[920] A_{∞} means the maximum cleavage rate (%)

[921] Spectra MAX GeminiXS Fluorescent Spectrometer of Molecular Device Co was used at the excitation wavelength of 405nm and the emission wavelength of 505nm

[922]

[923] The *in vivo* inhibitory activity of the inhibitors was determined by subjecting Jurkat cell (ATCC TIB 152) to apoptosis using Fas antibody (Upstate Biotech 05 201) and by detecting the color change according to the WST-1 method known in Francoeur A M and Assaïan A (1996) *Biochemica* 3 19 25 to observe the amount of alive Jurkat cells when the cells were treated by the inhibitor Spectra MAX 340 Spectrometer of Molecular Device Co was used at the absorbance wavelength of 440nm

fragnelzan
S. Costa

[924]

[925]

Table 1

Com No	Caspase 1 $K_{obs}/[I] (M^{-1}min^{-1})$	Caspase 8 $K_{obs}/[I] (M^{-1}min^{-1})$	Caspase 9 $K_{obs}/[I] (M^{-1}min^{-1})$	Jurkat cell $IC_{50} (\mu M)$
Icc	1 9 E5	3 3 E4		22 5
Idd	3 1 E5	1 9 E5		4 25
Iee		1 8 E5		32 6
Iff		5 0 E5		1 2
Igg	2 7 E6	1 5 E6	3 2 E5	0 17
Iii	1 1 E6	1 3 E7	2 0 E5	0 1
Iii u		1 9 E5		0 71
Iii 1		2 3 E7		
Iii 2		4 7 E5		
Ijj		1 9 E5		4 7
Ikk		1 2 E5		1 1
Il		1 3 E5		39 2
Imm		1 6 E5		2 0
Inn		2 6 E5		6 5
Ioo		2 0 E4		50
Ipp	2 3 E6	1 7 E5		3 5
Iqq	3 3 E6	1 4 E5		37
Irr				No Activity
Iss				No Activity
Itt		4 3 E5		0 16
Iuu		2 9 E5		0 98
Ivv		1 5 E6		0 15
Iww		1 1 E6		1 9
Ixx		4 0 E4		26 5
Iyy		3 1 E5		31 2

Izz		4 2E5		1 25
Iaa1		1 8E5		0 33
Iaa2		3 2E5		0 56
Iaa3		1 4E5		2 65
Iaa4		5 0E5		0 67
Iaa5		3 0E5		0 3
Iaa6		2 0E5		2 45
Iaa7		4 4E4		2 27
Iaa8		4 5E5		0 70
Iaa9		2 3E5		1 24
Iaa10		1 5E5		1 02
Iaa11		6 4E4		31
Iaa12		1 9E5		0 70
Iaa13		3 1E5		0 35
Iaa14		4 1E5		0 79
Iaa15		4 3E5		0 72
Iaa16		6 2E5		0 73
Iaa17		1 8E5		1 14
Iaa18		5 2E5		1 5
Iaa19		1 6E4		No Activity
Iaa20		3 7E4		No Activity
Iaa21		No Activity		No Activity
Iaa22		No Activity		
Iaa23		2 9E4		No Activity
Iaa24		No Activity		
Iaa25		1 7E5		No Activity
Iaa26		3 1E4		No Activity
Iaa27		8 2E5		1 3
Iaa28		1 8E6		0 6

[926] * Compound III u is the (5S) form of Compound III

[927]

[928] **Experiment 2**

[929] **Therapeutic effect for LPS induced acute hepatitis in mouse**

[930] Step 1) Preparation of blood sample

[931] Female Balb/c mice (6 weeks Charles River Laboratory Osaka Japan) were kept under the conditions of 22°C 55% of relative humidity and light-darkness cycle of 12 hours. Food and water were supplied ad libitum. In pyrogen free saline were dissolved LPS (lipopolysaccharide) and D galactosamine in concentrations of 0.4 mg / ml and 280 mg / ml respectively and their 1:1 mixture was injected to mice in the amount of 5 ml / kg. Immediately after the injection of LPS and D galactosamine vehicle (a mixture of PEG400 ethanol Tween80 = 15 : 7.5 : 2.5 was diluted by five times with saline) wherein the test compound is dissolved or the vehicle alone was intraperitoneally injected into the mice. After 8 hours from the drug injection blood samples were obtained from their hearts.

[932]

[933] Step 2 Determination of the activity of plasma aminotransferase

[934] The plasma ALT activity was determined for the blood samples obtained in Step 1 using ALT assay kit (Asan Pharm Co. Seoul Korea) according to the manufacturer's instruction. As a result it appeared that the injection of LPS and D galactosamine steeply increases the ALT activity in plasma, and the test compounds inhibit the increased enzyme activity in a dose dependent manner. Based on these results ED₅₀ values of the test compounds were calculated using Prism software of GraphPad Co. to give 0.01-10 mg/kg.

[935]

[936] **Experiment 3**

[937] **Inhibitory effect against hepatic fibrosis in SD rats**

[938] Step 1) Induction of hepatic fibrosis and administration

[939] Male Sprague Dawley rats (6 weeks Korea Bionik) were kept under the conditions of 22°C 55% of relative humidity and light-darkness cycle of 12 hours. Food and water were supplied ad libitum. For the ligation of biliary duct, the rats were anesthetized by inhalation of 1% halothane. abdomen of the rats were cut open the distal and proximal biliary ducts were ligated, the part between the ligation sites were cut, 2 ml of saline was injected and sutured.

[940]

88

[941] Test compound (Iu) was orally administered in a dosage of 3 mg / kg or 10 mg / kg twice a day. That is, the compound was dissolved in a cosolvent (PEG400 : ethanol : Tween80 = 15 : 75 : 25) diluted with phosphate buffer (pH 7.4) by five times and administered. To the control group was administered the solution without the test compound. The administration was made for 1 week after 1 week from the ligation of biliary duct.

[942]

[943] Step 2. Preparation of tissue section and Sirius red staining

[944] After the administration, the rats were sacrificed. The livers were fixed by 10% neutral formalin and a paraffin section of 5 μ m thickness was prepared and stained by 0.1% Sirius red (Direct red 80, Sigma). The tissue section was investigated by an optical microscope to observe the collagen fibers stained in red, and the results are represented in Figure 1.

[945]

[946] Experiment 4

[947] Inhibitory effect against apoptosis during the bile stagnation in SD rats

[948] The test compound (Iu) was administered to the SD rats whose biliary ducts were ligated according to the procedure as Step 1 of Experiment 3. After 2 weeks from the operation, the rats were sacrificed. The livers were fixed by 10% neutral formalin and a paraffin section of 5 μ m thickness was prepared. TUNEL staining was carried out using ApopTag Peroxidase *In Situ* Apoptosis Detection kit (Chemicon) according to the manufacturer's instruction. More than 10 sites of the TUNEL stained liver tissue were photographed in 200 magnifications without any overlap, of which result was shown in Figure 2. The number of cells suffering apoptosis in each test group was counted and represented in the following Table 2. In the following table, the Sham operation means the case where the biliary duct was exposed but not ligated, and the BDL operation means the case where only the vehicle was administered after the ligation of biliary duct.

[949]

[950] Table 2

[951] Inhibitory effect of compound (Iu) against hepatic cell apoptosis during the bile stagnation

[952] (Unit: TUNEL positive cells / field)

85

Sham operation	BDL operation	BDL+Compound (Iii) 3mg/kg	BDL+Compound (Iii) 10mg/kg
0.76 ± 0.15	16.7 ± 2.75	4.12 ± 1.3	5.66 ± 1.34

[953]

[954] **Conclusion**

[955] The effective inhibition of apoptosis (75% inhibition) by Compound (Iii) was shown by TUNEL staining in a model established by the induction of hepatic fibrosis through the bile stagnation. In addition, the Sirius Red staining showed a severe fibrosis in the control group, but almost no fibrosis in the Compound (Iii) treated group. This result demonstrates the inhibitory effect of Compound (Iii) against hepatic fibrosis in rats, and so it is expected that Compound (Iii) can exhibit the pharmacological activity of suppressing liver cirrhosis by inhibiting the apoptosis of hepatic cells in clinical application. The application may be expanded not only to the hepatic cirrhosis by bile stagnation, but also to various hepatic diseases where hepatic fibrosis due to the apoptosis is included.

[956]

[957] **Experiment 5**

[958] **Antiphlogistic effect in rats**

[959] Male SD rats (6 weeks, Orient) were kept under the conditions of 22°C, 55% of relative humidity, and light/darkness cycle of 12 hours. Food and water were supplied ad libitum. Before the induction of edema, the foot volume of each rat was measured by plethysmometer. Before the induction of edema, vehicle (a mixture of PEG400, ethanol, Tween80 = 15:7.5:2.5) was diluted by ten times with phosphate buffer, wherein the test compound is dissolved or the vehicle alone was orally administered into the rats. Carrageenan (gamma) was dissolved in the concentration of 1% in saline and subcutaneously injected into the right rear foot of the rats in the dosage of 100 µl. After 3 hours, the right foot volume was measured again by plethysmometer. The effect of the test compound was shown by edema inhibition (%) (see Table 3). The edema inhibition (%) was calculated according to the following Equation 2.

[960]

[961] **Equation 2**

[962]
$$\text{Edema Inhibition (\%)} = 100 \times (\text{Average of the increased foot volume in the vehicle administered group} - \text{Increased foot volume in the test compound administered group}) / \text{Average of the increased foot volume in the vehicle administered group}$$

[963]

[964] Table3

[965] Edema inhibition effect of Compound (Iu)

Edema inhibition effect (%)		
Dosage (mg/kg)	Average	SEM
3	2.3	7.7
30	20.7	9.7
100	22.7	2.6

[966]

[967] Experiment 6

[968] Therapeutic effect for rheumatic arthritis in rats

[969] Female Lewis rats (7 weeks Charles River Japan) were kept under the conditions of 22°C 55% of relative humidity and light darkness cycle of 12 hours Food and water were supplied ad libitum Type II collagen (bovine) was dissolved in 0.05M acetic acid in a concentration of 2 mg/ ml at 4°C and the same amount of Complete Freund's adjuvant was added to emulsify the solution at 4°C 0.1 ml of this emulsified solution was subcutaneously injected into the rattail of the Lewis rats After 7 days the emulsified solution was injected again in the same manner From the date on which the second emulsified solution was injected vehicle (a mixture of PEG400 ethanol Tween80 = 15 : 7.5 : 2.5 was diluted by ten times with phosphate buffer) wherein the test compound is dissolved or the vehicle alone was orally administered into the rats every day On Day 14 from the first injection of the collagen containing emulsified solution the right rear foot volume was measured again by plethysmometer (see Table 4) The edema inhibition (%) was determined by the following Equation 3

[970]

[971] Equation 3

[972]
$$\text{Edema Inhibition (\%)} = 100 \times \frac{\text{Average of the increased foot volume in the vehicle administered group on Day 14} - \text{Increased foot volume in the test compound administered group on Day 14}}{\text{Average of the increased foot volume in the vehicle administered group on Day 14}}$$

[973]

[974] Further p-value was calculated by Student t test from the increased foot volume on

Day 14 to confirm the significance

[975]

[976] Table 4

[977] Foot edema inhibition effect

Dosage of Compound (Iu) (mg/kg)	Foot volume (ml)				Edema inhibition effect (%)	
	Day 0		Day 14		Day 14	
	Average	SEM	Average	SEM	Average	SEM
0	1.115	0.036	1.975	0.257		
10	1.134	0.032	1.394*	0.089	69.8	10.8

[978] * p value = 0.032

[979]

[980] In the foot edema test in rats, Compound (Iu) showed a dose dependent edema inhibition effect of about 2.21% and 23% at a dosage of 3.30 and 100 mg/kg respectively. In the model of rheumatic arthritis, the foot edema was decreased significantly (about 70% decrease) in the Compound (Iu) administered group on Day 14 when the negative control group showed the maximum edema. Therefore, it is considered that Compound (Iu) has an inhibitory effect against the progress of inflammation in an inflammatory disease model and so can treat the autoimmune inflammatory diseases.

[981]

[982] Experiment 7

[983] Effect comparison with the known compound

[984] Compound (Iu) according to the present invention and LB84068MP (Compound 68) known in PCT/KR00/01047 (WO 01/21600) were tested and the results are shown in the following Table 5.

[985]

[986] Table 5

88

	LB84068MP	111
$K_{cat}/[I]$ against caspase-8	1.02 E6 ($M^{-1}min^{-1}$)	1.30 E7 ($M^{-1}min^{-1}$)
IC ₅₀ (Jurkat cell)	1.6 μM	0.1 μM or less
ED ₅₀ (LPS + Gal)	0.99 mg/kg	0.01 mg/kg
Solubility (pH=7.44 phosphate)	0.93 mg/ml or less	7.8 g/ml

[987]

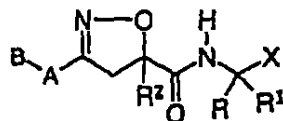
[988]

As can be seen from the above Table 5 Compound (111) according to the present invention showed an increased inhibitory activity by 10 times or more against caspase 8 and Jurkat cell compared with LB84068MP and by about 100 times against LPS induced acute hepatitis model (mouse). Also regarding the physico-chemical properties the compound showed improved solubility and so can be easily used as an injection. That is, the compound of the present invention shows highly more improved effects than the comparison compound of LB84068MP in both aspects of activity and physico-chemical properties.

Claims

[1] 1 A compound of the following formula (1)

[2]



(1)

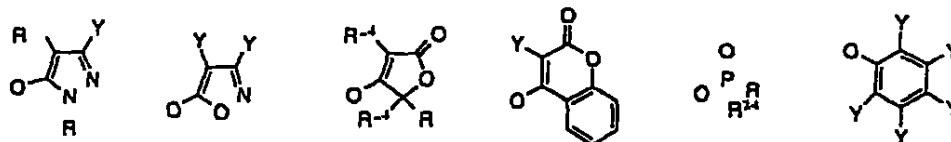
in which

- I) R represents H simple alkyl chain (-SAC) simple cycbalkyl chain (SCAC) aryl group (Ar) or simple alkyl chain substituted by aryl (SAC Ar)
- [3] II) R¹ represents SAC SCAC Ar -SAC Ar or a side chain residue of all the natural amino acids and the compound of formula (1) may exist in a specific diastereomeric form or mixtures thereof when the carbon to which R¹ is attached becomes a stereocenter due to the R¹ group or the compound of formula (1) may have a protecting group in an ester form (CO R³ wherein R³ is -SAC) or a sulfonamide form (CONHSO₂ R⁴ wherein R⁴ is SAC) or may exist in the form of pharmaceutically acceptable salt when R¹ is a side chain residue of an amino acid containing carboxyl moiety or the compound of formula (1) may also exist in the form of pharmaceutically acceptable salt when R¹ is a side chain residue of an amino acid containing a base moiety
- III) R² represents SAC SCAC Ar SAC Ar or a side chain residue of the natural amino acids and the compound of formula (1) may exist in a specific diastereomeric form or mixtures thereof when the carbon to which R² is attached becomes a stereocenter due to the R² group the compound of formula (1) may have a protecting group in an ester form (CO R⁵ wherein R⁵ is -SAC) or a sulfonamide form (CONHSO₂ R⁶ wherein R⁶ is SAC) or may exist in the form of pharmaceutically acceptable salt, when R² is a side chain residue of an amino acid containing carboxyl moiety or the compound of formula (1) may also exist in the form of pharmaceutically acceptable salt when R² is a side chain residue of an amino acid containing a base moiety or
- R² further represents H (CH₂)_n OR⁷ wherein R⁷ is SAC SCAC Ar or SAC Ar and n = 1 or 2 or (CH₂)_n OC(=O)R⁸ wherein R⁸ is SAC SCAC Ar or SAC Ar and n = 1 or 2
- IV) A represents (CH₂)_n (n = 0-4) O (CH₂)_n (n = 0-4) or NR⁹ (CH₂)_n (n = 0-4) wherein R⁹ is SAC SCAC Ar or -SAC Ar

V) Represents H -SAC -SCAC Ar or -SAC Ar or

VI) R and R¹ may form a cycle together with the carbon atom to which they are attached where R R¹ is (CH₂)_n (CH₂)_m O (CH₂)_{n+m} or (CH₂)_n NR¹⁰ (CH₂)_m wherein n+m<9 and R¹⁰ is -SAC SCAC Ar SAC Ar C(=O) SAC C(=O) SCAC C(=O) Ar or C(=O)-SAC Ar

VII) X represents C(=O)CH₂OR¹¹ wherein R¹¹ is SAC -SCAC Ar or SAC Ar C(=O)CH₂OC(=O)R¹² wherein R¹² is -SAC SCAC Ar or -SAC Ar CH=CH CO R¹³ wherein R¹³ is SAC SCAC Ar or SAC Ar CH=CH SO₂ R¹⁴ wherein R¹⁴ is SAC -SCAC Ar or SAC Ar C(=O)CH=CH₂ or COCH₂ W wherein W is N₂ F Cl Br I NR¹⁵R¹⁶ (R¹⁵ and R¹⁶ each are SAC SCAC, Ar or -SAC Ar or together may form 3 to 6 membered saturated or unsaturated cyclic group) SR¹⁷ (R¹⁷ is SAC SCAC Ar or SAC Ar) or is the following formula



wherein

Y is H OH OR¹⁸ (R¹⁸ = SAC or SCAC) C(=O)R¹⁹ (R¹⁹ = H -SAC or SCAC) F Cl Br I CN NC N₃ CO₂H CF₃ CO R²⁰ (R²⁰ = SAC or SCAC) C(=O)NHR²¹ (R²¹ = SAC or SCAC) or C(=O)NR²²R²³ (R²² and R²³ each are SAC -SCAC Ar or -SAC Ar)

R²⁴ is H SAC -SAC Ar or Ar salt, or stereoisomer thereof

- [4] 2 The compound according to claim 1 wherein R represents H
- [5] 3 The compound according to claim 1 wherein R¹ represents CH₂COOH CH₂COOR³ (R³=SAC) or CH₂CONHSO₂R⁴ (R⁴=SAC)
- [6] 4 The compound according to claim 1 wherein R² represents H SAC Ar or (CH₂)_nOR⁷ (R⁷ = SAC SCAC Ar or -SAC Ar and n = 1 or 2)
- [7] 5 The compound according to claim 1 wherein X represents C(=O)CH₂OAr C(=O)CH₂OC(=O)Ar or COCH₂W wherein W is N₂ F Cl Br I NR¹⁵R¹⁶ (R¹⁵ and R¹⁶ each are SAC SCAC Ar or -SAC Ar or together may form 3 to 6 membered saturated or unsaturated cyclic group) or SR¹⁷ (R¹⁷ is -SAC SCAC Ar or SAC Ar)
- [8] 6 The compound according to claim 1 wherein
- I) R represents H

II) R^1 represents CH_2COOH , CH_2COOR^3 ($R^3 = SAC$) or $CH_2CONHSO_2R^4$ ($R^4 = SAC$)

III) R^2 represents H, SAC, Ar or $(CH_2)_nOR^7$ ($R^7 = -SAC, -SCAC, Ar$ or SAC, Ar and $n = 1$ or 2)

IV) A represents $(CH_2)_n$ ($n = 0-4$) or $O(CH_2)_n$ ($n = 0-4$)

V) B represents H, SAC, SCAC, Ar or SAC, Ar

VI) X represents $COCH_2N_2$, $COCH_2F$, $COCH_2Cl$, $COCH_2Br$, $COCH_2I$, $COCH_2OAr$, $COCH_2OCOAr$ or $COCH_2SR^{17}$ (R^{17} is SAC, SCAC, Ar or SAC, Ar)

[9] 7 The compound according to claim 1 which is selected from the following group

(1) (3S) 5 [(2,6-dichlorobenzoyl)oxy]

3-([5-methyl-3-phenyl-4,5-dihydro-5-isoxazolyl]carbonyl)amino-4-oxopentanoic acid (Iaa)

(2) (3S) 3 ([5-methyl-3-phenyl-4,5-dihydro-5-isoxazolyl]

carbonyl)amino-4-oxo-5-phenoxypentanoic acid (Ibb)

(3) (3S) 3 ([5-ethyl-3-phenyl-4,5-dihydro-5-isoxazolyl]

carbonyl)amino-4-oxo-5-(2,3,5,6-tetrafluorophenoxy)pentanoic acid (Icc)

(4) (3S) 3 ([5-ethyl-3-(1-naphthyl)-4,5-dihydro-5-isoxazolyl]

carbonyl)amino-4-oxo-5-(2,3,5,6-tetrafluorophenoxy)pentanoic acid (Idd)

(5) (3S) 3 ([5-ethyl-3-(2-naphthyl)-4,5-dihydro-5-isoxazolyl]

carbonyl)amino-4-oxo-5-(2,3,5,6-tetrafluorophenoxy)pentanoic acid (Iee)

(6) (3S) 3 ([5-ethyl-3-(1-isoquinolyl)-4,5-dihydro-5-isoxazolyl]

carbonyl)amino-4-oxo-5-(2,3,5,6-tetrafluorophenoxy)pentanoic acid (Ifd)

(7) 3 ([5-ethyl-3-(1-isoquinolyl)-4,5-dihydro-5-isoxazolyl]

carbonyl)amino-5-fluoro-4-oxopentanoic acid (Igg)

(8) ethyl 3 ([5-ethyl-3-(1-isoquinolyl)-4,5-dihydro-5-isoxazolyl]

carbonyl)amino-5-fluoro-4-oxopentanoate (Ihh)

(9) 5-fluoro-3 ([5-ethyl-3-(1-isoquinolyl)-4,5-dihydro-5-isoxazolyl]

carbonyl)amino-4-oxopentanoic acid (Iii)

(10) 3 ([5-ethyl-3-(4-quinolyl)-4,5-dihydro-5-isoxazolyl]

carbonyl)amino-5-fluoro-4-oxopentanoic acid (Ijj)

(11) 3 ([3-(benzothienophen-2-yl)-5-ethyl-4,5-dihydro-5-isoxazolyl]

carbonyl)amino-5-fluoro-4-oxopentanoic acid (Ikk)

(12) (3S) 3 ([3-(1,3-dimethyl-1H-indol-2-yl)-5-ethyl-4,5-dihydro-5-isoxazolyl]

- carbonyl}amino) 4-oxo 5 (2 3 5 6-tetrafluorophenoxy)pentanoic acid (Il)
- (13) 3 ([[3 (1 3 dimethyl-1*H* indol-2 yl) 5 ethyl-4 5 dihydro 5 isoxazdyl] carbonyl}amino) 5 fluoro 4 oxopentanoic acid (Imm)
- (14) (3*S*) 3 ([[5-ethyl-3 (1 naphthylmethyl) 4 5-dihydro 5 isoxazdyl] carbonyl}amino) 4-oxo 5 (2 3 5 6 tetrafluorophenoxy)pentanoic acid (Inn)
- (15) (3*S*) 5 [(2 6-dichlorobenzoyl)oxy] 3 ([[5 ethyl-3 [2 (1 naphthyl)ethyl] 4,5 dihydro 5 isoxazdyl] carbonyl}amino)-4-oxopentanoic acid (Ioo)
- (16) (3*S*) 3 ([[5 ethyl-3 [(1 naphthyl)oxy)methyl] 4 5 dihydro 5 isoxazdyl] carbonyl}amino)-4-oxo 5 (2 3 5 6 tetrafluorophenoxy) pentanoic acid (Ipp)
- (17) (3*S*) 3 ([[3 [[(4-chloro-1 naphthyl)oxy] methyl] 5 ethyl-4 5 dihydro 5 isoxazdyl] carbonyl}amino) 4-oxo 5 (2 3 5 6 tetrafluorophenoxy)pentanoic acid (Iqq)
- (18) (3*S* 4*E*)-6 ethoxy 3 ([[5*R*) 5 isopropyl-3 (1 isoquinolyl) 4 5 dihydro 5 isoxazdyl] carbonyl}amino) 6 oxo 4-hexenoic acid (Irr)
- (19) (3*S* 4*E*) 3 ([[5*R*) 5 isopropyl-3 (1 isoquinolyl)-4 5-dihydro 5 isoxazdyl] carbonyl}amino) 5 (methylsulfonyl) 4 pentenoic acid (Iss)
- (20) 5 fluoro 3 ([[5*S*) 3 (1 isoquinolyl) 5 propyl-4 5 dihydro 5 isoxazdyl] carbonyl}amino) 4-oxopentanoic acid (Itt)
- (21) 3 ([[5*S*) 5-ethyl-3 (1 naphthyl)-4 5 dihydro 5 isoxazdyl] carbonyl}amino) 5 fluoro 4-oxopentanoic acid (Iuu)
- (22) 3 ([[5*S*) 5 ethyl-3 (2 quinolyl)-4 5 dihydro 5 isoxazdyl] carbonyl}amino) 5 fluoro 4-oxopentanoic acid (Ivv)
- (23) 3 ([[5*R*)-5-ethyl-3 (3 isoquinolyl)-4 5 dihydro 5 isoxazdyl] carbonyl}amino) 5 fluoro-4-oxopentanoic acid (Iww)
- (24) 3-[[5-ethyl-3 (8 quinolyl)-4 5 dihydro 5 isoxazdyl] carbonyl}amino) 5 fluoro 4-oxopentanoic acid (Ixx)
- (25) 3 ([[5-ethyl-3 (3 quinolyl) 4 5 dihydro-5 isoxazdyl] carbonyl}amino) 5 fluoro 4-oxopentanoic acid (Iyy)
- (26) 5 fluoro-3 ([[5*R*)-5 isopropyl-3 (2 quinolyl)-4,5 dihydro 5 isoxazdyl] carbonyl}amino) 4-oxopentanoic acid (Izz)
- (27) 3 ([[5-ethyl-3 (2 isopropylphenyl) 4 5 dihydro 5 isoxazdyl] carbonyl}amino) 5 fluoro-4-oxopentanoic acid (Iaa1)
- (28) 3 ([[3 [3 (*tert* butyl)phenyl]

5-ethyl-4,5-dihydro-5-isoxazolyl]carbonyl)amino] 5-fluoro-4-oxopentanoic acid (Iaa2)

(29) 3-[[[3-[4-(*tert*-butyl)phenyl]-5-ethyl-4,5-dihydro-5-isoxazolyl]carbonyl]amino] 5-fluoro-4-oxopentanoic acid (Iaa3)

(30) 5-fluoro-3-[[[(5*R*)-5-isopropyl-3-(2-isopropylphenyl)-4,5-dihydro-5-isoxazolyl]carbonyl]amino] 4-oxopentanoic acid (Iaa4)

(31) 3-[[[(5*R*)-3-[3-(*tert*-butyl)phenyl]-5-isopropyl-4,5-dihydro-5-isoxazolyl]carbonyl]amino] 5-fluoro-4-oxopentanoic acid (Iaa5)

(32) 3-[[[3-[1,1'-biphenyl]-3-yl]-5-isopropyl-4,5-dihydro-5-isoxazolyl]carbonyl]amino] 5-fluoro-4-oxopentanoic acid (Iaa6)

(33) 3-[[[5-ethyl-3-(2-pyridinyl)-4,5-dihydro-5-isoxazolyl]carbonyl]amino] 5-fluoro-4-oxopentanoic acid (Iaa7)

(34) 3-[[[3-[4-(*tert*-butyl)-2-pyridinyl]-5-ethyl-4,5-dihydro-5-isoxazolyl]carbonyl]amino] 5-fluoro-4-oxopentanoic acid (Iaa8)

(35) 3-[[[(5*R*)-3-[4-(*tert*-butyl)-2-pyridinyl]-5-isopropyl-4,5-dihydro-5-isoxazolyl]carbonyl]amino] 5-fluoro-4-oxopentanoic acid (Iaa9)

(36) 3-[[[5-ethyl-3-(4-isobutyl-2-pyridinyl)-4,5-dihydro-5-isoxazolyl]carbonyl]amino] 5-fluoro-4-oxopentanoic acid (Iaa10)

(37) 3-[[[3-(4-acetyl-2-pyridinyl)-5-ethyl-4,5-dihydro-5-isoxazolyl]carbonyl]amino] 5-fluoro-4-oxopentanoic acid (Iaa11)

(38) 3-[[[3-(4-cyclopropyl-2-pyridinyl)-5-ethyl-4,5-dihydro-5-isoxazolyl]carbonyl]amino] 5-fluoro-4-oxopentanoic acid (Iaa12)

(39) 3-[[[3-(4-cyclopentyl-2-pyridinyl)-5-ethyl-4,5-dihydro-5-isoxazolyl]carbonyl]amino] 5-fluoro-4-oxopentanoic acid (Iaa13)

(40) 3-[[[(5*R*)-3-(4-cyclopentyl-2-pyridinyl)-5-isopropyl-4,5-dihydro-5-isoxazolyl]carbonyl]amino] 5-fluoro-4-oxopentanoic acid (Iaa14)

(41) 3-[[[3-(4-cyclohexyl-2-pyridinyl)-5-ethyl-4,5-dihydro-5-isoxazolyl]carbonyl]amino] 5-fluoro-4-oxopentanoic acid (Iaa15)

(42) 3-[[[5-ethyl-3-(5,6,7,8-tetrahydro-1-isoquinolyl)-4,5-dihydro-5-isoxazolyl]carbonyl]amino] 5-fluoro-4-oxopentanoic acid (Iaa16)

94
94

(43)

5 fluoro 3-(((5 isopropyl-3 (4 phenyl-2 pyridinyl) 4 5 dihydro 5 isoxazolyl]carbonyl}amino)-4-oxopentanoic acid (Iaa17)

(44) (3S) 5 [(diphenylphosphoryl)oxy] 3 (((5R

) 5 isopropyl-3 (1 isoquinolinyl)-4 5-dihydro-5 isoxazolyl]carbonyl}amino) 4 oxopentanoic acid (Iaa18)

(45) (3S) 3 (((5R) 5 isopropyl-3 (1 isoquinolinyl) 4 5 dihydro 5 isoxazolyl]carbonyl}amino)-4-oxo-5 {[1 phenyl-3 (trifluoromethyl) 1 H pyrazol-5 yl]oxy}pentanoic acid (Iaa19)

(46) (3S) 5 [(4-benzyl-5 oxo 2 5 dihydro 3 furanyl)oxy] 3 (((5R

) 5 isopropyl-3 (1 isoquinolinyl)-4 5 dihydro-5 isoxazolyl]carbonyl}amino) 4-oxopentanoic acid (Iaa20)

(47) (3S) 5 (isobutyryloxy) 3 (((5R

) 5 isopropyl-3 (1 isoquinolinyl)-4 5 dihydro 5 isoxazolyl]carbonyl}amino) 4 oxopentanoic acid (Iaa21)

(48) (3S) 3 (((5R) 5 isopropyl-3 (1 isoquinolinyl)-4 5 dihydro 5 isoxazolyl]carbonyl}amino) 4-oxo 5 hexenoic acid (Iaa22)

(49) (3S) 3 (((5R) 5 isopropyl-3 (1 isoquinolinyl)-4 5 dihydro-5 isoxazolyl]carbonyl}amino) 4-oxo 5 (2 pyridinyloxy)pentanoic acid (Iaa23)

(50) (3S) 3 (((5 ethyl-3 (2 isopropylphenyl) 4 5 dihydro 5 isoxazolyl]carbonyl}amino) 4-oxo-5 (2 pyridinyloxy)pentanoic acid (Iaa24)

(51) 2 (((3S) 4-carboxy 3 (((5R

) 5 isopropyl-3 (1 isoquinolinyl) 4 5 dihydro-5 isoxazolyl]carbonyl}amino) 2 oxobutyl]oxy} 1 methylpyridinium trifluoromethanesulfonate (Iaa25)

(52) 2 (((3S

) 4 carboxy 3 (((5 ethyl-3 (2 isopropylphenyl)-4 5 dihydro 5 isoxazolyl]carbonyl}amino) 2 oxobutyl]oxy} 1 methylpyridinium trifluoromethanesulfonate (Iaa26)

(53) 3 (((3 (5 chloro 1 methyl-1 H

indol-2 yl) 5 isopropyl-4 5 dihydro 5 isoxazolyl]carbonyl}amino) 5 fluoro-4-oxopentanoic acid (Iaa27)

(54) 3 (((3 (1,5 dimethyl-1 H indol-2 yl) 5 isopropyl-4 5-dihydro-5 isoxazolyl]carbonyl}amino) 5 fluoro-4-oxopentanoic acid (Iaa28) and

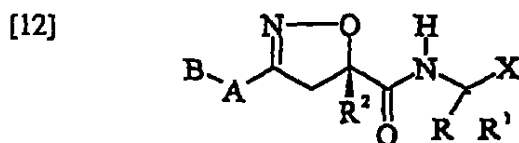
(55) (3S) 5 fluoro 3 (((5R

) 5 isopropyl-3 (1 isoquinolinyl)-4 5 dihydro 5 isoxazolyl]carbonyl}amino) 4-oxo

xopentanoic acid (Iii 1)

- [10] 8 The compound according to claim 1 which is 5 fluoro 3 (((5 R) 5 isopropyl-3 (1 isoquinolnlyl) 4,5 dihydro 5 isoxazoly]carbonyl}amino) 4 o xopentanoic acid (Iii)

- [11] 9 A compound of the following formula (1a)



- [13] (1a)

in which

A B R R¹ R² and X are defined as described in claim 1

- [14] 10 The compound according to claim 9 which is (3S)-5 fluoro 3 (((5 R) 5 isopropyl-3 (1 isoquinolnlyl)-4 5 dihydro 5 isoxazoly]carbonyl}amino) 4 o xopentanoic acid (Iii 1)

- [15] 11 A process for preparing the compound (Iii 1) as defined in claim 10 which comprises the steps of dissolving a mixture of (3S) 5 fluoro-3 (((5 R) 5 isopropyl-3 (1 isoquinolnlyl)-4 5 dihydro 5 isoxazoly]carbonyl}amino) 4 o xopentanoic acid and (3R) 5 fluoro 3 (((5 R) 5 isopropyl-3 (1 isoquinolnlyl) 4 5 dihydro-5 isoxazoly]carbonyl}amino) 4-o xopentanoic acid in methyl t butyl ether adding a small amount of crystalline (3 S)-5 fluoro 3 (((5 R) 5 isopropyl-3 (1 isoquinolnlyl)-4 5 dihydro-5 isoxazoly]c arbonyl}amino)-4-oxopentanoic acid as a seed material to gve a crystal and re crystallizing this crystal from ethyl acetate/n hexane solvent system

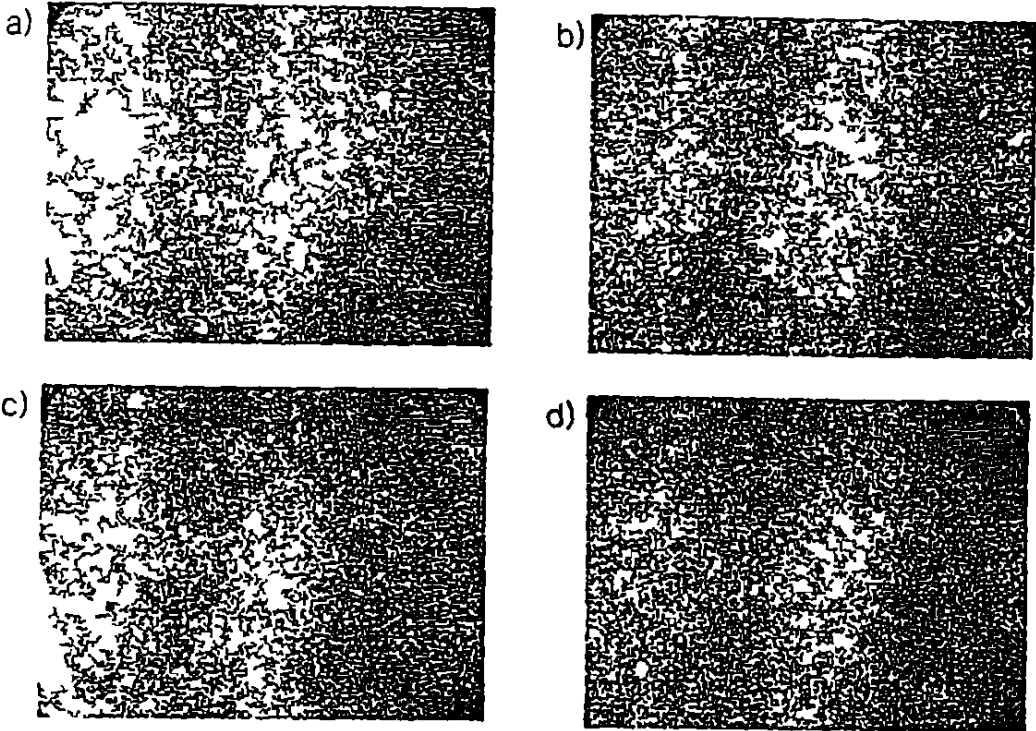
- [16] 12 A therapeutic composition for preventing inflammation and apoptosis comprising the caspase inhibitor compound of formula (1) salt, or stereoisomer thereof as defined in claim 1 as an active ingredient together with the pharma ceutically acceptable carrier

- [17] 13 The composition according to claim 12 for the treatment of dementia cerebral stroke brain impairment due to AIDS diabetes gastric ulcer cerebral injure by hepatitis hepatitis induced hepatic diseases acute hepatitis fulminant hepatic failure liver cirrhosis sepsis organ transplantation rejection rheumatic arthritis or cardiac cell apoptosis due to ischemic cardiac diseases

- [18] 14 The composition according to claim 12 for the treatment of acute hepatitis or liver cirrhosis

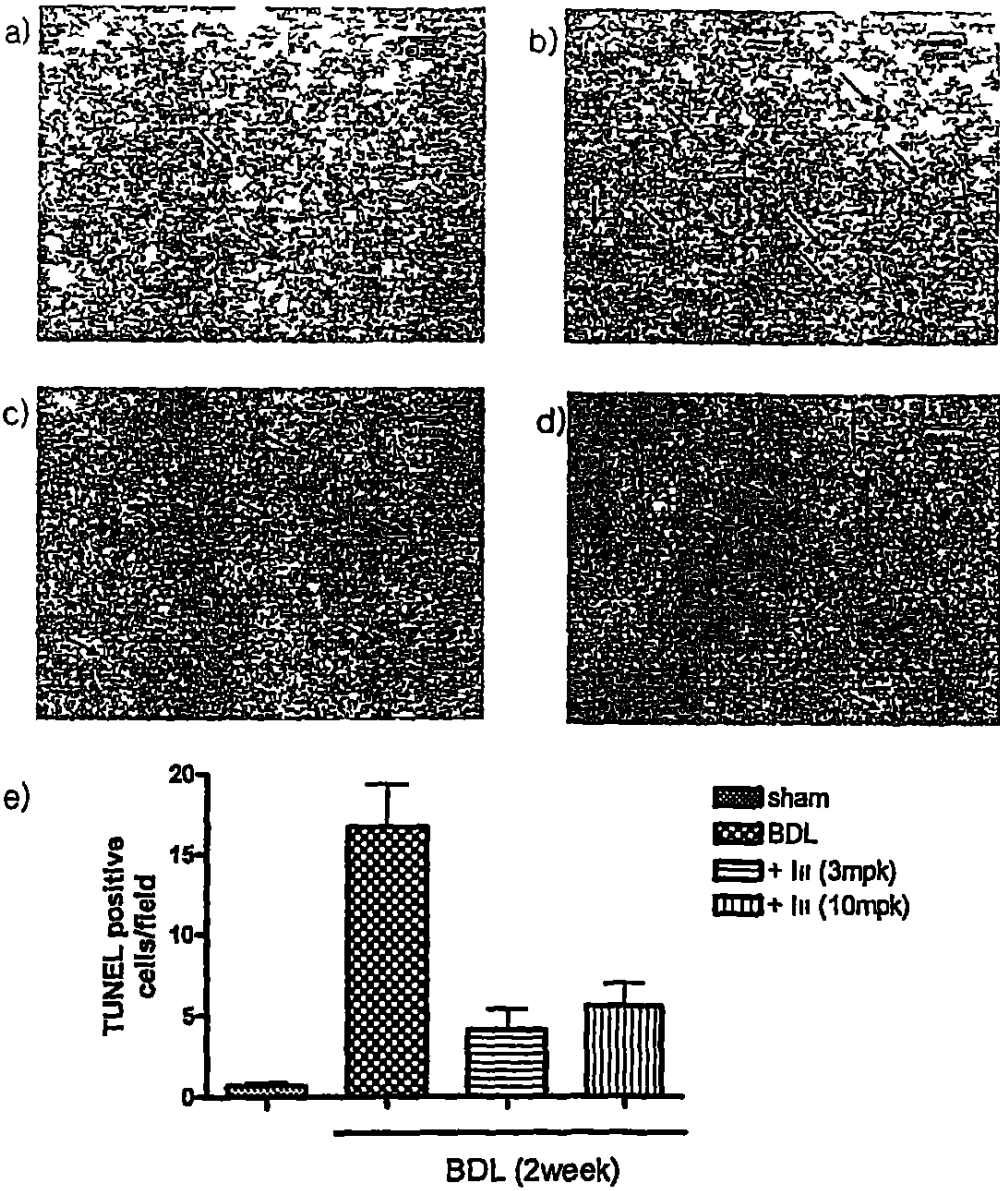
- [19] 15 The composition according to claim 12 for the treatment of rheumatic arthritis
- [20] 16 The composition according to claim 12 which is formulated as an oral preparation an injection or a patch
- [21] 17 The composition according to claim 12 comprising the compound (Iii) as defined in claim 8 as an active ingredient
- [22] 18 The composition according to claim 12 comprising the compound (Iii 1) as defined in claim 10 as an active ingredient.
- [23] 19 A process for preparing the therapeutic composition for preventing inflammation and apoptosis as defined in claim 12 comprising admixing the caspase inhibitor compound of formula (1) salt or stereoisomer thereof as defined in claim 1 with pharmaceutically acceptable carrier
- [24] 20 A method for preventing inflammation and apoptosis comprising administering an effective amount of the caspase inhibitor compound of formula (1) salt or stereoisomer thereof as defined in claim 1 to a patient suffering from inflammation and apoptosis
- [25] 21 A use of the caspase inhibitor compound of formula (1) salt, or stereoisomer thereof as defined in claim 1 for preventing inflammation and apoptosis

[Fig 1]



98
98

[Fig 2]



DESCRIPCION

INHIBIDORES DE CASPASA QUE CONTIENEN ANILLOS DE ISOXAZOLINA

CAMPO TECNICO

[3] La presente invencion se relaciona con un derivado de la isoxazolina como un inhibidor contra varias caspasas incluyendo la caspasa 1(interlukin 1 β enzima convertidora ICE] y la caspasa 3 [apopain/CPP 3] un proceso para su preparaci3n y una composici3n terapeutica para prevenir la inflamacion y la apoptosis que la incluye

ANTECEDENTES DEL ARTE

[6] La caspase es una nueva clase de proteasa cisteina en la forma de $\alpha_2 \beta_2$ descubierta durante los ultimos 10 a1os Cerca de 14 clases de ellas han sido conocidas hasta ahora La Caspasa 1 (ICE) una de ellas es una clase de citokina y participa en convertir la prointerlukin 1 β inactivo al interlukin 1 β activo Interlukin 1 consiste de interlukin 1 α e interlukin 1 β los cuales son sintetizados en monocitos en la forma de un precursor que tiene 31kDa Solo prointerlukin 1 β es activado por ICE Las posiciones hidrolizadas por la caspasa 1 son Asp²⁷ Gly²⁷ y Asp¹¹⁶ – Ala¹¹⁷ La hidrolisis de la ultima posici3n da interlukin 1 β Interlukin 1 β ha sido reportado que actua como un importante mediador en causar inflamaci3n (1 3) La caspasa 1 fue descubierta por primera vez en 1989 y en dos grupos de estudio independientes la estructura tri dimensional de ella fue determinada por m3todos de cristalograf3a de rayos X

[8] La caspasa 3(CCP 32) es ampliamente estudiada por su papel o mecanismo de acci3n y su estructura tridimensional fue determinada en 1996 (2) La caspasa 2 (apopain) activad de procaspasa 3 hidroliza (P4)Asp X X Asp(P1)motif y los sustratos conocidos incluyen poli(ADP ribosa)polimerasa ribonucleoproteina

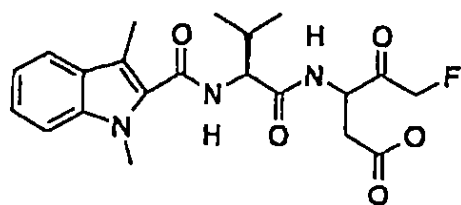
nuclear pequeña U1 70 000 Mr y la subunidad catalítica de proteína Kinasa DNA dependiente 460 000 Mr etc La estructura de rayos X de caspasa 7 se ha reportado como muy parecida a la de caspasa 3 (4)

[10] Las caspasas 8 y 9 están presentes en las caspasas corriente arriba 3 6 7 y se conoce que estas caspasas participan en la cascada de la apoptosis La estructura de rayos X de caspasa 8 fue determinada en 1995(5) y particularmente los inhibidores de ella pueden ser ventajosamente usados para tratar las enfermedades relacionadas a la apoptosis

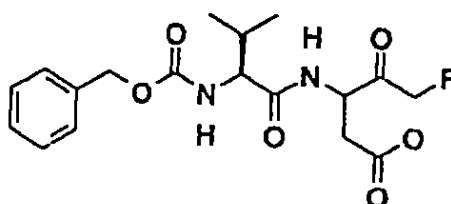
[12] Por inhibidores de caspasa se entiende aquellos compuestos que inhiben la capacidad de la caspasa y así controlan síntomas tales como inflamación apoptosis etc causados por la actividad de la caspasa Enfermedades o síntomas que pueden ser tratados o atenuados por la administración de inhibidores incluyen las siguientes artritis reumatoide enfermedad del intestino inflamado enfermedad de graft vs host sepsis osteoartritis osteoporosis leucemia mielógena crónica y aguda meningitis salpingitis shock séptico colangitis encefalitis endocarditis glomerulonefritis hepatitis miocarditis pancreatitis diabetes tipo I melitus esclerosis múltiple enfermedad de Alzheimer Parkinson hepatocirrosis

[14] Entre los inhibidores de caspasa conocidos hasta ahora los más notoriamente irreversibles son los siguientes

[15]



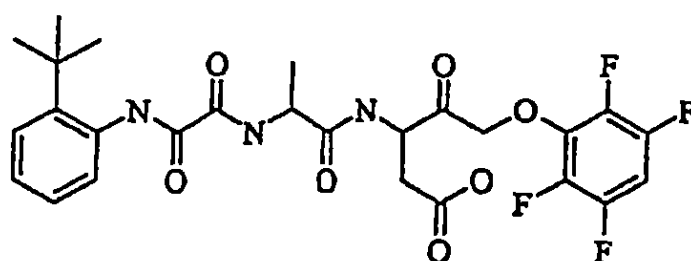
IDN-1965



MX-1013

[17] Los dos inhibidores anteriores exhiben su actividad basados en el mecanismo comun de que ellos irreversiblemente inactivan la enzima para la apoptosis celular (inhibidor de amplio espectro irreversible) Se ha reportado que el inhibidor irreversible tiene una actividad inhibidora mucho mas efectiva cuando se comparan inhibidores reversibles e irreversibles (7) Ambos IDN 1965 de IDUN Co y MX 1013 de Maxim Co se reporta que muestran actividad en el modelo de apoptosis celular de lesiones hepáticas (8 9) Estos compuestos están ahora en la etapa de pruebas preclínicas El inhibidor irreversible IDN 6556 la estructura del cual ha sido recientemente reportada esta ahora en la etapa de fase II de pruebas clínicas como un agente terapéutico para lesiones hepáticas (10 11)

[18]



IDN-6556

[20] Referencias

- [21] (1) Inflammation Basic Principles and Clinical Correlates 2 nd ed ed by Gallin Goldstein and Snyderman Raven Press Ltd New York 1992 pp221 232 Blood 1996 87(6) 2095 2147
- [22] (2) Wilson K P et al Nature 1994 370 270 Walker N P C et al Cell 1994 78 343 Nature Structural Biology 1996 3(7) 619
- [23] (3) Thornberry N A et al Nature 1992 356 768 Nature Biotechnology 1996 14 297 Protein Science 1995 4 3 Nature 1995 376 julio 6) 37 Protein Science 1995 4 2149
- [24] (4) Wei Y et al Chemistry and Biology 2000 7 423
- [25] (5) Blanchard H et al Structure 1999 7 1125 Blanchard H et al J of Mol Biol 2000 302 9

[26] (6) Referencias a enfermedades relacionadas con la caspasa

[27] Demencia Arch Neurol 2003 Mar 60(3) 369 76 Expresión del gen de caspasa in el cerebro como una función de la progresión del Alzheimer Pompl PN Yemul S Xinag Z Ho L Haroutunian V Purohit D Mohs R Pasinetti GM

[29] Derrame cerebral Proc Natl Acad Sci USA 2002 Nov 12 99(23) 15188 93 Activación de caspasa y neuroprotección en ratones deficientes en caspasa 3 después de isquemia cerebral in vivo y privación de glucosa de oxígeno in vitro Le DA Wu Y Hunag Z Matsushita K Plenila N Augustinack JC Hyman BT Yuan J Kuida K Flavel RA Moskowitz M A

[31] Daño cerebral debido al AIDS J Neurosci 2002 May 15 22(10) 4015 24 Cascadas de caspasa en inmunodeficiencia humana de neurodegeneración virus asociada Garden GA Budd SI Tsai E Hanson L Kaul M D Emilia DM Friedlander RM Yuan J Masliah E Lipton SA

[33] Diabetes Diabetes 2002 Jun 51(6)1938-48 Apoptosis inducida por hiperglicemia en el miocardio de un ratón activación de la ruta caspasa 3 C mediada citocroma mitocondrial Cai L Li W Wang G Guo L Jinag Y Kang YJ

[35] Ulcera gástrica J Physiol Pharmacol 1998 Dec 49(4) 489 500 Papel del factor de crecimiento de fibroblast básico en la supresión de caspasa 3 apoptotica durante el saneamiento de la ulcera gástrica Slominay BL Piotrowski J Slomiany A

[37] Lesiones cerebrales por hepatitis J Viral Hepat 2003 Mar 10(2) 81 6 Disfunción Cerebral por infecciones de hepatitis C crónica Forton DM Taylor Robinson SD Thomas HC

[39] Falla hepática fulminante Gastroenterology 2000 Aug 119(2) 446 60
Factor alfa en necrosis de tumor en la patogenesis de falla hepatica fulminante de humano y murinos Streetz K Leifeld L Grundmann D Ramkers J Eckert K Spengler U Brenner D Manns M Trautwein C

[41] Sepsis Nat Immunol 2000 Dec 1(6) 469 501 Inhibidores de caspasa mejoran la supervivencia de la sepsis un papel critico de la linfocita Hotchkiss RS Chang KC Swanson PE Tinsley KW Hui JJ Klemder P Xanthoudakis S Roy S Black C Grimm E Aspiotis R Han Y Nicholson DW Karl IE

[43] Rechazo de transplantes de órganos Xenotransplantation 2001 May 8(2) 115 24 Prevención in vitro del rechazo de xeno graf mediado por células iba la ruta Fas/Fas L en células de riñón de cerdo CrmA Transductada Fujino M Li XK Sud T Hashimoto M Okabe K Yaginuma H Mikoshiba K Guo L Okuyama T Enosawa S Amemiya H Amano T Suzuki S

[45] Artritis reumática Prog Med Chem 2002 39 1 72 Inhibidores de caspasa como agente antiinflamatorios y antiapoptoticos Graczyk PP

[47] Isquemia cardiaca Am J Physiol Hearat Cir Physiol 2002 Sep 283(3) H990 5 Rotura de caspasa 3 DFF45/ICAD hipoxia inducida en cardiomiocitos humanas falladas Todor A Sharov VG Tanhehco EJ Silverman N Bernabei A Sabbah HN

[49] Anti inflamatorios J Immunol 2003 Mar 15 170(6) 3386 91 Inhibidor de caspasa de amplio espectro aminora la inflamacion alergica de conductos de aire en el modelo de asma murino lwata A Nshio K Winn RK Chi EY Henderson WR Jr Harlan JM



[51] Cirrosis i) J Pharmacol Exp Ther 2004 Mar 308(3) 1911-6 El inhibidor de caspasa Idn 6556 atenúa la lesión hepática y fibrosis en el ducto de bilis ligado de ratón Canbay A Fiedstein A Baskin_Bey E Bronks FS Gores GJ ii) Hepatology 2004 Feb 39(2) 273-8 Apoptosis: el nexo de lesiones hepáticas y fibrosis Canbay A Friedman S Gores GJ iii) Hepatology 2003 Nov 30(5) 1188-98 Envolvimiento de células Kupffer y de cuerpos apoptóticos estimula ligandos muertos y la expresión de citokina Canbay A Fiedstein A Higuchi H Werneburg N Grambihler A Bronk SF Gores GJ

[53] (7) Wu J et al Methods A Companion to Methods in Enzymology 1999 17:320

[54] (8) Hoglen NC et al J Pharmacology and Experimental Therapeutics 2001 297:811

[55] (9) Jaeschke H et al Toxicology and Applied Pharmacology 2000 169:77

[56] (10) Hoglen NC et al J Pharmacol Exp Ther 2004 309(2):634 Characterization of IDN 6556 (3-[(2-tert-butyl-phenylamino)oxalyl]amino]propionylamino]-4-oxo-5-(2,3,5,6-tetrafluorophenoxy)pentanoic acid: A liver targeted caspase inhibitor

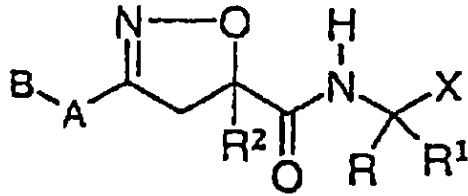
[57] (11) Canbay A et al J Pharmacol Exp Ther 2004 308(3):1191 The caspase inhibitor IDN 6556 attenuates hepatic injury and fibrosis in the bile duct ligated mouse

EXPOSICION DE LA INVENCIÓN

[60] Los actuales inventores diseñan y sintetizan nuevos compuestos que pueden ser usados como efectivos inhibidores contra caspasas y que tienen una estructura distintiva y una alta selectividad por enzimas similares que determinan su habilidad fijadora y actividad inhibidora de las caspasas. Como resultado los

inventores han descubierto que un compuesto de la siguiente formula (I) cumple tales requerimientos y constituyen la presente invención

[61]



[62] (1)

[63] en la cual

[64] A B R R¹ R² y X son definidos como se describe abajo

[66] En consecuencia la presente invención provee el novel derivado de isoxazolina de la formula (1) sal o estereoisómero de el que tiene una efectiva actividad inhibidora contra caspasas

[68] Es otro objetivo de la presente invención el proveer un proceso para preparar el compuesto de la formula (1) sal o estereoisómeros de el

[70] Es tambien otro objetivo de la presente invención el proveer un compuesto un uso o un método para inhibir las caspasas específicamente una composición farmacéutica un uso o un método para prevenir inflamación y apoptosis que comprende el compuesto de la formula (1) sal o estereoisomero de el como ingrediente activo junto con un vehículo farmacéuticamente aceptable

BREVE DESCRIPCION DE LOS DIBUJOS

[73] La Figura 1 muestra la actividad inhibidora del compuesto (Iii) contra la fibrosis hepática debido a un estancamiento de bilis a) en la Figura 1 representa el caso de operación Sham b) representa el caso de operacion BDL donde solo

el vehiculo fue administrado después de la ligacion del ducto biliar c) representa el caso donde el compuesto (Iii) fue administrado oralmente en una dosis de 3 mg/kg dos veces por día durante 1 semana después de una semana de ligado el ducto biliar d) representa el caso donde el compuesto (Iii) fue oralmente administrado en una dosis de 10 mg/kg dos veces por día durante 1 semana después de una semana de ligado el ducto biliar

[75] La Figura 2 muestra la actividad inhibidora del compuesto (Iii) contra la apoptosis de células hepáticas debido al estancamiento de bilis a) en La Figura 2 representa el caso de operación Sham b) representa el caso de operacion BDL donde solo el vehículo fue administrado despues de la ligación del ducto biliar c) representa el caso donde el compuesto (Iii) fue administrado oralmente en una dosis de 3 mg/kg dos veces por dia durante 1 semana después de una semana de ligado el ducto biliar d) representa el caso donde el compuesto (Iii) fue oralmente administrado en una dosis de 10 mg/kg dos veces por día durante 1 semana después de una semana de ligado el ducto biliar y e) es un gráfico que muestra el numero de células hepáticas sujetas a apoptosis en cada grupo de tratamiento

MEJOR FORMAS DE IMPLEMENTAR LA INVENCION

[78] Antes de ilustrar la presente invención en detalle los siguientes importantes terminos son definidos

[79] a) Cadena Alkil Simple (SAC abajo) significa un hidrocarburo que tiene 1 a 8 átomos de carbono en una forma isomérica lineal o ramificada

[81] a) Cadena Ciclo Alkil Simple (SCAC abajo) significa un radical ciclico que tiene 3 a 10 atomos de carbono

[83] c) Grupo Aril (Ar abajo) incluye ambos los grupos aromaticos y heteroaromaticos El grupo aromático significa un ciclo no saturado fusionado o simple de 5 a 15 miembros Uno o mas hidrogenos pueden estar reemplazados con un grupo (s) seleccionados de los siguientes acil amino carboalkoxi carboxi carboxiamino ciano halo hidroxi nitro tiol alil cicloalkil alkoxi ariloxi sulfoxi y guanido El grupo heteroaromático significa un grupo aromático que contiene de 1 a 5 heteroátomos seleccionados de un grupo consistente de oxigeno sulfuro y nitrógeno De la misma manera uno o mas hidrógenos pueden estar reemplazados con un grupo (s) seleccionados de los siguientes acil amino carboalkoxi carboxi carboxiamino ciano halo hidroxi nitro tiol alil cicloalkil alkoxi ariloxi sulfoxi y guanido O por ejemplo en el caso de pindil un grupo alil puede ser adicionado al átomo de nitrógeno para convertir el grupo pindil en un grupo pindinium que tiene (+) carga en el átomo de nitrógeno

[85] El grupo aril incluye fenil bifenil 1 naftil 2 naftil pirimidil N alil piridinium pirimidinil quinolinil benzotienil indolil pirazinil isoindolil isoquinolil quinazolinil quinoxalinil ftalazinil imidazolinil isoxazolis pirazoli oxazoli tiazolil indolizini indazoli benzotiazolil bencimidazolil benzofuranil tienil pirrolil oxadiazolil tiadiazolil tetrazolil Oxazolopindinil imidazopindinil isotiazolil cinnolinil carbazolil isocromanil cromanil tetrahydroisoquinolinil isoindolinil isonbenzotetrahydrofuranil isobenzotetrahidrotienil isobenzotienil benzoxazolil pindopirini benxotetrahydrofuranil benzotetrahidrotienil punnil benzodioxolil triazinil fenoxazinil fenotiazinil pteridinil benzotiazolil imidazopindinil imidazotiazolil dihidrobenzisoxazinil bencisoxazinil dihidrobenzisotipiranil benzopiranil benzotipiranil coumannil isocoumannil cromonil cromanonil pindinil N oxido tetrahydroquinolinil N oxido dihydroquinolinil dihydroquinolinonil dihydroisoquinolinonil dihydrocoumannil dihydroisocoumannil isoindolinonil benzodioxanil) benzoxazolinonil N alil pindium pirrolil N oxido pirimidinil N oxido pirazinil N oxido quinolinil N oxido indolil N oxido indolinil N oxido

isoquinolil N óxido quinazolinil N óxido quinoxalinil N óxido ftalazinil N óxido
 indolizinil N óxido indazolil N óxido benzotiazolil N-óxido benzimidazolil N óxido
 pirrolil N-óxido oxadiazolil N-óxido triadiazolil N-óxido triazolil N óxido tetrazolil
 N óxido etc

[87] d) Cadena Alkil Simple sustituida por Aril (SAC Ar abajo) significa un alquil de cadena recta o ramificada que tiene 1 a 8 átomos de carbono y es sustituido por el grupo Aril mencionado arriba

[89] e) Los amino naturales incluyen los siguientes Glicina Alanina Valina Leucina Isoleucina Serina Treonina Cisteína Metionina Prolina ácido aspártico Asparagina ácido glutámico Lisina Arginina Histidina Fenilalanina Tirosina y Triptofano

[91] El grupo protector de éster simple es un hidrocarburo que tiene 1 a 8 átomos de carbono en una forma isomérica lineal o ramificada

[93] Además la presente especificación incluye las siguientes abreviaturas

[94] N clorosuccinimida NCS

[95] N metilmorfolina NMM

[96] O (7 azabenzotriazol-1-il)-N,N,N,N-tetrametiluroniumhexafluorofosfato
 HATU

[97] N,N-dimetil formamida DMF

[98] 1-(3-dimetilaminopropil)-3-etilcarbodiimida EDC

[99] hidrato de 1-hidroxibenzotriazol HOBt

[100] ácido trifluoroacético TFA

[101] t-butoxicarbonil Boc

[102] benziloxicarbonil Cbz

[103] metil Me

[104] etil Et

[105] equivalente Eq

[107] Los sustitutos incluidos en la formula (1) de arriba son específicamente definidos de la siguiente manera

[108] I) R representa H cadena alquil simple (SAC) Cadena cicloalquil simple (SCAC) grupo aril (Ar) o cadena alquil simple sustituida por un anil (SAC Ar)

[110] II) R¹ representa –SAC SCAC Ar SAC Ar o un residuo de cadena lateral de todos los amino ácidos naturales y el compuesto de la formula (1) puede existir en una forma diastereomérica específica o mezclas de ellas cuando el carbono al cual R¹ está fijado se convierte en un estereocentro debido al grupo R¹ o el compuesto de la formula (1) puede tener un grupo protector en la forma de un éster (CO R³ donde R³ es –SAC) o en forma de sulfonamida (CONHSO R⁴ donde R⁴ es –SAC) o puede existir en la forma de una sal farmacéuticamente aceptable donde R¹ es un residuo de cadena lateral de un amino ácido que contiene moiety carboxil o el compuesto de la formula (1) puede también existir en la forma de una sal farmacéuticamente aceptable donde R¹ es un residuo de cadena lateral de un amino ácido que contiene moiety base

[112] R² representa –SAC SCAC Ar SAC Ar o un residuo de cadena lateral de todos los amino ácidos naturales y el compuesto de la formula (1) puede existir en una forma diastereomérica específica o mezclas de ellas cuando el carbono al cual R² está fijado se convierte en un estereocentro debido al grupo R² el compuesto de la formula (1) puede tener un grupo protector en la forma de un éster (CO R⁵ donde R⁵ es –SAC) o en forma de sulfonamida (CONHSO R⁶ donde R⁶ es –SAC) o puede existir en la forma de una sal farmacéuticamente aceptable donde R² es un residuo de cadena lateral de un amino ácido que contiene moiety carboxil o el compuesto de la formula (1) puede también existir en la forma de una sal farmacéuticamente aceptable donde R² es un residuo de

cadena lateral de un amino ácido que contiene moiety base R^2 representa adicionalmente $H (CH_2)_n OR^7$ donde R^7 es $-SAC$ $SCAC$ Ar o SAC Ar y $n=1$ o 2 o $-(CH_2)_n OC(=O)R^8$ donde R^8 es $-SAC$ $SCAC$ Ar o SAC Ar $n=1$ o 2

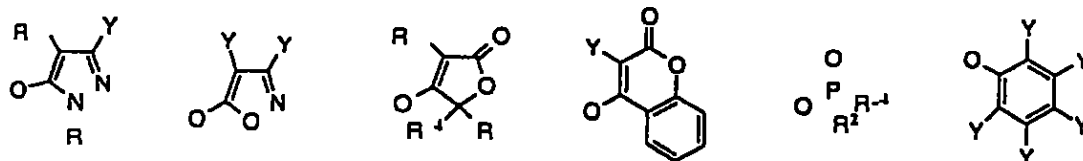
[114] IV) A representa $-(CH_2)_n - (n=0-4)$ O $(CH_2)_n - (n=0-4)$ o $-NR^9 (CH_2)_n - (n=0-4)$ donde R^9 es $-SAC$ $SCAC$ Ar o SAC Ar

[115] V) B representa $H -SAC$ $SCAC$ Ar o SAC Ar o

[118] VI) R y R^1 pueden formar conjuntamente un ciclo con el atomo de carbono al cual ellos están enlazados donde $-R R^1$ es $(CH_2)_n (CH_2)_n O (CH_2)_m$ o $(CH_2)_n -NR^{10} (CH_2)_m$ donde $n+m<9$ y R^{10} es $-SAC$ $SCAC$ Ar o SAC Ar $C(=O) sac$ $C(=O) SCAC$ $SCAC$ $C(=O) Ar$ o $-C(=O) SAC$ Ar

[120] VII) X representa $-C(=O)CH_2 OR^{11}$ es $-SAC$ $SCAC$ Ar o SAC Ar $-C(=O)CH_2 OC(=O)R^{12}$ donde R^{12} es $-SAC$ $SCAC$ Ar o SAC Ar $CH=CH CO_2 R^{13}$ donde R^{13} es $-SAC$ $SCAC$ Ar o SAC Ar $CH=CH SO_2 R^{14}$ donde R^{14} es $-SAC$ $SCAC$ Ar o SAC Ar $C(=O)CH=CH_2$ o $COCH_2 -W$ donde W es $-N_2$ F Cl Br I $NR^{15}R^{16}$ (R^{15} y R^{16} cada uno son $-SAC$ $SCAC$ Ar o SAC Ar o juntos pueden formar un grupo ciclico unsaturado o saturado de 3 a 6 miembros) SR^{17} (R^{17} es $-SAC$ $SCAC$ Ar o SAC Ar) o es la siguiente formula

[121]



[123] donde

[124] Y es H OH OR^{18} ($R^{18}= -SAC$ o $-SCAC$) $C(=O)R^{19}$ ($R^{19}= H -SAC$ o $SCAC$) F Cl Br I CN NC N_3 CO_2H CF_3 $CO R^{20}$ ($R^{20}= -SAC$ o $-SCAC$)

$C(=O)NHR^{21}$ ($R^{21} = -SAC$ o $-SCAC$) O $-C(=O)NR^{22}R^{23}$ (R^{22} Y R^{23} cada uno son $-SAC$ $-SCAC$ Ar o $-SAC$ Ar)

[125] R^{24} es H $-SAC$ $-SCAC$ o Ar

[127] Los compuestos preferidos entre los compuestos de la formula (1) anterior son aquellos donde

[128] R representa H

[129] R^1 representa $-CH_2COOH$ $-CH_2COOR^3$ ($R^3 = SAC$) o $-CH_2CONHSO_2R^4$ ($R^4 = SAC$)

[130] R^2 representa H $-SAC$ Ar o $(CH_2)_nOR^7$ ($R^7 = -SAC$ $-SCAC$ Ar o SAC Ar y $n = 1$ o 2) o

[131] X representa $-C(=O)CH_2OAr$ $-C(=O)CH_2OC(=O)Ar$ o $COCH_2-W$ donde W es $-N_2$ F Cl Br I $NR^{15}R^{16}$ (R^{15} y R^{16} cada uno son $-SAC$ $-SCAC$ Ar o SAC Ar o juntos pueden formar un grupo cíclico no saturado o saturado de 3 a 6 miembros) SR^{17} (R^{17} es $-SAC$ $-SCAC$ Ar o SAC Ar)

[133] Los compuestos mas preferidos dentro de los compuestos de la formula (1) de antes son aquellos donde

[134] R representa H

[135] II) R^1 representa $-CH_2COOH$ $-CH_2COOR^3$ ($R^3 = SAC$) o $-CH_2CONHSO_2R^4$ ($R^4 = SAC$)

[136] III) R^2 representa H $-SAC$ Ar o $(CH_2)_nOR^7$ ($R^7 = -SAC$ $-SCAC$ Ar o SAC Ar y $n = 1$ o 2)

[137] IV) A representa $-(CH_2)_n-$ ($n=0-4$) O $(CH_2)_n-$ ($n=0-4$)

[138] V) B representa H $-SAC$ $-SCAC$ Ar o SAC Ar

[139] VI) X representa $-COCH_2N_2$ $-COCH_2F$ $-COCH_2Cl$ $-COCH_2Br$ $-COCH_2I$ $-COCH_2OAr$ o $-COCH_2SR^{17}$ (R^{17} es $-SAC$ $-SCAC$ Ar o SAC Ar)

[141] Particularmente los compuestos preferidos son aquellos seleccionados de los siguientes grupos

[142] (1) ácido (3S)-5 [(2,6-diclorobenzil)oxi] 3-([5-metil-3-fenil-4,5-dihidro-5-isoxazolil]carbonil)amino)-4-oxopentanoico (Iaa)

[143] (2) ácido (3S)-3-([5-metil-3-fenil-4,5-dihidro-5-isoxazolil]carbonil)amino)-4-oxo-5-fenoxipentanoico (Ibb)

[144] (3) ácido (3S)-3-([5-etil-3-fenil-4,5-dihidro-5-isoxazolil]carbonil)amino)-4-oxo-5-(2,3,5,6-tetrafluorofenoxi)pentanoico (Icc)

[145] (4) ácido (3S)-3-([5-etil-3-(1-naftil)-4,5-dihidro-5-isoxazolil]carbonil)amino)-4-oxo-5-(2,3,5,6-tetrafluorofenoxi)pentanoico (Idd)

[146] (5) ácido (3S)-3-([5-etil-3-(2-naftil)-4,5-dihidro-5-isoxazolil]carbonil)amino)-4-oxo-5-(2,3,5,6-tetrafluorofenoxi)pentanoico (Iee)

[147] (6) ácido (3S)-3-([5-etil-3-(1-isoquinolinil)-4,5-dihidro-5-isoxazolil]carbonil)amino)-4-oxo-5-(2,3,5,6-tetrafluorofenoxi)pentanoico (Ifd)

[148] (7) ácido (3S)-3-([5-etil-3-(1-isoquinolinil)-4,5-dihidro-5-isoxazolil]carbonil)amino)-5-fluoro-4-oxopentanoico (Igg)

[149] (8) etil 3-([5-etil-3-(1-isoquinolinil)-4,5-dihidro-5-isoxazolil]carbonil)amino)-5-fluoro-4-oxopentanoato (Ihh)

[150] (9) ácido 5-fluoro-3-([(5R)-5-isopropil-3-(1-isoquinolinil)-4,5-dihidro-5-isoxazolil]carbonil)amino)-4-oxopentanoico (Iii)

[151] (10) ácido 3-([5-etil-3-(4-quinolinil)-4,5-dihidro-5-isoxazolil]carbonil)amino)-5-fluoro-4-oxopentanoico (Ijj)

[152] (11) ácido 3-([3-(benzotiofen-2-il)-5-etil-4,5-dihidro-5-isoxazolil]carbonil)amino)-5-fluoro-4-oxopentanoico (Ikk)

[153] (12) ácido (3S)-3-([3-(1,3-dimetil-1H-indol-2-il)-5-etil-4,5-dihidro-5-isoxazolil]carbonil)amino)-4-oxo-5-(2,3,5,6-tetrafluorofenoxi)pentanoico (III)

[154] (13) ácido 3-([3-(1,3-dimetil-1H-indol-2-il)-5-etil-4,5-dihidro-5-isoxazolil]carbonil)amino)-5-fluoro-4-oxopentanoico (Imm)

- [155] (14) ácido (3S)-3 ([5 etil 3 (1 naftilmetil)-4 5 dihidro 5 isoxazolil] carbonil)amino)-4 oxo 5 (2 3 5 6 tetrafluorofenoxi)pentanoico (lnn)
- [156] (15) ácido (3S)-5 [(2 6 diclorobenzoi)oxi] 3 ([5 etil 3 (2 naftil)etil]-4 5 dihidro 5 isoxazolil] carbonil)amino)-4-oxopentanoico (loo)
- [157] (16) ácido (3S) 3 ([5 etil 3 (1 naftiloxi)metil]-4 5 dihidro 5 isoxazolil] carbonil)amino)-4 oxo 5 (2 3 5 6 tetrafluorofenoxi)pentanoico (lpp)
- [158] (17) ácido (3S) 3 {[3 [(4 cloro 1 naftil)oxi]metil]-5 etil-4 5 dihidro 5 isoxazolil] carbonil)amino)-4 oxo 5 (2 3 5 6 tetrafluorofenoxi)pentanoico (lqq)
- [159] (18) ácido (3S 4E)-6 etoxi([5R) 5 isopropil 3 (1 isoquinolinil)-4 5 dihidro 5 isoxazolil] carbonil)amino) 6 oxo-4 hexenoico (lrr)
- [160] (19) ácido (3S 4E) 3 ([5R) 5 isopropil 3 (1 isoquinolinil)-4 5 dihidro 5 isoxazolil] carbonil)amino)-5 (metilsulfonil)-4 pentenoico (lss)
- [161] (20) ácido 5-fluoro-3 ([5R) 3 (1 isoquinolinil) propil-4 5-dihidro 5 isoxazolil] carbonil)amino)-4 oxopentanoico (lth)
- [162] (21) ácido 3 ([5S)-5 etil 3 (1 naftil)-4 5 dihidro 5 isoxazolil] carbonil)amino)-5 fluoro-4-oxopentanoico (luu)
- [163] (22) ácido 3 ([5S)-5 etil 3 (2 quinolinil)-4 5 dihidro 5 isoxazolil] carbonil)amino)-5 fluoro-4-oxopentanoico (lvv)
- [164] (23) ácido 3 ([5R)-5 etil 3 (3 isoquinolinil)-4 5 dihidro 5 isoxazolil] carbonil)amino)-5 fluoro-4-oxopentanoico (lww)
- [165] (24) ácido 3 ([5 etil 3 (8 quinolinil)-4 5 dihidro 5 isoxazolil] carbonil)amino) 5 fluoro-4-oxopentanoico (lxx)
- [166] (25) ácido 3 ([5 Etil 3 (3 quinolinil)-4 5 dihidro 5 isoxazolil]carbonil} amino) 5 fluoro-4-oxopentanoico (lyy)
- [167] (26) ácido 5 fluoro 3 ([5R)-5 isopropil 3 (2 quinolinil)-4 5 dihidro 5 isoxazolil] carbonil} amino)-4 oxopentanoico (lzz)
- [168] (27) ácido 3 ([5 Etil 3 (2 isopropilfenil)-4 5 dihidro 5 isoxazolil]carbonil} amino)-5 fluoro-4 oxopentanoico (laal)

[169] (28) ácido 3[{3 [3 (tert butil) fenil] 5 etil 4 5 dihidro 5 isoxazolil} carbonil) amino] 5 fluoro-4 oxopentanoico (laa2)

[170] (29) ácido 3 [{3 [4 (tert butil)fenil] 5 etil-4 5 dihidro 5 isoxazolil} carbonil) amino] 5 fluoro-4 oxopentanoico (laa3)

[171] (30) ácido 5 fluoro 3 ({(5R) 5 isopropil 3 (2 isopropilfenil)-4 5 dihidro 5 isoxazolil} carbonil) amino)-4-oxo pentanoico (laa4)

[172] (31) ácido 3 [{{{5R} 3 [3 (tert butil)fenil] 5 isopropil-4 5 dihidro 5 isoxazolil} carbonil)amino] 5 fluoro-4-oxopentanoico (laa5)

[173] (32) ácido 3 [{3 [1 1 bifenil] 3 il 5 isopropil-4 5 dihidro 5 isoxazolil} carbonil)amino} 5 fluoro-4 oxopentanoico (laa6)

[174] (33) ácido 3 ({[5 etil 3 (2 pindinil)-4 5 dihidro 5 isoxazolil]carbonil} amino) 5 fluoro-4 oxopentanoico (laa7)

[175] (34) ácido 3 [{3 [4 (tert butil) 2 pindinil] 5 etil-4 5 dihidro 5 isoxazolil} carbonil) amino] 5 fluoro-4 oxopentanoico (laa8)

[176] (35) ácido 3 [{{{5R}-3 [4 (tert butil) 2 pindinil] 5 isopropil-4 5 dihidro 5 isoxazolil}carbonil)amino] 5 fluoro-4 oxopentanoico (laa9)

[177] (36) ácido 3 ({[5 Etil 3 (4 isobutil 2 pindinil)-4 5 dihidro 5 isoxazolil} carbonil)amino)-5 fluoro-4-oxopentanoico (laa10)

[178] (37) ácido 3 ({[3 (4 acetil 2 pindinil) 5 etil-4 5 dihidro 5 isoxazolil} carbonil} amino) 5 fluoro-4 oxopentanoico (laa11)

[179] (38) ácido 3 ({[3 (4 ciclopropil 2 pindinil) 5 etil-4 5 dihidro 5 isoxazolil} carbonil)amino) 5 fluoro-4 oxopentanoico (laa12)

[180] (39) ácido 3 ({[3 (4 ciclopentil 2 pindinil) 5 etil-4 5 dihidro 5 isoxazolil]carbonil)amino)-5 fluoro-4 oxopentanoico (laa13)

[181] (40) ácido 3 [{{{5R}-3 (4 ciclopentil 2 pindinil) 5 isopropil-4 5 dihidro-5 isoxazolil}carbonil} amino) 5 fluoro-4-oxopentanoico (laa14)

[182] (41) ácido 3 ({[3 (4 ciclohexil 2 pindinil) 5 Etil-4 5 dihidro 5 isoxazolil} carbonil} amino) 5 fluoro-4 oxopentanoico (laa15)

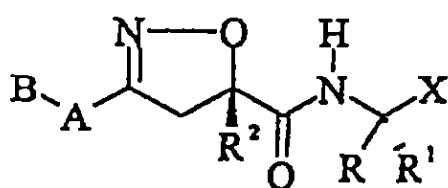
- [183] (42) ácido 3 ([[5 Etil 3 (5 6 7 8 tetrahidro-1 isoquinolinil)-4 5 dihidro 5 isoxazolil]carbonil]amino) 5 fluoro-4-oxopentanoico (laa16)
- [184] (43) ácido 5 fluoro 3 ([[5 isopropil 3 (4 fenil 2 pindinil)-4 5-dihidro 5 isoxazolil]carbonil]amino)-4 oxopentanoico (laa17)
- [185] (44) ácido (3S) 5 [(difenilfosforil)oxi] 3 ([[5R) 5 isopropil 3 (1 isoquinolinil)-4 5-dihidro 5 isoxazolil]carbonil]amino)-4 oxopentanoico (laa18)
- [186] (45) ácido (3S)-3 ([[5R)-5 isopropil 3 (1 isoquinolinil)-4 5 dihidro 5 isoxazolil]carbonil]amino)-4 oxo 5-[[1 fenil 3 (trifluorometil)-1H pirazol 5 il]oxi] pentanoico (laa19)
- [187] (46) ácido (3S) 5 [(4 bencil 5 oxo 2 5 dihidro-3 furanil)oxi] 3 ([[5R) 5 isopropil 3 (1 isoquinolinil)-4 5 dihidro 5 isoxazolil]carbonil]amino)-4 oxopentanoico (laa20)
- [188] (47) ácido (3S) 5 (isobutiriloxi) 3 ([[5R) 5 isopropil 3 (1 isoquinolinil)-4 5 dihidro 5 isoxazolil]carbonil]amino)-4 oxopentanoico (laa21)
- [189] (48) ácido (3S) 3 ([[5R) 5 isopropil 3 (1 isoquinolinil)-4 5 dihidro 5 isoxazolil]carbonil]amino)-4 oxo 5 hexenoico (laa22)
- [190] (49) ácido (3S) 3 ([[5R) 5 isopropil 3 (1 isoquinolinil)-4 5-dihidro 5 isoxazolil]carbonil]amino)-4 oxo 5 (2 pindiniloxi) pentanoico (laa23)
- [191] (50) ácido (3S) 3 ([5 etil 3 (2 isopropilfenil)-4 5 dihidro 5 isoxazolil]carbonil]amino)-4-oxo 5 (2 pindiniloxi) pentanoico (laa24)
- [192] (51) 2 [[(3S)-4 carboxi 3 ([[5R) 5 isopropil 3 (1 isoquinolinil)-4 5 dihidro 5 isoxazolil]carbonil]amino) 2 oxobutil]oxi]-1 metilpindiniumtrifluorometanosulfonato (laa25)
- [193] (52) 2 [[(3S)-4 carboxi 3 ([5 etil 3 (2 isopropilfenil)-4 5 dihidro 5 isoxazolil]carbonil]amino) 2-oxobutil]oxi]-1 metilpindinium trifluorometanosulfonato (laa26)
- [194] (53) ácido 3 1[3 (5 cloro 1 metil 1H indol 2 il) 5 isopropil-4 5 dihidro 5 isoxazolil]carbonil]amino)-5 fluoro-4 oxopentanoico (laa27)

[195] (54) ácido 3 ([[3 (1 5 dimetil 1H indol 2 il) 5 isopropil-4 5 dihidro 5 isoxazolil] carbonil]amino) 5 fluoro-4 oxopentanoico (Iaa28) y

[196] (55) ácido (3S) 5 fluoro 3 ([[[(5R) 5 isopropil 3 (1 isoquinolinil)-4 5 dihidro 5 isoxazolil] carbonil]amino)-4 oxopentanoico (Iii 1)

[198] El compuesto de la formula (1) de acuerdo a la presente invencion tiene átomos de carbono asimétricos y así puede existir en su forma estereoisomérica incluyendo la diastereoma Los compuestos particularmente preferidos entre los estereoisómeros están aquellos que tienen la formula (1 a)

[199]



[200] (1 a)

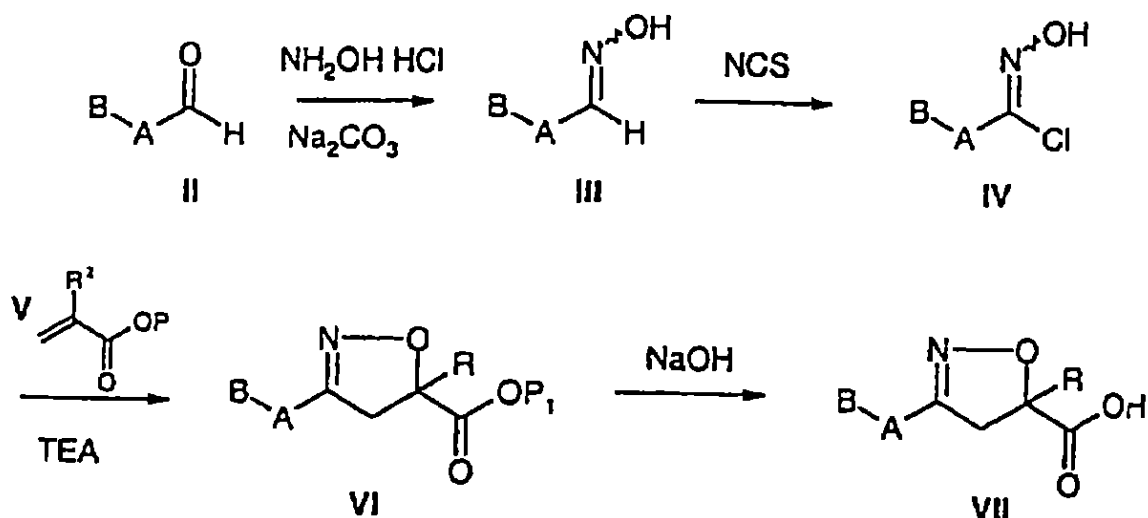
[202] y así es otro objetivo de la presente invención el proveer el compuesto de la formula (1 a) en la forma estereoisomérica

[204] Entre los compuestos de la formula (1 a) por ejemplo los compuestos de ácido (3S)-5 fluoro 3 ([[[(5R) 5 isopropil 3 (1 isoquinolinil)-4 5 dihidro 5 isoxazolil] carbonil]amino)-4 oxopentanoico (Iii 1) pueden ser obtenidos por un proceso que comprende los pasos de disolver una mezcla de (3S) y (3R) en metil t butil eter adicionando una pequeña cantidad de ácido (3S)- 5 fluoro 3 ([[[(5R) 5 isopropil 3 (1 isoquinolinil)-4 5 dihidro 5 isoxazolil] carbonil]amino)-4 oxopentanoico cristalino como material semilla para obtener un cristal y recrystalizando este cristal a partir de un sistema solvente de etil acetato/n hexano

[206] Los compuestos mas prefendos entre los compuestos de la formula (1) y (1a) están ácido 5-fluoro 3 ([[5R]-5 isopropil 3 (1 isoquinolinil)-4 5 dihidro 5-isoxazolil] carbonil)amino)-4 oxopentatoico (Iii) y ácido (3S)-5 fluoro3 ([[5R)-5 isopropil 3 (1 isoquinolinil)-4 5-dihidro 5 isoxazolil]carbonil)amino)-4 oxopentatoico (Iii 1)

[208] El proceso para la preparación del novel derivado de isoxazolina de la formula (1) que muestra una capacidad inhibitoria contra las caspasas son ilustrados en los Esquemas de Reacción 1 a 5 Sin embargo esos ilustrados en los siguientes Esquemas de Reacción representan solo procesos típicos usados en la presente invención El orden de manipulación puede ser cambiado sin limites y así los procesos no están restringidos a aquellos explicados abajo

[210] Esquema de Reacción 1



[212] en el cual

[213] A B y R² son definidos como se describieron arriba y

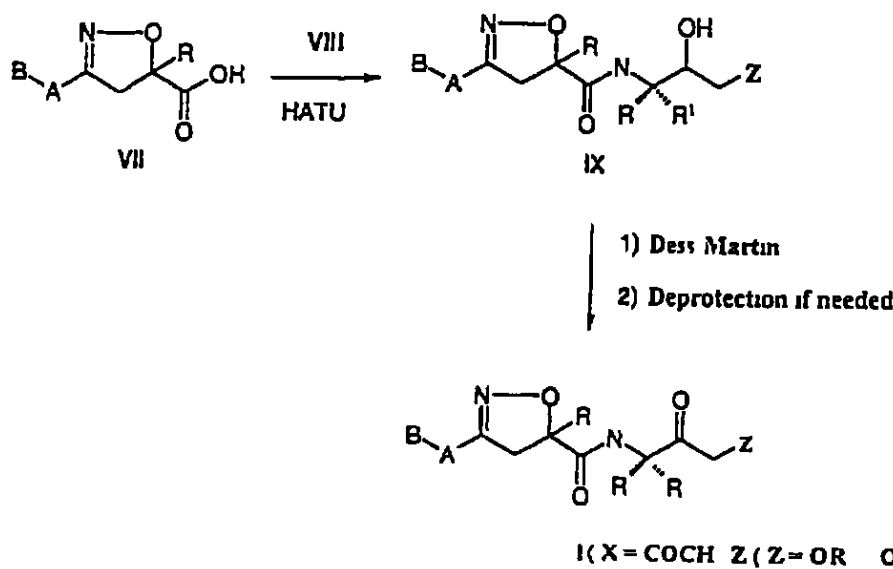
[214] P¹ representa la cadena alquil simple

[216] En el Esquema de Reacción I anterior un derivado de aldehído (II) es reaccionado con Clorhidrato de oxilamina y carbonato de sodio en una mezcla

solvente de alcohol agua para dar un derivado de cloruro de hidroxamilo (IV) Así obtenido el cloruro de hidroxamilo (IV) es reaccionado con un derivado de acrilato (V) para dar un derivado de isoxazolina (VI) el cual es luego hidrolizado si se necesita para obtener un derivado de isoxazolina (VII) desprotegido Si es apropiado el derivado de oxima (III) el derivado de acrilato (V) y NaOCl pueden reaccionar juntos en un tanque de reacción (in situ) para obtener directamente el derivado de isoxazolina (VI) (ver preparaciones 16 y 17)

[218] Esquema de Reaccion 2

[219]



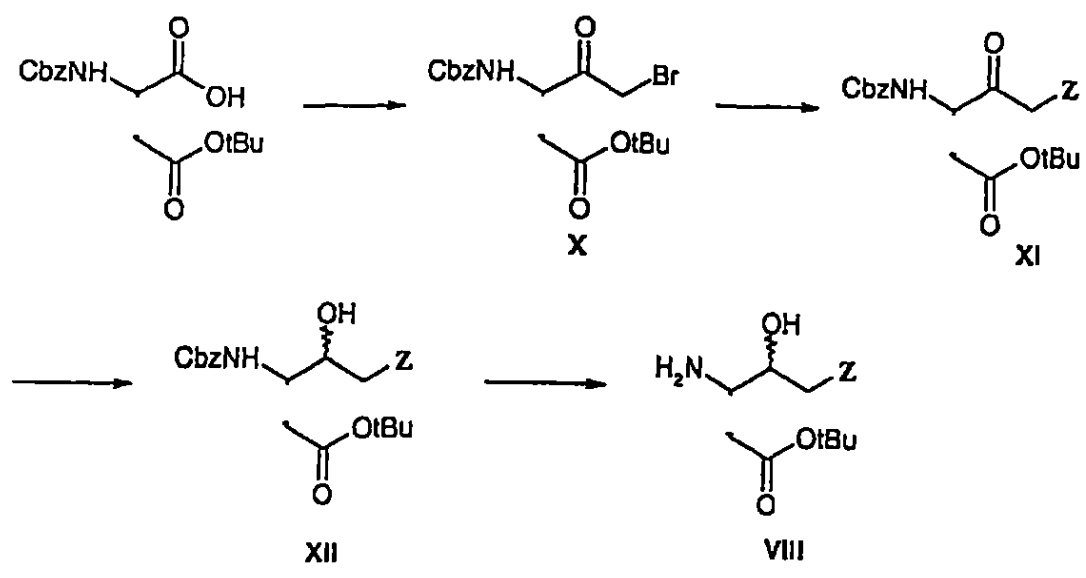
[220] en el cual A B R R¹ R² R¹¹ R¹² Y W son definidos como se describieron arriba

[222] En el Esquema de Reacción 2 anterior un derivado de ácido carboxílico (VII) es acoplado con un derivado de ácido aspartico (VIII) (ver el Esquema de Reacción 3 siguiente) para dar el compuesto (IX) el cual es luego sometido a una reacción de oxidación periodinanae Dess Martin si se necesita para obtener el compuesto deseado de la formula (1)

[224] El grupo funcional Z en el compuesto (I) del Esquema de Reacción 2 puede ser formado a través de varios pasos como se ejemplifica en las preparaciones siguientes 5 y 7 después que el compuesto de ácido carboxílico (VII) en el lado izquierdo es combinado con ácido aspártico (β t Bu) metilester. De otra manera como se ilustra en el Esquema de Reacción 3 el compuesto (VIII) que ya contiene el deseado Z es sintetizado primero y acoplado con el compuesto (VII) (Ref WO 00/23421). Además cuando W es F el compuesto racémico puede ser preparado de acuerdo a un método conocido en *Tetrahedron Letters* 1994 35(52) 9693 9696

[226] Esquema de Reacción 3

[227]



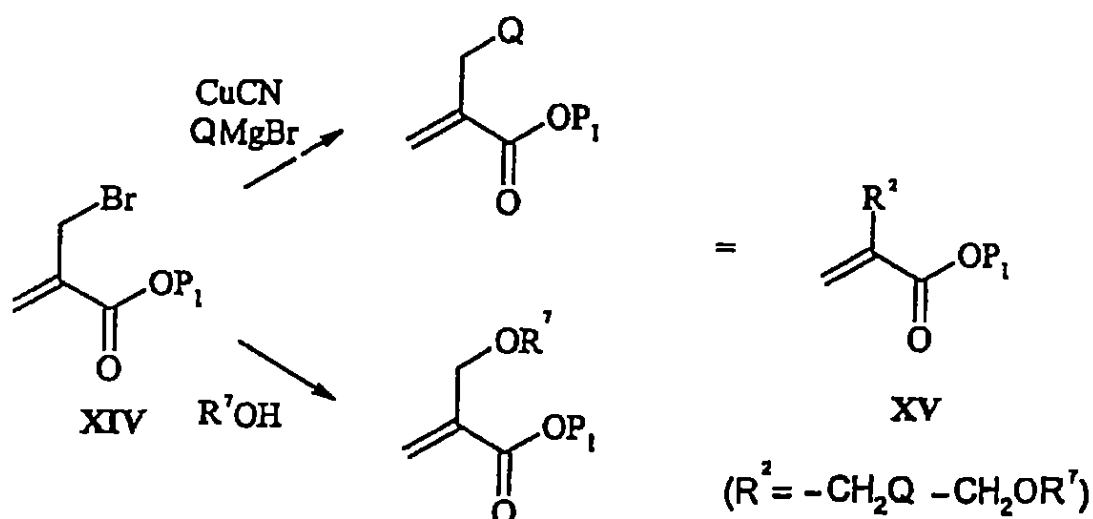
[228] en el cual Z es definido como se describio arriba

[230] El derivado de acrilato (V) usado como un reactivo en el Esquema de Reaccion 1 de arriba puede ser preparado por dos (2) rutas. Es decir un compuesto (XV) puede ser fácilmente preparado a partir de un compuesto conocido (XIV) (*Synthesis* 1982 p 924) como se ilustra en el Esquema de Reacción 4 siguiente o metil(etil) 2 i propilacrilato el compuesto (V) puede ser

preparado a partir de dimetil(dietyl)malonato (*J Chemical Society Perkin Tmas* 1
1997 1559 1570)

[232] Esquema de Reacción 4

[233]

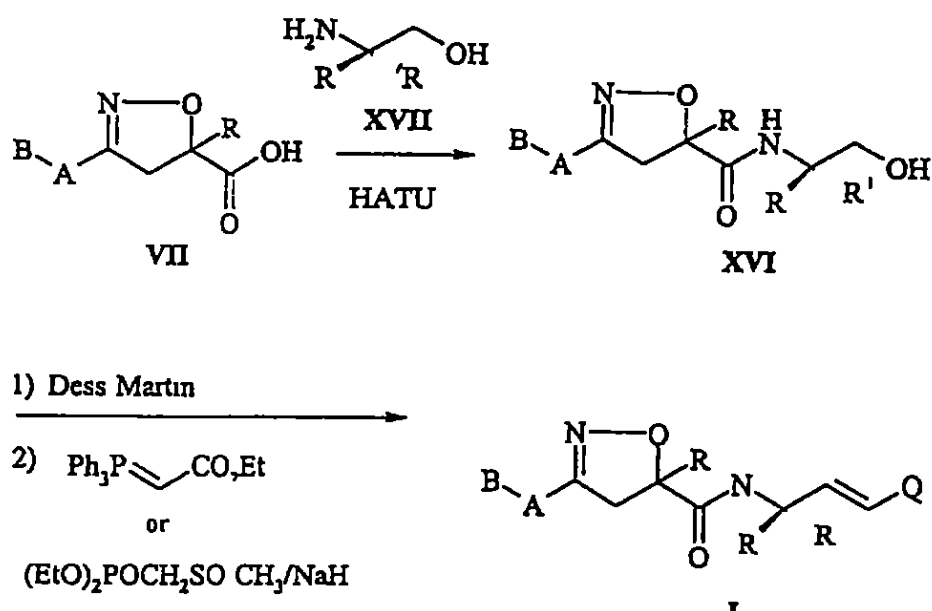


[234] en el cual P_1 y R^2 son como se definieron arriba

[235] El siguiente Esquema de Reaccion 5 muestra un proceso sintético para preparar un compuesto donde ester no saturado $\alpha\beta$ o sulfon $\alpha\beta$ –saturado es introducido dentro del sitio P_1 . De acuerdo con esto el derivado de ácido carboxílico (VII) preparado como en el Esquema de Reaccion 1 es reaccionado con un derivado de alcohol amino (XVII) para dar el compuesto (XVI) el cual es luego sometido a una oxidación Dess Martin y reacciones Wittig para dar el compuesto (I)

[238] Esquema de Reacción 5

[239]



3) Desprotección si se necesita

[240] en la cual

[241] R A B R¹ y R² son definidas como se describe arriba y

[242] Q representa $-\text{CO}_2\text{R}^{13}$ o SO_2R^{14} donde R¹³ y R¹⁴ son definidos como se describio arriba

[244] El compuesto de formula (1) de acuerdo a la presente invención tiene un espectro amplio de actividad inhibitoria contra caspasas como se demuestra por los resultados de los ejemplos siguientes y así tiene un capacidad para prevenir inflamación y apoptosis Así la presente invención provee una composición para inhibir caspasas específicamente una composicion farmacéutica para prevenir inflamacion y apoptosis que incluye el compuesto de la formula (1) como un ingrediente activo conjuntamente con un vehículo farmacéuticamente aceptable Especificamente la composición de la presente invencion tiene un efecto terapéutico para demencia derrame cerebral dano cerebral debido a AIDS diabetes ulcera gástrica lesión cerebral por hepatitis enfermedades hepáticas inducidas por la hepatitis falla fulminante hepática cirrosis del higado sepsis rechazo de transplante de órgano artritis reumatica o apoptosis de celulas

cardiacas debido a isquemia cardiaca particular y especialmente para hepatitis aguda cirrosis del hígado o artritis reumática

[246] El inhibidor de caspasa particularmente el compuesto de la formula (1) puede ser formulado en varias formas farmacéuticas para su administración Para preparar la composición farmacéutica de acuerdo a la presente invención una cantidad efectiva de inhibidor de caspasa particularmente del compuesto de la formula (1) o su sal es mezclado con un vehiculo farmacéuticamente aceptable que puede tener una variedad de formas dependiendo de la preparacion a ser elaborada

[248] El inhibidor de caspasa puede ser formulado como una inyección parenteral o percutanea o preparación oral dependiendo del proposito de su aplicación Es especialmente ventajoso formular la composición en una forma de dosis unitaria para facilidad de administración y uniformidad de la dosificación

[250] Para la preparación oral cualquier vehículo farmaceutico puede ser usado Por ejemplo agua glicol aceites alcoholes y similares pueden ser usados para preparaciones líquidas orales como suspensiones jarabes elixires y soluciones o almidones azucares caolin lubricantes fijadores agentes desintegrantes y similares pueden ser usados para las preparaciones solidas como polvos píldoras cápsulas y tabletas Debido a su facilidad de administración las tabletas y cápsulas son las mas ventajosas formas de dosificación unitaria También es deseable para las tabletas y píldoras que sean formuladas en preparaciones con cubierta entérica

[252] Para la preparación parenteral agua destilada es usualmente usada como vehiculo aunque otros ingredientes tales como ayudantes de solubilidad pueden ser usados Las inyecciones por ejemplo soluciones acuosas esterilizadas o

suspensiones de aceite para inyección pueden ser preparadas de acuerdo al procedimiento conocido usando un agente dispersante adecuado un agente humectante o un agente suspensor Los solventes que pueden ser usados para preparar las inyecciones incluyen agua fluido de Ringer y solución de NaCl isotónica y también aceite fijador esterilizado puede ser convenientemente usado como el solvente o el medio de suspensión Cualquier aceite fijador no estimulante incluyendo mono di glicerida puede ser usado para este propósito Ácido graso tal como el ácido oleico puede también ser usado para inyecciones

[254] Para la administración percutánea el vehículo puede incluir un agente incrementador de la penetración y/o un agente de humedecimiento adecuado opcionalmente combinado con aditivos adecuados que no causan una irritación de la piel significativa Tales aditivos pueden facilitar la administración a través de la piel y/o pueden asistir la preparación de la composición deseada Estas preparaciones percutaneas son administradas de varias maneras por ejemplo como un parche transdermal un aplicación local o una crema

[256] Cuando el inhibidor de caspasa específicamente el compuesto de la fórmula (1) es usado para propósitos clínicos es preferiblemente administrada al paciente en una cantidad que varía de 0.1 a 100 mg por kg de peso por día La dosis diaria total puede ser administrada una vez o en varias oportunidades Sin embargo las dosis de administración específicas para un paciente pueden ser variadas con el compuesto específico que se usa el peso del cuerpo el sexo la condición higiénica o la dieta del paciente el tiempo o método de administración razón de excretion razón de mezclado del agente severidad de la enfermedad tratada etc

[258] La presente invención será más específicamente explicada por los siguientes ejemplos Sin embargo debe entenderse que estos ejemplos solo

buscan ilustrar la presente invención y en manera alguna limitan el alcance de la presente invención

[260] Preparación 1

[261] Benzaldehído Oxima

[262] Benzaldehído (5.31 g 50 mmol) fue disuelto en etanol (60 ml) agua (30 ml) y clorhidrato de hidroxilamina (5.21 g 1.5 Eq) y un carbonato de sodio anhidro (Na_2CO_3 3.97 g 0.75 Eq) fue adicionado a ellos a 0 °C. Cuando una gran cantidad de sólido se formó después de cerca de un minuto, agua etanol (1:1 60 ml) fue adicionada y la mezcla fue agitada durante una hora. Solución acuosa de cloruro de sodio (100 ml) fue adicionada y la mezcla fue extraída dos veces con etil acetato (300 ml). El extracto fue lavado con solución acuosa de bicarbonato de sodio 1.0 N (Na_2CO_3 100 ml x 2), secado (Na_2SO_4 anhidrido) y concentrado bajo presión reducida para obtener el compuesto del título (6.06 g, rendimiento 99%) como un polvo blanco como una mezcla de *cis* y *trans*.

[264] ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ 8.9 (br, 1H), 8.1 (s, 1H), 7.5 (m, 2H), 7.3 (m, 3H).

[266] Preparación 2

[267] Cloruro de benzaldehído hidroxamoi

[268] La oxima preparada en la preparación 1 (3.00 g 24.8 mmol) fue disuelta en dimetil formamida (100 ml) y N clorosuccinimida (3.47 g 1.05 Eq) fue adicionada. La solución resultante fue agitada por una hora en un baño de agua a cerca de 40 °C y el solvente volátil fue removido por destilación bajo presión reducida. El residuo fue disuelto en etil acetato hexano (1:1 150 ml), lavado con agua (100 ml x 3), secado (Na_2SO_4 anhidrido) y concentrado bajo presión reducida para dar el compuesto del título (3.86 g, rendimiento 99%). Este compuesto fue usado en la siguiente reacción sin purificación adicional.

[270] Preparación 3

[271] Metil 5-metil-3 fenil-4 5-dihidro 5 isoxazolecarboxilato (VIa)

[272] el cloruro de hidroxamoiil preparado en la Preparación 2 (3 86 g 24 8 mmol) y metil metacrilato (4 0 ml 37 3 mmol 1 5 Eq) fueron disueltos en dietileter seco (120 ml) bajo atmósfera de nitrógeno la mezcla fue mantenida a – 78 °C y trietilamina (6 9 ml 2 0 Eq) fue adicionada La mezcla se revolvió durante la noche a la vez que iba siendo calentada lentamente hasta temperatura ambiente Agua (100 ml) fue adicionada y luego la mezcla fue extraída con etil acetato (100 ml x2) lavada con agua (100 ml) secada (Na₂SO₄ anhidrido) y concentrada bajo presion reducida El residuo fue punificado por cromatografía de columna (15 % etil acetato hexano) para dar el compuesto del titulo (5 34 g rendimiento 98%) el cual fue luego identificado por ¹ H NMR como una mezcal 1 1 de diastereómeros

[274] ¹ H NMR (400 MHz CDCl₃) δ 6 7(m 2H) 6 5 (m 3H) 3 0(d J=16 7 Hz 1H) 2 9 (s 3H) 2 3 (d J=16 7 Hz 1H) 0 8 (s 3H)

[276] Preparacion 4

[277] Acido 5-metil 3 fenil-4 5-dihidro-5 isoxazolecarboxílico (VIIa)

[278] El compuesto preparado en la Preparación 3 (VI a 5 34 g) fue disuelto en tetrahidrofuran destilado (120 ml) y solución acuosa de hidróxido de sodio 1N (36 5 ml 1 5 Eq) fue adicionada Después de cuatro horas la mezcla fue neutralizada con solución acuosa de ácido clorhídrico y destilada bajo presion reducida para remover la mayoria del tetrahidrofuran El residuo fue disuelto en exceso de etil acetato (>700 ml) lavado con agua secado (Na₂SO₄ anhidrido) y concentrado bajo presión reducida para obtener el compuesto del título (4 77 g rendimiento 95%) como un polvo blanco Este compuesto fue usado en la siguiente reacción sin mas purificación

[280] Preparación 5

[281] 2,6-diclorobenzato de (3S)-3-(((benciloxi)carbonil)amino)-5-(t-butoxi)-2-hidroxi-5-oxopentil (XII a)

[282] Al ácido N-benciloxicarbonil-β-t-butilaspártico (5.03 g, 15.6 mmol) y NMN (1.90 ml, 17.1 mmol) fue adicionado tetrahidrofuran seco (60 ml) bajo atmósfera de nitrógeno la mezcla fue mantenida a -15 °C y cloroformato de isobutil (2.12 ml, 16.3 mmol) fue adicionado allí. La mezcla fue agitada por cerca de 20 minutos. A la mezcla de reacción mantenida a 0 °C fue adicionada solución de diazometano eter (sintetizada de 2.0 Eq de 1-metil-3-nitro-1-nitroso-guadinina, 60 ml) para preparar el derivado de diazocetona (~30 minutos). 30% HBr/AcOH (6.42 ml, 2.0 Eq) fue adicionado allí a 0 °C. La mezcla resultante fue agitada (30 – 60 minutos), extraída con etil acetato, lavada dos veces con solución acuosa de bicarbonato de sodio saturada y una vez con solución acuosa de cloruro de sodio, secado (Na_2SO_4 anhidrido) y concentrado bajo presión reducida para obtener derivado de bromometil cetona (X, 6.4 g).

[284] El así obtenido derivado de bromometil cetona (X, 4.36 g) y ácido 2,6-diclorobenzoico (2.28 g, 1.1 Eq) fueron disueltos en dimetilformamida (18 ml). KF (1.58 g, 2.5 Eq) fue adicionado y la mezcla fue agitada por dos horas para dar derivado de 2,6-diclorobenzoiloximetil cetona (XI a). Este compuesto fue disuelto en metanol (20 ml) y reaccionado por la adición de NaBH_4 (412 mg)- solución de metanol (40 ml) (10 °C~temperatura ambiente, dos horas). La reacción fue parada con ácido acético y la solución de reacción fue destilada bajo presión reducida para remover el metanol. El residuo fue extraído con etil acetato (50 ml x 2), lavado con agua y solución acuosa de cloruro de sodio, secado (Na_2SO_4 anhidrido) y concentrado bajo presión reducida y separado por cromatografía de columna (etil acetato-hexano 1:5) para dar el compuesto del título (4.80 g, rendimiento 86 %) en una forma diastereomérica.

[286] ^1H NMR (400 MHz CDCl_3) δ 7.372(m 8H) 5.9 (m 1H) 5.2(m 4H) 4.7 (m 1H) 2.9 (m 1H) 2.7 (m 1H) 1.4 (s 9H)

[288] **Preparación 5**

[289] **2,6-diclorobenzoato de (3S)-3-amino-5-(t-butoxi)-2-hidroxi-5-oxopentil (VIII a)**

[290] El grupo benciloxicarbonil del compuesto preparado en la Preparación 5 fue removido (Pd/C) bajo balón de hidrógeno por 40 minutos para dar el compuesto del título (rendimiento 100%)

[292] ^1H NMR (400 MHz $\text{DMSO}-d_6$) δ 8.2(br 2H) 7.675 (m 3H) 6.1(m 1H) 4.439 (m 3H) 3.0–2.6 (m 2H) 1.4 (s 9H)

[294] **Ejemplo 1**

[289] **(3S)-5-(t-butoxi)-3-(((5-metil-3-fenil-4,5-dihidro-5-isoxazolil)-carbonil)amino)-2,5-dioxopentil-2,6-diclorobenzoato (I a)**

[296] Una mezcla de derivado de ácido carboxílico preparado en la preparación 4 (VIIa 300 mg 1.46 mmol) el derivado de alcohol amino preparado en la Preparación 6 (VIII a 667 mg 1.1 Eq) y HATU (722 mg 1.3 Eq) fue enfriada a 0 °C trietilamina (0.82 ml 4.0 Eq) fue adicionada en un solvente de DMF (5 ml) y la mezcla resultante fue reaccionado durante 5 horas. El solvente fue destilado bajo presión reducida y el residuo fue extraído con etil acetato (200 ml x 2) lavado con agua solución acuosa de bicarbonato de sodio y solución acuosa de cloruro de sodio secado (Na_2SO_4 anhidro) y concentrado bajo presión reducida y purificado por cromatografía de columna para dar el compuesto (IX a) (810 mg rendimiento 98%). A este compuesto y reagente Dess Martin (1.70 g 3.0 Eq) fue adicionado diclorometano seco (25 ml) y la mezcla fue agitada por una hora a

temperatura ambiente La reacción fue parada por alcohol isopropil (30 ml) El solido fue removido por filtración bajo presión reducida a través de Celita y el filtrado fue extraído con etil acetato (20 ml x 2) lavado con agua solución acuosa de bicarbonato de sodio saturada y solución acuosa de cloruro de sodio secado (Na_2SO_4 anhidrido) y concentrado bajo presión reducida y preliminarmente purificado por cromatografía de columna (36 % etil acetato hexano) para dar el compuesto del título diastereomérico (780 mg)

[298] ^1H NMR (400 MHz CDCl_3) δ 7.8(m NH 1H) 7.6(m 2H) 7.3(m 3H) 7.2 (m 3H) 5.1-5.0 (m 2H) 4.8 (m 1H) 3.8 (m 1H)) 3.2 (m 1H)) 2.9 – 2.8 (m 2H) 1.7 (s 3H) 1.4 (s 9H)

[300] **Ejemplo 2**

[301] **Ácido (3S)-5 [2,6-diclorobenzoyloxy]-3-[[[(5 metil-3 fenil-4,5-dihidro-5 isoxazolil)carbonil]amino]-4-oxopentanoico (Iaa)**

[302] El compuesto preparado en el Ejemplo 1 (44 mg) fue disuelto en diclorometano (2 ml) y ácido trifluoroacético (1 ml) fue adicionado a 0 °C La mezcla fue agitada por dos horas mientras lentamente se calentaba a la temperatura ambiente y luego concentrada bajo presión reducida para dar el compuesto del título (Iaa) en una cantidad estequiométrica

[304] ^1H NMR (500 MHz CDCl_3) δ 8.1(m 1H) 7.5(m 2H) 7.3(m 3H) 7.2 (m 3H) 5.1-4.9 (m 2H) 4.9-4.8 (m 1H) 3.8 (m 1H)) 3.2 (m 1H)) 1.7 (m 3H)

[306] **Preparación 7**

[307] **t Butil (3S)-3-amino-4 hidroxí-5 fenoxipentanoato (VIII b)**

[308] Al ácido N benciloxycarbonil β t butilaspartico (10.0 g 31 mmol) y NMN (3.75 ml 11 mmol) fue adicionado tetrahidrofuran seco (120 ml) bajo atmósfera de

nitrogeno la mezcla fue mantenida a -15°C Clorofornato de isobutil (4.22 ml 1.05 mmol) fue adicionado allí. La mezcla fue agitada por cerca de 20 minutos. Los reactantes fueron mantenidos a 0°C los cuales fueron luego mezclados con solución de diazometano eter (sintetizada de 2.0 Eq de 1 metil 3 nitro 1 nitroso guanidina 60 ml) para preparar el derivado de diazoketona (~ 30 minutos). 30% HBr/AcOH (12.83 ml 2.0 Eq) fue adicionado para obtener derivado de bromometil ketona (30 – 60 minutos). El producto fue extraído con etil acetato lavado dos veces con solución acuosa de bicarbonato de sodio y solución acuosa de cloruro de sodio secado (Na_2SO_4 anhidrido) y concentrado bajo presión reducida para obtener derivado de bromometil ketona (12.9 g) en una cantidad estequiométrica.

[310] El así obtenido derivado de bromometil ketona (X 12.9 g 31.0 mmol) y fenol (3.23 g 1.2 Eq) fueron disueltos en dimetilformamida (30 ml). KF (4.53 g 2.5 Eq) fue adicionado y la mezcla fue agitada por dos horas para dar derivado de fenoximetil ketona (XI b). Este compuesto fue disuelto en metanol (20 ml) y reaccionado por la adición de NaBH_4 (412 mg)- solución de metanol (40 ml) –THF (100 ml) y fue reaccionado por la adición de NaBH_4 (2.35 g)- solución de metanol (40 ml) (10°C – temperatura ambiente dos horas). La reacción fue parada con ácido acético y la mezcla de reacción fue destilada bajo presión reducida para remover el metanol. El residuo fue extraído con etil acetato (50 ml x 2) lavado con agua y solución acuosa de cloruro de sodio secado (Na_2SO_4 anhidrido) y concentrado bajo presión reducida y separado purificado por cromatografía de columna (etil acetato hexano 1/7) para dar el compuesto del título (XIb 6.50 g rendimiento 50 %) en una forma diastereomérica del cual el grupo amino es protegido por benciloxycarbonil.

[312] ^1H NMR (400 MHz CDCl_3) δ 7.372 (m 1H) 5.9 (m 2H) 5.2 (m 4H) 4.7 (m 1H)) 2.9 (m 1H)) 2.7 (m 1H) 1.4 (s 9H)

[314] El grupo benciloxicarbonil del compuesto obtenido arriba fue removido (Pd/C) bajo balón de hidrógeno para dar el compuesto del título (4.16 g, rendimiento 95%)

[316] ^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ 8.1 (br, 2H), 7.3 (m, 5H), 5.6 (m, 1H), 4.1–4.0 (m, 3H), 2.6 (m, 2H), 1.4 (s, 9H)

[318] Ejemplo 3

[319] **t Butil (3S)-3-[[[(5 metil-3 fenil-4,5-dihidro-5 isoxazolil)carbonil]amino]4-oxo-5 fenoxipentanoato (I b)**

[320] Una mezcla de derivado de ácido carboxílico preparado en la Preparación 4 (VII a, 273 mg, 1.3 mmol) el derivado de alcohol amino preparado en la Preparación 7 (VIIIb, 412 mg, 1.1 Eq) y HATU (657 mg, 1.3 Eq) fue enfriada a 0 °C. Trietilamina (0.74 ml, 4.0 Eq) fue adicionada en un solvente de DMF (5 ml) y la mezcla resultante fue reaccionado durante 5 horas. El solvente fue destilado bajo presión reducida y el residuo fue extraído con etil acetato (200 ml x 2), lavado con agua, solución acuosa de bicarbonato de sodio y solución acuosa de cloruro de sodio, secado (Na_2SO_4 anhidrido) y concentrado bajo presión reducida y purificado por cromatografía de columna (30–40 % EA/Hex) para dar el compuesto (IX b) (545 mg, rendimiento 88%). A este compuesto y reagente Dess Martin (1.43 g, 3.0 Eq) fue adicionado diclorometano seco (25 ml) y la mezcla fue agitada por una hora a temperatura ambiente. La reacción fue parada por alcohol isopropil (2 ml). El sólido fue removido por filtración bajo presión reducida a través de Celita y el filtrado fue extraído con etil acetato (20 ml x 2), lavado con agua, solución acuosa de bicarbonato de sodio saturada y solución acuosa de cloruro de sodio, secado (Na_2SO_4 anhidrido) y concentrado bajo presión reducida y preliminarmente purificado por cromatografía de columna (extractor 25 % etil acetato hexano) para dar el compuesto del título diastereomérico (540 mg, rendimiento 99%).

[322] ^1H NMR (400 MHz CDCl_3) δ 7.8 (NH 1H) 7.5 (m 2H) 7.3 (m 3H) 7.3 (m 3H) 7.1 (m 1H) 6.8 (m 2H) 6.7 (m 1H) 4.9 (s 1H) 4.7-4.6 (m 2H) 3.7 (d $J=17$ Hz 1H) 3.2 (d $J=17$ Hz 1H) 2.9 (m 1H) 2.8 (m 1H) 1.7 (s 3H) 1.4 (s 9H)

[324] **Ejemplo 4**

[325] **Acido (3S)-3 ({[5 metil-3 fenil-4,5-dihidro-5 isoxazolil]carbonil}amino) 4-oxo 5 fenoxipentatoico (Ibb)**

[326] El compuesto preparado en el Ejemplo 3 (530 mg 1.136 mmol) fue disuelto en diclorometano (6 ml) y ácido trifluoroacético (3 ml) fue adicionado a 0 °C. La mezcla fue agitada por dos horas mientras fue lentamente calentada a la temperatura ambiente y concentrada bajo presión reducida para dar el compuesto del título (Ibb) (465 mg) con un rendimiento estequiométrico.

[327] ^1H NMR (400 MHz CDCl_3) δ 7.5 (m 2H) 7.3 (m 3H) 7.1 (NH 1H) 6.7 (m 5H) 5.0-4.6 (m 2H) 4.2 (m 1H) 3.8 (m 1H) 3.2 (m 1H) 3.0-2.7 (m 2H) 1.6 (s 3H)

[330] **Ejemplo 8**

[321] **Etil 2 etilacrilato (XVb)**

[332] A CuCN (26.9 g secado previamente bajo vacío) fue adicionado bajo atmósfera de nitrógeno cerca de 500 ml de tetrahidrofuran. La mezcla fue mantenida a -78°C y 100 ml de bromuro de magnesio metil (3.0 M solución de dietileter) le fue lentamente adicionada bajo agitación mecánica. La mezcla espesa fue agitada por cerca de 30 minutos a -78°C . Etil 2 bromometilacrilato (28.9 g 15 mmol Método sintético Villieras J and Rambaund M Synthesis 1982 914) disuelto en cerca de 30 ml de tetrahidrofuran seco le fue lentamente adicionado. La temperatura de reacción de la mezcla fue lentamente elevada hasta temperatura ambiente en dos horas. La reacción fue completada por la adición lenta de solución de cloruro de amonio saturada (~50 ml). La mezcla de reacción

fue filtrada a través de Celita para remover los precipitados y luego lavada con dietileter. La capa orgánica fue lavada con agua y solución de bicarbonato de sodio saturada (300 ml x 2), secado (Na_2SO_4 anhidro) y concentrado bajo presión reducida para dar 26.7 g (rendimiento estequiométrico) de un líquido transparente. Este líquido fue identificado por ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) y fue confirmado como el compuesto del título con un 75 % w/w de pureza.

[334] ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ 6.12 (1H, s), 5.50 (1H, s), 4.2 (2H, q, $J=7.3$ Hz), 2.31 (2H, qt), 1.28 (3H, t, $J=7.3$ Hz), 1.07 (3H, t, $J=7.8$ Hz).

[336] Preparación 9

[337] Etil 5-etil-3-fenil-4,5-dihidro-5-isoxazolecarboxilato (Vib)

[338] El compuesto de la preparación 8 (XV a) fue reaccionado de acuerdo al mismo procedimiento de la Preparación 3 para dar el compuesto del título.

[339] ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 7.6 (m, 2H), 7.4-7.3 (m, 3H), 4.3-4.2 (m, 2H), 3.4-3.0 (d, $J=17.2$ Hz, 1H), 3.4 (d, $J=17.2$ Hz, 1H), 2.1-2.0 (m, 2H), 1.3 (t, 3H), 1.0 (t, 3H).

[342] Preparación 10

[343] t-Butil (3S)-3-amino-4-hidroxi-5-(2,3,5,6-tetrafluorofenoxi)-4-oxo-5-fenoxipentanoato (VIII c)

[344] 2,3,5,6-Tetrafluorofenol fue reaccionado de acuerdo al mismo procedimiento de las Preparaciones 5 y 6 para dar el compuesto del título con un rendimiento total del 72 %.

[346] ^1H NMR (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 8.2 (br, 2H), 7.6-7.5 (m, 1H), 5.9 (m, 1H), 4.3-4.1 (m, 3H), 3.6 (m, 1H), 2.7 (m, 1H), 1.4 (s, 9H).

[348] Ejemplo 5

[349] **1 Butil-(3S) 3 ({[5-etil-3 fenil-4 5-dihidro 5 isoxazolil]carbonil}amino)-4 oxo-5-(2 3 5 6 tetrafluorofenoxi)pentanoato (Ic)**

[350] Los compuestos de la Preparación 9 y 10 fueron reaccionados de acuerdo al mismo procedimiento de la Preparación 4 y el Ejemplo 1 para dar el compuesto del título

[352] ^1H NMR (400 MHz CDCl_3) δ 7.6(dd J=3.6 1.6 Hz 1H) 7.6(m 2H) 7.4 7.3(m 3H) 6.7 (m 1H) 5.1 – 4.9 (m 2H) 4.9-4.8 (m 1H) 3.7 (dd J=17.6 17.2 Hz 1H) 3.3 (1H d J=17.2 Hz) 3.0 2.8 (m 1H) 2.8 2.7(m 1H) 2.1(m 1H) 2.8 (m 1H) 1.9 (m 1H) 1.4 – 1.3 (dos s 9H) 1.0 (m 3H)

[354] **Ejemplo 6**

[355] **Acido (3S) 3 ({[5-etil-3 fenil-4 5-dihidro-5 isoxazolil]carbonil}amino)-4 oxo-5-(2 3 5 6 tetrafluorofenoxi)pentatoico (Icc)**

[356] El compuesto del Ejemplo 5 fue reaccionado de acuerdo al mismo procedimiento del Ejemplo 2 para dar el compuesto del título

[358] ^1H NMR (400 MHz $\text{DMSO}-d_6$) δ 7.6(br 1H) 7.6 7.5 (m 12H) 7.4 7.3 (m 3H) 6.8 6.7 (m 1H) 4.9-4.8 (m 1H)) 4.5 (br 2H) 3.78d J=16 Hz 1H) 3.3(d J=16 Hz 1H) 3.3 3.0 (m 1H) 2.8 2.7 (m 1H) 2.1 (m 1H) 2.0 1.9 (m 3H)

[359] MS $[\text{M}+\text{H}]$ 497

[361] **Preparacion 11**

[362] **Etil 5-etil-3 (1 naftil)-4 5-dihidro-5 isoxazolecarboxilato (VIc)**

[363] 1 Naftaldehido y etil 2 etilacrilato fueron reaccionados de acuerdo al mismo procedimiento de las preparaciones 1 2 y 3 para dar el compuesto del título

[365] ^1H NMR (400 MHz CDCl_3) δ 8.9(d J=8.8 Hz 1H) 7.9 7.8(m 2H) 7.6 7.4 (m 4H) 4.3-4.2 (m 2H) 4.0 (d J=17.2 Hz 1H) 3.4 (d J=17.2 Hz 1H) 2.1 – 2.0(m 1H) 1.3 (t 3H) 1.0 (t 3H)

[367] **Ejemplo 7**

[368] **t Butil-(3S)-3-([5-etil-3-(1-naftil)-4,5-dihidro-5-isoxazolil]**

carbonil}amino)-4-oxo-5-(2,3,5,6-tetrafluorofenoxi)pentanoato (ld)

[369] Los compuestos de la preparación 11 y 10 fueron reaccionados de acuerdo al mismo procedimiento de la Preparación 4 y el Ejemplo 1 para dar el compuesto del título

[371] ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 8.9(m, 1H), 7.9-7.8(m, 3H), 7.6-7.4(m, 4H), 6.5-6.9(m, 1H), 5.1-4.9(m, 2H), 4.9(m, 1H), 3.9(dd, 1H), 3.5(d, J=17.2 Hz, 1H), 3.0-2.9(m, 1H), 2.8(m, 1H), 2.2(m, 1H), 2.0(m, 1H), 1.4-1.3(dos s, 9H), 1.1(m, 3H)

[373] **Ejemplo 8**

[374] **Acido (3S)-3-([5-etil-3-(1-naftil)-4,5-dihidro-5-isoxazolil]**

carbonil}amino)-4-oxo-5-(2,3,5,6-tetrafluorofenoxi)pentanoico (ldd)

[375] El compuesto del ejemplo 7 fue reaccionado de acuerdo al mismo procedimiento del Ejemplo 2 para dar el compuesto del título

[377] ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 8.8(m, 1H), 7.9-7.7(m, 3H), 7.6-7.4(m, 4H), 6.7(m, 1H), 4.9(m, 1H), 4.5(br, 2H), 3.9(d, J=17.2 Hz, 1H), 3.5(d, J=17.2 Hz, 1H), 3.1-2.9(m, 1H), 2.8-2.7(m, 1H), 2.2(m, 1H), 2.0(m, 1H), 1.0(m, 3H)

[378] MS [M+MeOH+Na] 601

[380] **Preparación 12**

[381] **Etil 5-etil-3-(2-naftil)-4,5-dihidro-5-isoxazolecarboxilato (Vld)**

[382] 2-Naftaldehído y etil 2-etilacrilato fueron reaccionados de acuerdo al mismo procedimiento de las preparaciones 1, 2 y 3 para dar el compuesto del título

[384] ^1H NMR (500 MHz CDCl_3) δ 8.7(d $J=8.8$ Hz 1H) 7.8 7.7(m 2H) 7.5 7.3(m 4H) 4.3-4.2 (m 2H) 4.0 (d $J=17.2$ Hz 1H) 3.4 (d $J=17.2$ Hz 1H) 2.1 – 2.0(m 1H) 1.3 (t 3H) 1.0 (t 3H)

[386] **Ejemplo 9**

[387] **t Butil (3S)-3-([5-etil 3 (2 naftil)-4 5 dihidro 5 isoxazolil]**

carbonil}amino)-4-oxo-5-(2 3 5 6 tetrafluorofenoxi)pentanoato (le)

[388] Los compuestos de las Preparaciones 12 y 10 fueron reaccionados de acuerdo a los mismos procedimientos de las Preparaciones 4 y Ejemplo 1 para dar el título del compuesto

[390] ^1H NMR (400 MHz CDCl_3) δ 7.8 7.7(m 16H) 7.5(m 2H) 6.7 & 6.5(m 1H) 5.1-4.9 (m 2H) 4.9-4.8 (m 2H) 3.8 (dd $J=16$ Hz 1H) 3.4 (d $J=16$ Hz 1H) 3.0(m 1H) 2.8(m 1H) 2.8 2.7(m 1H) 2.2 2.1(m 1H) 2.0(m 1H) 1.4 1.3 (dos s 9H) 1.1 1.0 (m 3H)

[392] **Ejemplo 10**

[393] **Ácido (3S)-3-([5-etil-3 (2 naftil)-4 5-dihidro-5 isoxazolil] carbonil}amino)-4-oxo-5-(2 3 5 6 tetrafluorofenoxi)pentanoico (lee)**

[394] El compuesto del ejemplo 9 fue desprotegido de acuerdo al mismo procedimiento del Ejemplo 2 y los isómeros fueron resueltos por prep TLC para dar los siguientes dos compuestos

[396] débilmente polar diastereómero

[397] ^1H NMR (400 MHz $\text{DMSO}-d_6$) δ 12.4(br 1H) 8.7 (br 1H) 7.9 8.0 (m 3H) 7.8 7.9 (m 1H) 7.5 7.6 (m 3H) 5.2 (br 2H) 4.7 (br 1H) 3.8(d $J=17.2$ Hz 1H) 3.5(d $J=17.6$ Hz 1H) 2.7 (m 1H) 2.5 (m 1H) 2.0 (m 1H) 1.9 (m 1H) 0.9 0.8(m 3H)

[398] MS $[\text{M}+\text{H}]$ 547

[400] altamente polar diastereómero

[401] ^1H NMR (400 MHz DMSO d_6) δ 8.6 (br 1H) 8.2 (s 1H) 8.07.9 (m 1H) 7.6 (m 2H) 7.4 (m 1H) 5.0 (br 2H) 4.8 (m 1H) 3.9 (d $J=17.6$ Hz 1H) 3.6 (d $J=17.6$ Hz 1H) 2.92.7 (m 2H) 2.12.0 (m 1H) 2.01.9 (m 1H) 9 (m 3H)

[403] **Preparación 13**

[404] **Etil 5-etil-3 (1 isoquinolinil)-4,5-dihidro-5 isoxazolecarboxilato (VIe)**

[405] 1 isoquinolinealdehído y etil 2 etilacrilato fueron reaccionados de acuerdo a los Procedimientos de preparación 1, 2 y 3. El título del compuesto en la forma isomérica quiral activa fue separado por medio de Chiral OD HPLC (Daicel Chemical Industries, 2.00 cm x 25 cm, OD00CJ 1CO05, 3% i-Pr OH en Hexano, 220 nm) el cual fue luego usado en la siguiente reacción:

[407] ^1H NMR (400 MHz CDCl_3) δ 9.25 (m 1H) 8.55 (d 1H) 7.85 (d 1H) 7.74, 7.65 (m 3H) 4.29 (m 2H) 4.13 (d 1H) 3.71 (d 1H) 2.11 (m 2H) 1.33 (t 3H) 1.06 (t 3H)

[409] **Ejemplo 11**

[410] **t-Butil (3S)-3-({[5-etil-3-(1 isoquinolinil)-4,5-dihidro-5 isoxazolil] carbonil}amino)-4-oxo-5-(2,3,5,6 tetrafluorofenoxi)pentanoato (If)**

[411] Los compuestos de las Preparaciones 13 y 10 fueron reaccionados de acuerdo al mismo procedimiento de la Preparación 4 y el Ejemplo 1 para dar el compuesto del título:

[413] ^1H NMR (400 MHz CDCl_3) δ 9.14 (m 1H) 8.53 (m 1H) 7.91, 7.85 (m 2H) 7.74, 7.64 (m 3H) 6.73, 6.62 (m 1H) 5.30-4.91 (m 3H) 4.09 (dos d 1H) 3.72 (dos d 1H) 3.04, 2.76 (m 2H) 2.24 (m 1H) 2.04 (m 1H) 1.45 & 1.35 (dos s 9H) 1.08 (dos t 3H)

[415] **Ejemplo 12**

[416] **Ácido (3S)-3-([5-etil-3-(1 isoquinolinil)-4 5-dihidro-5 isoxazolil] carbonil} amino)-4-oxo-5-(2 3 5 6 tetrafluorofenoxi)pentanoico (Iff)**

[417] El compuesto del Ejemplo 11 fue reaccionado de acuerdo al mismo procedimiento del ejemplo 2 para dar el compuesto del título

[419] ¹H NMR (400MHz DMSO d₆) 9.02(m 1H) 8.76(m 1H) 8.59(m 1H) 8.08 7.73(m 4H) 7.61 7.32(m 1H) 5.19 5.10(m 2H) 4.93-4.65 (m 1H) 3.91 (dos d 1H) 3.68(dos d 1H) 2.91 2.52(m 2H) 2.10 1.94 (m 2H) 0.94 (dos t 3H)

[420] Masa M+H 548

[422] **Ejemplo 13**

[423] **t Butil-(3S)-3 ([5-etil-3-(1 isoquinolinil)-4 5-dihidro 5 isoxazolil] carbonil} amino)-5 fluoro-4-oxopentanoato (Ig)**

[424] El compuesto de la preparación 13 y t butil 3 amino 5 fluoro-4 hidroxipentanoato fueron reaccionados de acuerdo al mismo procedimiento de la Preparación 4 y el Ejemplo 1 para dar el compuesto del título

[426] ¹H NMR (400MHz CDCl₃) δ 9.15(m 1H) 8.55(d 1H) 7.87 7.66(m 5H) 5.22-4.89(m 3H) 4.12(dos d 1H) 3.72(dos d 1H) 3.05 2.75(m 2H) 2.22(m 1H) 2.04 (m 1H) 1.45 & 1.34 (dos s 9H) 1.07 (dos t 3H)

[428] **Ejemplo 14**

[429] **Ácido (3S)-3 ([5-etil-3 (1 isoquinolinil)-4 5-dihidro-5 isoxazolil]carbonil} amino)-5 fluoro 4-oxopentanoico (Igg)**

[430] El compuesto del Ejemplo 13 fue reaccionado de acuerdo con el procedimiento del Ejemplo 2 para dar el compuesto del título

[432] ^1H NMR(400MHz DMSO- d_6) δ 9.03(m 1H) 8.67 8.59(m 2H) 8.08(d 1H) 7.97 7.78(m 3H) 5.26 5.07(m 2H) 4.75(m 1H) 3.94(dos d 1H) 3.7(dos d 1H) 2.88 2.58 (m 2H) 2.07 1.94 (m 2H) 0.96(dos t 3H)

[433] Masa M+H 402

[435] **Ejemplo 14**

[436] Etil **3-([5-etil-3 (1 isoquinolinil)-4 5-dihidro-5 isoxazolil]carbonil) amino)-5 fluoro-4-oxopentanoato (Ihh)**

[437] El compuesto del Ejemplo 14 fue reaccionado de acuerdo al método conocido en *Tetrahedron Letters* 1994 35(52) 9693 9696 para dar el compuesto del título

[439] ^1H NMR (400MHz CDCl_3) δ 9.15(m 1H) 8.55(d 1H) 7.89 7.67 (m 5H) 5.23-4.94 (m 3H) 4.18 (m 2H) 4.11(dos d 1H) 3.72(dos d 1H) 3.08 2.82(m 2H) 2.22 (m 1H) 2.05(m 1H) 1.29 1.04 (m 6H)

[441] **Preparación 14**

[442] Metil **5 isopropil 3 (1 isoquinolinil)-4 5-dihidro-5 isoxazolecarboxilato y resolución (Vlf)**

[443] 1 Isoquinolinealdehído y metil 2 isopropilacrilato fueron reaccionados de acuerdo al procedimiento de las Preparaciones 1 2 y 3 para dar el compuesto del título. De este producto así obtenido el isómero Chiral activo(5R) (9.7 min 11.7 min) fue separado mediante prep HPLC usando la columna OD chiral (Daicel Chemical Industries 2.00 cm x 25 cm OD00J 1CO05 5 % i PrOH en Hexano 14 ml/min 220 mm) (el otro isómero (5S) fue extraído durante el tiempo de retención de 15.3 20.1 min) el cual fue luego usado en la siguiente reacción (ver Preparación 23 para la resolución después de la hidrólisis)

[445] ^1H NMR (500MHz CDCl_3) δ 9.24(m 1H) 8.55(d 1H) 7.85 (d 1H) 7.72 (t 3H) 7.67(m 2H) 4.11(d 1H) 3.83(s 3H) 3.74(d 1H) 2.50 (septet 1H) 1.07(d 3H) 1.02 (d 3H)

[447] **Ejemplo 16**

[448] **t Butil 5 fluoro 3-([5R]-3 (1 isoquinolinil)-4 5-dihidro-5 isoxazolil] carbonil} amino)-5 fluoro-4-oxopentanoato (Ih)**

[449] El compuesto de la Preparación 14 y t butil 3 amino 5 fluoro-4 hidroxipentanoato fueron reaccionados de acuerdo al procedimiento de la Preparación 4 y el Ejemplo 1 para dar el compuesto del título

[451] ^1H NMR (500MHz CDCl_3) δ 9.14(m 1H) 8.55(d 1H) 7.87 7.65 (m 5H) 5.23-4.93 (m 2H) 4.90(m 1H) 4.05-4.00(dos d 1H) 3.84 3.79(dos 1H) 3.06 2.74(m 2H) 2.40(m 1H) 1.45 & 1.34 (dos s 9H) 1.12 1.07 (m 6H)

[453] **Ejemplo 17**

[454] **Acido 5 fluoro 3 ([5R] 5 isopropil-3-(1 isoquinolinil)-4 5-dihidro 5 isoxazolil] carbonil} amino)-4-oxopentanoico (Iii)**

[455] El compuesto del Ejemplo 16 fue reaccionado de acuerdo con el procedimiento del Ejemplo 2 para dar el compuesto del título (el compuesto de isómero (5S) Iii u fue obtenido de acuerdo al mismo procedimiento)

[457] ^1H NMR(400MHz DMSO-d_6) δ 9.00(m 1H) 8.63 8.48 (m 2H) 8.08(d 1H) 7.97(m 1H) 7.87 7.76 (m 2H) 5.31-4.82(br 2H) 4.74(m 1H) 3.91 (dos d 1H) 3.73 (dos d 1H) 2.88 2.61(m 2H) 2.33 (m 1H) 0.98 (m 6H)

[458] Masa $\text{M}+\text{H}$ 416

[460] **Preparación 15**

[461] **Etil 5-etil-3-(4 isoquinolinil)-4 5-dihidro-5 isoxazolecarb xilato) (VIg)**

[462] 5 Quinolinealdehído y etil 2 etilacrilato fueron reaccionados de acuerdo al mismo procedimiento de las Preparaciones 12 y 3 para dar el compuesto del título

[464] ¹H NMR (500MHz CDCl₃) δ 8.95(d 1H) 8.89(m 1H) 8.11(d 1H) 7.83(m 1H) 7.71(m 1H) 7.65(d 1H) 4.27(m 2H) 4.01(d 1H) 3.7(d 1H) 2.10 (m 2H) 1.31(t 3H) 1.02 (t 3H)

[466] **Ejemplo 18**

[467] **t butil 3 ([[5-etil-3-(4-quinolinil)-4,5-dihidro 5 isoxazolil] carbonil]amino)-5 fluoro-4-oxopentanoico (II)**

[468] El compuesto de la Preparación 15 y t butil 3 amino 5 fluoro-4 hidroxipentanoato fueron reaccionados de acuerdo al mismo procedimiento de las Preparación 4 y el Ejemplo 1 para dar el compuesto del título

[470] ¹H NMR (400MHz CDCl₃) δ 8.97 (d 1H) 8.89(m 1H) 8.17(d 1H) 7.87 7.64 (m 3H) 7.36(d 1H) 5.21-4.93(m 3H) 3.93 (dos d 1H) 3.48 (dos d 1H) 3.05 2.78 (m 2H) 2.24 (m 1H) 2.03 (m 1H) 1.46 & 1.33 (dos s 9H) 1.06 (dos t 3H)

[472] **Ejemplo 19**

[473] **Acido 3-([[5-etil-3-(4-quinolinil)-4,5-dihidro 5 isoxazolil] carbonil]amino)-5 fluoro-4-oxopentanoico (IJJ)**

[474] El compuesto del Ejemplo 18 fue reaccionado de acuerdo con el procedimiento del Ejemplo 2 para dar el compuesto del título

[476] ¹H NMR(400MHz DMSO d₆) δ 9.16 9.10(m 2H) 8.25 7.86 (m 5H) 5.20 (br 2H) 4.75 (m 1H) 4.00 3.89(dos d 1H) 3.73 (dos d 1H) 2.87 2.71 (m 2H) 2.26 2.05 (m 2H) 1.07 (dos t 3H)

[477] Masa M+H 402

[479] Preparacion 16

[480] Etil 3 (benzotiofen 2 il)-5-etil-4 5-dihidro-5 isoxazolecarboxilato) (VIh)

[481] Derivado de benzotiofen 2 aldehido oxima (400 mg 2.26 mmol) preparado de acuerdo al mismo procedimiento de la Preparación 1 fue disuelto en THF (25 ml) y la mezcla fue mantenida a 0 °C. Etil 2 etilacrilato (434 mg 15 Eq) y trietilamina (7 gotas) fueron disueltos en THF (5 ml). La solución así obtenida fue lentamente adicionada a la de arriba y solución de hipoclorito de sodio fue adicionada (60 ml). La solución de reacción fue calentada a la temperatura ambiente y agitada por 4 horas. Agua (20 ml) fue adicionada y la mezcla fue extraída con etil acetato (40 ml x 2), lavada con solución acuosa de cloruro de sodio (20 ml), secada sobre sulfato de magnesio, filtrada y concentrada bajo presión reducida. El residuo fue purificado por cromatografía de columna (20% etil acetato hexano) para dar el compuesto del título (121 mg, rendimiento 18 %).

[483] ¹H NMR (400MHz, CDCl₃) δ 7.82-7.75 (m, 2H), 7.40-7.32 (m, 3H), 4.28 (m, 2H), 3.90 (d, 1H), 3.31 (d, 1H), 2.07 (m, 2H), 1.33 (t, 3H), 1.01 (t, 3H).

[485] Ejemplo 20

[486] t butil 3-({[3 (benzotiofen 2 il) 5-etil-4 5-dihidro-5 isoxazolil]carbonil} amino)-5 fluoro-4-oxopentanoico (Ij)

[487] El compuesto de la Preparación 16 y t butil 3 amino 5-fluoro-4 hidroxipentanoato fueron reaccionados de acuerdo al mismo procedimiento de las Preparación 4 y el Ejemplo 1 para dar el compuesto del título.

[489] ¹H NMR (400MHz, CDCl₃) δ 7.83-7.68 (m, 3H), 7.42-7.35 (m, 3H), 5.21-4.88 (m, 3H), 3.80 (dos d, 1H), 3.38 (dos d, 1H), 3.03-2.78 (m, 2H), 2.17 (m, 1H), 2.01 (m, 1H), 1.46 & 1.38 (dos s, 9H), 1.03 (dos t, 3H).

[491] **Ejemplo 21**

[492] **Acido 3-([3-(benzotiofen 2 il)-5-etil-4 5-dihidro-5 isoxazolil] carbonil} amino)-5 fluoro-4-oxopentanoico (Ikk)**

[493] El compuesto del Ejemplo 20 fue reaccionado de acuerdo con el procedimiento del Ejemplo 2 para dar el compuesto del titulo

[495] ¹H NMR(400MHz DMSO d₆) δ 8 63 (m 1H) 8 11 7 79 (m 3H) 7 47 7 36 (m 2H) 5 24 5 06 (m 2H) 4 73 (m 1H) 3 79 (dos d 1H) 3 53 (dos d 1H) 2 83 2 58 (m 2H) 2 03 1 86 (m 2H) 0 91 (dos t 3H)

[496] Masa M+H 407

[498] **Preparación17**

[499] **Etil 3-(1 3-dimetil 1H indol 2 il)-5-etil-4 5-dihidro-5 isoxazolecarboxilato) (Vli)**

[500] Derivado de 1 3 dimetil 1H indol 2 aldehido oxima (356 mg 2 07 mmol) fue disuelto en diclorobrometano (20 ml) y la mezcla fue mantenida a 0 °C Etil 2 etilacnato (345 mg 1 3 Eq) y trietilamina (6 gotas) fueron disueltas en diclorometano (5 ml) la solución así obtenida fue lentamente adicionada a la primera y solución de hipoclorito de sodio (5 5 ml) fue además adicionada La solución de la reacción fue calentada a temperatura ambiente y agitada por 4 horas Agua (20 ml) fue adicionada y la mezcla fue extraída con diclorometano (40 ml x 2) lavada con solución acuosa de cloruro de sodio (20 ml) secada sobre sulfato de magnesio filtrada y concentrada bajo presión reducida El residuo fue purificado por cromatografía de columna (15% etil acetato hexano) para dar el compuesto del titulo (230 mg rendimiento 35 %)

[502] ¹H NMR (400MHz CDCl₃) δ 7 60 (d 1H) 7 31(m 2H) 7 12(m 1H) 4 29(m 2H) 3 98(d 1H) 3 94(s 3H) 3 40(d 1H) 2 47(s 3H) 2 08 (m 2H) 1 34 (t 3H) 1 04 (t 3H)

[503] Masa M+H 315

[505] **Ejemplo 22**

[506] **t butil** (3S)-3-({[3-(1 3-dimetil 1H indol 2 il)-5-etil -4 5-dihidro 5 isoxazolil] carbonil}amino)-4-oxo-5 (2 3 5 6 tetrafluorofenoxi) pentanoato (Ik)

[507] Los compuestos de las Preparaciones 17 y 10 fueron reaccionados de acuerdo al mismo procedimiento de las Preparación 4 y el Ejemplo 1 para dar el compuesto del título

[509] ¹H NMR (400MHz CDCl₃) δ 7.85 7.79(m 1H) 7.57(m 1H) 7.37 7.26(m 2H) 7.13 (m 1H) 6.75 6.49 (m 1H) 5.12-4.90 (m 3H) 3.95 (dos d 1H) 3.89 (dos s 3H) 3.45 (dos d 1H) 3.03 2.79 (m 2H) 2.44 (dos s 3H) 2.22 (m 1H) 2.01 (m 1H) 1.58 & 1.37 (dos s 9H) 1.05 (dos t 3H)

[511] **Ejemplo 23**

[512] **Acido** (3S)-3 ([3-(1 3-dimetil 1H indol 2 il)-5-etil-4 5-dihidro-5 isoxazolil]carbonil}amino)-4-oxo 5-(2 3 5 6 tetrafluorofenoxi)pentanoico (III)

[513] El compuesto del Ejemplo 23 fue reaccionado de acuerdo con el procedimiento del Ejemplo 2 para dar el compuesto del título

[515] ¹H NMR(400MHz DMSO-d₆) δ 8.67(br 1H) 7.61 7.43 (m 3H) 7.27(m 1H) 7.08(m 1H) 5.20(br 2H) 4.83(m 1H) 3.84(dos s 3H) 3.76 (dos d 1H) 3.59 (dos d 1H) 2.91 2.60 (m 2H) 2.50(dos s 3H) 2.07 1.91(m 2H) 0.95 (dos t 3H)

[517] **Ejemplo 24**

[518] **t butil** 3 ([3-(1 3-dimetil 1H indol 2 il)-5-etil-4 5-dihidro 5 isoxazolil]carbonil}amino)-5 fluoro-4-oxopentanoato (II)

[519] El compuesto de la Preparación 17 y t butil 3 amino 5 fluoro-4 hidroxipentanoato fueron reaccionados de acuerdo al mismo procedimiento de las Preparacion 4 y el Ejemplo 1 para dar el compuesto del titulo

[521] ¹H NMR (400MHz CDCl₃) δ 7.79(m 1H) 7.60(m 1H) 7.32(m 2H) 7.13(m 1H) 5.20-4.90(m 3H) 3.97 3.89(m 4H) 3.46(dos d 1H) 3.03 2.77(m 2H) 2.21(m 1H) 2.01(m 1H) 1.46 & 1.38(dos s 9H) 1.05(dos t 3H)

[523] **Ejemplo 25**

[524] **Acido 3-([3 (1 3-dimetil 1H indol 2 il)-5-etil-4 5-dihidro-5 isoxazolil] carbonil)amino) 5 fluoro-4-oxopentanoico (Imm)**

[525] El compuesto del Ejemplo 24 fue reaccionado de acuerdo con el procedimiento del Ejemplo 2 para dar el compuesto del titulo

[527] ¹H NMR(400MHz DMSO d₆) δ 8.68 (br 1H) 7.60 (m 1H) 7.45(m 1H) 7.26 (m 1H) 7.07 (m 1H) 5.20 (br 2H) 4.81 (m 1H) 3.84 (dos 3H) 3.76 (dos d 1H) 3.59 (dos d 1H) 2.94 2.59(m 2H) 2.38(dos s 3H) 2.07 1.91 (m 2H) 0.95 (dos t 3H)

[528] Masa M+H 418

[530] **Preparación 18**

[531] **Etil 5-etil-3-(1 3 naftilmetil)-4 5-dihidro-5 isoxazolecarboxilato) (VIj)**

[532] 1 Naftilacetaldehido y etil e etilacrilato fueron reaccionados de acuerdo al mismo procedimiento de las Preparaciones 1 2 y 3 para dar el compuesto del titulo

[534] ¹H NMR (500MHz CDCl₃) δ 8.1 8.0(d J =8Hz 1H) 7.8(d J=7.6Hz 1H) 7.8 7.7(d J=8Hz 1H) 7.5 7.4(m 2H) 7.4 7.3(m 2H) 4.1-4.0 (m 4H) 3.1 (d J = 17.6Hz 1H) 2.6 (d J=17.6Hz 1H) 1.8 1.7 (m 2H) 1.2 (t 3H) 0.7(t 3H)

[536] **Ejempl 26**

[537] **t butil (3S)-3-({[5-etil-3-(1 naftilmetil)-4 5-dihidro-5 isoxazolil] carbonil}amino)-4 oxo-5-(2 3 4 5 6 tetrafluorofenoxi)pentanoato (Im)**

[538] Los compuestos de las Preparaciones 18 y 10 fueron reaccionados de acuerdo al mismo procedimiento de las Preparación 4 y el Ejemplo 1 para dar el compuesto del título

[540] ^1H NMR (400MHz CDCl_3) δ 8 0 (m 1H) 7 8(m 1H) 7 8 (m 1H) 7 7(m 1H) 7 5 (m 2H) 7 4 7 3(m 2H) 6 7 (m 1H) 5 0-4 9(m 2H) 4 9-4 8(m 1H) 4 2-4 0 (m 2H) 3 1 (dd $J = 24.8\text{Hz}$ 1H) 2 9 2 6(m 3H) 1 9(m 1H) 1 7 (m 1H) 1 4 (dos s 9H) 0 8 (m 3H)

[542] **Ejemplo 27**

[543] **Ácido (3S)-3 ({[5-etil 3-(1 naftilmetil)-4 5-dihidro-5 isoxazolil] carbonil} amino)-4-oxo-5 (2 3 5 6 tetrafluorofenoxi)pentanolco (Inn)**

[544] El compuesto del Ejemplo 26 fue reaccionado de acuerdo con el procedimiento del Ejemplo 2 para dar el compuesto del título

[546] ^1H NMR(400MHz $\text{DMSO } d_6$) δ 12 3(br 1H) 8 4(br 1H) 8 0(m 1H) 7 9 (m 1H) 7 8(m 1H) 7 5 7 4(m 5H) 5 0(br 2H) 4 7(m 1H) 4 0(s 2H) 3 3 (m 1H) 3 1 (m 1H) 2 8 (m 2H) 2 5 (m 1H) 1 8 (m 1H) 1 7 (m 1H) 0 8 (m 3H)

[547] MS $[\text{M}+\text{H}]^+$ 561

[549] **Ejemplo 28**

[550] **(3S)-5-(t butoxi) 3-({[5-etil-3 [2-(1 naftil)etil]-4 5-dihidro-5 isoxazolil] carbonil} amino)-2 5-dioxopentil 2 6 diclorobenzoato (In)**

[551] 1 Naftilpropionaldehido y el compuesto de la Preparación 6 fueron reaccionados de acuerdo al mismo procedimiento de las Preparación 4 y el Ejemplo 1 para dar el compuesto del título

[553] ^1H NMR (400MHz CDCl_3) δ 8.00 (d 1H) 7.85 (m 1H) 7.76 (m 2H) 7.57 7.28 (m 1H) 7.34 7.27 (m 3H) 5.20 5.05 (m 2H) 4.94 & 4.88 (dos m 1H) 3.39 3.27 (m 3H) 2.97 2.72 (m 5H) 2.07 (m 1H) 1.86 (m 1H) 1.46 & 1.45 (dos s 9H) 1.00 & 0.96 (dos t 3H)

[555] **Ejemplo 29**

[556] **Acido (3S) 5 [(2,6-diclorobenzoyl)oxi] 3 ({[5-etil-3 (2-naftil)etil]-4,5-dihidro-5-isoxazolil} carbonil)amino)-4-oxopentanoico (Ioo)**

[557] El compuesto del Ejemplo 28 fue reaccionado de acuerdo con el procedimiento del Ejemplo 2 para dar el compuesto del título

[559] ^1H NMR (400MHz $\text{DMSO}-d_6$) δ 8.45 (bd 1H) 8.06 (d 1H) 7.90 (d 1H) 7.77 (d 1H) 7.60 7.37 (m 7H) 5.21 5.03 (m 2H) 4.73 (m 1H) 3.06 (m 2H) 2.65 (bd 4H) 1.91 & 1.74 (dos m 2H) 0.84 (m 3H)

[561] **Preparacion 19**

[562] **Etil 5-etil-3 [(1-naftiloxi)metil]-4,5-dihidro 5-isoxazolecarboxilato (VII)**

[563] Derivado de 2-Nitroetanol piranil (ver *Synthesis* 1993 12 1206 1208) y etil 2-etilacrilato fueron reaccionados y el producto resultante fue desprotegido para obtener etil 5-etil (3-hidroximetil)-4,5-dihidro 5-isoxazolecarboxilato (23%). Este compuesto fue sometido a brominación (CBr_4 , PPh_3 , 94%) y luego reaccionado con 1-naftol (NaH , DMF , 82 %) para dar el compuesto del título

[565] ^1H NMR (500MHz CDCl_3) δ 8.20 (m 1H) 7.81 (d 1H) 7.55 7.42 (m 3H) 7.36 (m 1H) 6.88 (d 1H) 5.01 (dd 2H) 4.22 (m 2H) 3.61 (d 1H) 3.07 (d 1H) 1.97 (m 2H) 1.27 (t 3H) 0.93 (t 3H)

[567] **Ejemplo 30**

[568] **Ácido (3S)-3-([5-etil-3-(1-naftil-xi)metil]-4,5-dihidro-5-isoxazolil) carbonil)amino)-4-oxo-5-(2,3,5,6-tetrafluorofenoxi)pentanoico (lpp)**

[569] Los compuestos de las Preparaciones 19 y 10 fueron reaccionados de acuerdo al mismo procedimiento de las Preparación 4 y los Ejemplo 1 y 2 para dar el compuesto del título

[571] ¹H NMR(400MHz DMSO d₆) δ 8.51(br 1H) 8.13(m 1H) 7.87(m 1H) 7.54-7.38(m 5H) 7.02(m 1H) 5.18-4.97 (m 4H) 4.71(m 1H) 3.58 (dos d 1H) 3.21 (dos d 1H) 2.68(m 2H) 1.97(m 1H) 1.81(m 1H) 0.86(dos t 3H)

[572] Masa M+H 577

[574] **Ejemplo 31**

[575] **Ácido (3S)-3-([(3-([(4-cloro-1-naftil)oxi]metil)-5-etil-4,5-dihidro-5-isoxazolil) carbonil)amino)-4-oxo-5-(2,3,5,6-tetrafluorofenoxi)pentanoico (lqq)**

[576] El derivado de bromo obtenido como un intermedio durante el proceso de Preparación 19 y 4-cloro-1-naftol fueron reaccionados de acuerdo al mismo procedimiento de la Preparación 19 para dar etil 5-etil-3-[(4-cloro-1-naftiloxi)metil]-4,5-dihidro-5-isoxazolecarboxilato el cual fue luego reaccionado de acuerdo con el mismo procedimiento de la Preparación 4 y los Ejemplos 1 y 2 para dar el compuesto del título

[578] ¹H NMR(400MHz DMSO d₆) δ 8.65 (m 1H) 8.24-8.09 (m 2H) 7.78-7.35 (m 4H) 7.06(m 1H) 5.17-5.07(m 4H) 4.82-4.69 (m 1H) 3.45 (dos d 1H) 3.23 (dos d 1H) 2.83-2.52(m 2H) 1.96-1.79 (m 2H) 0.86 (dos t 3H)

[579] Masa M+H 611

[581] **Preparación 20**

[582] **tert Butil (3S)-3-amino-4-hidroxibutanoato**

[583] A ácido N benciloxycarbonil β t aspartico (3.0 g 9.28 mmol) y NMN (1.12 ml 1.1 Eq) fue adicionado tetrahydrofuran (20 ml) bajo atmosfera de nitrogeno. La solución de reacción fue mantenida a 0 °C. Isobutil cloroformato (1.26 ml 1.05 Eq) fue adicionado la mezcla fue agitada por cerca de 40 minutos. La lechada así obtenida fue filtrada bajo nitrógeno y la solución resultante fue adicionada a solución de NaBH₄ (702 mg 2.0 Eq) [metanol (10 ml)-tetrahydrofuran seco (20 ml)] a -78 °C. La mezcla resultante fue lentamente calentada hasta temperatura ambiente (dos horas). La reacción fue parada con ácido acético (2.3 ml) y la solución de reacción fue destilada bajo presión reducida para remover el metanol. El residuo fue extraído con etil acetato (50 ml x 2) lavada con agua y solución acuosa de cloruro de sodio, secada (Na₂SO₄ anhidrido) concentrada bajo presión reducida y separada, purificada con columna cromatográfica (etil acetato hexano 1:5) para dar un compuesto de alcohol (2.52 g rendimiento 88 %).

[585] El grupo benciloxycarbonil del compuesto obtenido arriba fue removido (Pd/C) bajo balón de hidrógeno por una hora para dar el compuesto del título (rendimiento 100%).

[587] ¹H NMR(400MHz DMSO-d₆) δ 4.60(bs 1H) 3.21(m 2H) 2.96(m 1H) 2.41(dd 1H) 2.03(dd 1H) 1.40(s 9H)

[589] Preparación 21

[590] tert - butil (3S)-4 hidroxí-3-({[(5R) 5 isopropil-3-(1 isoquinolinil)-4,5 dihidro 5 isoxazolil]carbonil}amino)butanoato (XVI)

[591] El compuesto de la Preparación 14 fue reaccionado de acuerdo al mismo procedimiento de la Preparación 4 para dar un derivado de ácido carboxílico activo (VIIIf). Una mezcla de tal derivado de ácido carboxílico activo (VIIIf 224 mg 1.2 Eq) y el derivado de amino alcohol preparado en la Preparación 20 (166 mg 1.2 Eq) y HATU (390 mg 1.3 Eq) fue enfriada a 0 °C. trietilamina (0.33 ml 3.0 Eq) fue adicionada en un solvente de DMF (5 ml) y la mezcla resultante fue reaccionada

durante 2 horas. El solvente fue destilado bajo presión reducida y el residuo fue extraído con etil acetato (50 ml x 2) lavado con agua solución acuosa de bicarbonato de sodio y solución acuosa de cloruro de sodio secado (Na_2SO_4 anhidro) y concentrado bajo presión reducida y purificado por cromatografía de columna (60-70% EA/Hex) para dar el compuesto del título (330 mg rendimiento 95%)

[593] ^1H NMR (400MHz CDCl_3) δ 9.16(d 1H) 8.55(d 1H) 7.85(d 1H) 7.73 7.70 (m 3H) 7.56(NH d 1H) 4.26(m 1H) 4.12 (d 1H) 4.04(d 1H) 3.79(d 1H) 3.75(t 2H) 2.94(bs 1H) 2.57(m 2H) 2.41 (m 1H) 1.10 & 1.07 (dos d 6H)

[595] **Ejemplo 32**

[596] **6 (tert-butil) 1-etil(2E,4S)-4-({[(5R)-5-isopropil-3-(1-isoquinolinil)-4,5-dihidro-5-isoxazolil]carbonil}amino) 2-hexenedioato (lq)**

[597] Al compuesto de la preparación 21 (107 mg 0.24 mmol) y agente Dess Martin (153 mg 1.5 Eq) le fue adicionado diclorometano seco (4 ml) y la mezcla fue agitada por una hora a temperatura ambiente y concentrada bajo presión reducida. Al residuo le fue adicionado THF seco (3 ml) y (carboetoximetileno)trifenilfosforano (108 mg 1.3 Eq) y la mezcla fue refluja por dos horas. La mezcla de reacción fue extraída con etil acetato (20 ml x 2) lavada con agua solución acuosa de bicarbonato de sodio saturada y solución acuosas de cloruro de sodio secada (Na_2SO_4 anhidro) y concentrada bajo presión reducida y preliminarmente purificada por prep cromatografía (40% etil acetato hexano) para dar el compuesto del título (98 mg 80%) con una razón diastereómera de 3:1

[599] ^1H NMR (500MHz CDCl_3) del isómero principal δ 9.15(d 1H) 8.54(d 1H) 7.86(d 1H) 7.74 7.62 (m 3H) 6.93(dd 1H) 6.00(dd 1H) 4.98(m 1H) 4.19 (qt 2H)

4.02(d 1H) 2.58(m 2H) 2.43(m 1H) 1.36(s 9H) 1.27(t 3H) 1.07 & 1.06(dos d 6H)

[601] **Ejemplo 33**

[602] **Ácido (3S, 4E)-6-etoxi({[(5R)-5 isopropil-3-(1 isoquinolinil)-4,5-dihidro-5 isoxazolil] carbonil}amino)-6-oxo-4 hexenoico (Irr)**

[603] El compuesto del Ejemplo 32 fue reaccionado de acuerdo con el procedimiento del Ejemplo 2 para dar el compuesto del título

[605] ¹H NMR (500MHz CDCl₃) del isómero principal δ 9.04(d 1H) 8.61(d 1H) 8.52(d 1H) 7.95(d 1H) 7.81-7.68(m 3H) 6.94(dd 1H) 6.00(dd 1H) 5.01(m 1H) 4.17(qt 2H) 3.90(d 1H) 3.82(m 2H) 2.71(d 2H) 2.39(septet 1H) 1.26(t 3H) 1.07 & 1.06(dos d 6H)

[606] MS M+M 454

[608] **Ejemplo 34**

[609] **tert - butil (3S, 4E) ({[(5R)-5 isopropil-3-(1 isoquinolinil)-4,5-dihidro-5 isoxazolil] carbonil}amino)-4 pentanoato (Ir)**

[610] Diclorometano anhídrido (4 ml) fue adicionado al compuesto del Ejemplo 21 (109 mg 0.25 mmol) y agente Dess Martin (157 mg 1.5 Eq) y la mezcla fue agitada por una hora a temperatura ambiente y concentrada bajo presión reducida. La reacción fue parada con alcohol isopropil (0.5 ml). El sólido fue removido por filtración bajo presión reducida usando Celita. El filtrado fue extraído con etil acetato (20 ml x 2) lavado con agua solución acuosa de bicarbonato de sodio saturada y solución acuosa de cloruro de sodio secado (Na₂SO₄ anhídrido) y concentrado bajo presión reducida y purificado por prep cromatografía (60% etil acetato/hexano) para dar el compuesto del título (52 mg 41%) con una razón diastereómera de 4:1.

[614] ¹H NMR (500MHz CDCl₃) del diastereómero principal δ 9.14 (d 1H) 8.55 (d 1H) 7.86 (d 1H) 7.76 7.65 (m 4H) 6.92 (dd 1H) 6.57 (dd 1H) 5.03 (m 1H) 4.02 (d 1H) 3.81 (d 1H) 2.94 (s 3H) 2.61 (m 2H) 2.41 (septet 1H) 1.36 (s 9H) 1.10 & 1.08 (dos set de d 6H)

[616] **Ejemplo 35**

[617] **Ácido (3S, 4E)-3-({[(5R)-5 isopropil 3-(1 isoquinolinil)-4,5-dihidro 5 isoxazolil] carbonil}amino)-5 (metilsulfonil)-4 pentenoico (lss)**

[618] El compuesto del Ejemplo 34 fue reaccionado de acuerdo con el procedimiento del Ejemplo 2 para dar el compuesto del título

[620] ¹H NMR (500MHz MeOD d₃) del isómero principal δ 9.04 (d 1H) 8.52 (d 1H) 7.95 (d 1H) 7.82 7.69 (m 3H) 6.90 (dd 1H) 6.71 (dd 1H) 5.06 (m 1H) 3.86 (m 2H) 2.98 (s 3H) 2.76 (d 2H) 2.39 (m 1H) 1 CB & 1.06 (dos grupos de d 6H)

[621] MS M + H 460

[623] **Método de Preparación de los Ejemplos 36 –42**

[624] Los compuestos que fueron obtenidos por reacción de (iso)quinolinealdehído (o 1 o 2 naftaldehído) y etil 2 –etil acrilato (o 2 etil 2 propil acrilato) de acuerdo a los mismos procedimientos de las Preparaciones 1, 2 y 3 (o las Preparaciones 1 y 16) fueron purificados si se necesitaba por prep HPLC usando columna OD quiral para aislar los isómeros quirales activos. Los isómeros quirales activos aislados o los isómeros quirales inactivos fueron hidrolizados de acuerdo al mismo procedimiento de la Preparación 4 y los compuestos resultantes fueron reaccionados con t butil 3 amino 5 fluoro-4 hidroxipentanoato de acuerdo al mismo procedimiento de los Ejemplos 1 y 2 para dar los compuestos de los títulos de los siguientes ejemplos 36 –42

[626] **Ejemplo 36**

[627] **Ácido 5 fluoro-3-({[(5R)-3 (1 isoquinolinil) propil-4 5-dihidro-5 isoxazolil]carbonil} amino)-4-oxopentanoico (litt)**

[629] ¹H NMR (500MHz DMSO d₆) δ 9.02 (t 1H) 8.61 (m 2H) 8.08(d 1H) 7.96 (m 1H) 7.85(t 1H) 7.78(m 1H) 5.05 (bs 2H) 4.73 (m 1H) 3.97 3.92(dd 1H) 3.70 3.65(dos d 1H) 2.90 2.70(dos m 2H) 2.03(m 1H) 1.91(m 1H) 1.48 (m 1H) 1.32 (m 1H) 0.93(m 3H)

[630] Masa M+H 416

[632] **Ejemplo 37**

[633] **Acido 3 ({[(5S)-5-etil 3-(1 naftil)-4 5-dihidro 5 isoxazolil] carbonil} amino) 5 fluoro-4-oxopentanoico (luu)**

[635] ¹H NMR (500MHz DMSO d₆) δ 8.84 (s 1H) 8.59(bs 1H) 8.02(m 2H) 7.75 (s 1H) 7.60 (m 3H) 5.01 (bs 2H) 4.73 (m 1H) 3.87 3.82(dd 1H) 3.70 3.65 (dos d 1H) 2.82 2.73 (dos m 2H) 2.05(m 1H) 1.95 (m 1H) 0.96 (m 3H)

[636] Masa M+H 401

[638] **Ejemplo 38**

[639] **Acido 3 ({[(5S)-5-etil-3-(2-quinolinil)-4 5-dihidro-5 isoxazolil] carbonil}amino)-5 fluoro-4-oxopentanoico (lvv)**

[641] ¹H NMR (500MHz DMSO d₆) δ 8.61 (dd 1H) 8.41(m 1H) 8.02(m 3H) 7.79 (t 1H) 7.65 (t 1H) 5.22 5.06(m 1H) 4.72(m 1H) 4.49-4.28(m 1H) 3.84 (m 1H) 3.54 (m 1H) 2.99 2.54(dos m 2H) 2.01(m 1H) 1.91(m 1H) 0.91(m 3H)

[642] Masa M+H 402

[644] **Ejemplo 39**

[645] **Acid** **3-(((5R)-5-etil-3-(3-isoquinolinil)-4,5-dihidro-5-isoxazolil] carbonil} amino)-5-fluoro-4-oxopentanoico (lww)**

[647] ¹H NMR (400MHz CDCl₃) δ (9.25 & 9.16(dos s 1H) 8.08-7.64 (m 5H) 4.90-4.84 (m 1H) 4.79-4.54 (m 2H) 4.01-3.93 (dos d 1H) 3.54 (d 1H) 3.03-2.87 (m 2H) 2.27-2.19 & 2.10-2.01 (dos m 2H) 1.10-1.06 (m 3H)

[648] Masa M+H 402

[650] **Ejemplo 40**

[651] **Acido** **3-([5-etil-3-(8-quinolinil)-4,5-dihidro-5-isoxazolil] carbonil} amino) 5-fluoro-4-oxopentanoico (lxx)**

[653] ¹H NMR(500MHz CDCl₃) δ 8.98 & 8.93 (dos m 1H) 8.56-8.21(m 1H) 8.03-7.94 (m 2H) 7.73 (bs 1H) 7.60 (m 1H) 7.53-7.48(dos m 1H) 4.94-4.64 (m 3H) 4.27-4.22(dos d 1H) 3.77 (d 1H) 3.07 & 2.92 (dos m 2H) 2.31-2.22 (m 1H) 2.12-2.05 (m 1H) 1.10 (t 3H)

[654] Masa M+H 402

[656] **Ejemplo 41**

[657] **Acido** **3-([5-Etil-3-(3-quinolinil)-4,5-dihidro-5-isoxazolil] carbonil} amino)-5-fluoro-4-oxopentanoico (lyy)**

[659] ¹H NMR(400MHz CDCl₃) δ 9.32 & 9.25 (dos d 1H) 8.16-8.03(m 2H) 7.83-7.73(m 3H) 7.62-7.55(m 1H) 4.95-4.76(m 3H) 3.86(dos d 1H) 3.45-3.39(dos d 1H) 3.17-3.01(dos m 1H) 2.90-2.82(m 1H) 2.27-2.20(m 1H) 2.09-2.00(m 1H) 1.10-1.05(m 3H)

[660] Masa M+H 402

[662] **Ejemplo 42**

[663] **Ácido 5 fluoro-3-({[(5R)-5 isopropil 3 (2-quinolinil)-4 5-dihidro-5 isoxazolil] carbonil} amino)-4-oxopentanoico (lzz)**

[665] ^1H NMR(400MHz CDCl_3) δ 8.24 (m 1H) 8.14 (m 1H) 8.04 (d 1H) 7.88 (d 1H) 7.79 (m 1H) 7.65 (m 1H) 7.51 (bs 1H) 5.13-4.35 (m 3H) 4.05-4.00 (dos d 1H) 3.73 (d 1H) 3.05-2.82 (m 2H) 2.42 (m 1H) 1.10 (m 6H)

[666] Masa $\text{M}+\text{H}$ 416

[668] **Metodo de Preparación de los Ejemplos 43 – 48**

[669] Los compuestos obtenidos por la reacción de un aldehído aromático (Bioorg Me Chem Lett 1996 6 p2173 J Org Chem 1978 43 1372) y etil 2 etil acrilato (o etil 2 isopropil acrilato) de acuerdo al mismo procedimiento de las Preparaciones 1 2 y 3 (o las Preparaciones 1 y 16) fueron purificados si era necesano por prep HPLC usando columna OD quiral para aislar los isómeros quirales activos Los isómeros quirales activos aislados o los isómeros quirales inactivos fueron hidrolizados de acuerdo al mismos procedimiento de la Preparacion 4 y los compuestos resultantes fueron reaccionados con t butil 3 amino 5 fluoro-4 hidroxipentanoato de acuerdo al mismo procedimiento de los Ejemplos 1 y 2 para dar los compuestos de los títulos de los siguientes ejemplos 43 –48

[671] **Ejemplo 43**

[672] **Ácido 3-({[5 Etil-3 (2 isopropilfenil)-4 5-dihidro-5 isoxazolil] carbonil} amino)-5 fluoro-4-oxopentanoico (laal)**

[674] ^1H NMR(500MHz $\text{DMSO}-d_6$) δ 8.53 (bs 1H) 7.40 (m 2H) 7.32 (m 1H) 7.25 (m 1H) 5.02 (bs 2H) 4.72 (m 1H) 3.60-3.54 (dos d 1H) 3.46-3.43 (dos d 1H) 3.40 (m 1H) 2.78-2.60 (dos m 2H) 1.95 (m 1H) 1.85 (m 1H) 1.14 (s 6H) 0.88 (m 3H)

[675] Masa M+H 393

[677] Ejemplo 44

[678] **Ácido 3[({3 [3-(tert butil) fenil] 5-etil-4 5-dihidro-5 isoxazolil} carbonil) amino]-5 fluoro-4-oxopentanolco (laa2)**

[680] ¹H NMR(400MHz DMSO-d₆) δ 8.56(dd 1H) 7.67(s 1H) 7.48(m 1H) 7.38(d 2H) 5.24 5.12(q 1H) 4.76-4.69(m 1H) 4.59-4.26(m 1H) 3.68(m 1H) 3.49 3.43(dos d 1H) 2.96 2.56(dos m 2H) 1.98 (m 1H) 1.85 (m 1H) 1.29 (s 9H) 0.89 (d 3H)

[681] Masa M+H 407

[683] Ejemplo 45

[684] **Acido 3 [({3 [4 (tert butil)fenil]-5-etil-4 5-dihidro-5 isoxazolil} carbonil) amino] 5 fluoro-4-oxopentanoico (laa3)**

[686] ¹H NMR (500 MHz DMSO d₆) δ 8.52 (bs 1H) 7.58(m 2H) 7.43(dd 2H) 5.10 (bs 2H) 4.71-4.65(m 1H) 3.65 3.59(dos d 1H) 3.40 3.35(dos d 1H) 2.86 2.60 (dos m 2H) 1.94(m 1H) 1.82(m 1H) 1.24(s 9H) 0.86 (m 3H)

[687] Masa M+H 407

[689] Ejemplo 46

[690] **Acido 5 fluoro-3-({[(5R)-5 isopropil-3 (2 isopropilfenil)-4 5-dihidro-5 isoxazolil] carbonil) amino)-4-oxo pentanoico (laa4)**

[692] ¹H NMR(500MHz CDCl₃) δ 7.60 7.53(m 1H) 7.41(m 2H) 7.27 7.23(m 2H) 5.20-4.91(m 1H) 4.71(m 1H) 4.54-4.42(m 1H) 3.69 3.64 (dos d 1H) 3.45 3.38 (m 2H) 3.12 2.77 (m 2H) 2.32 (m 1H) 1.22 (d 6H) 1.05(d 6H)

[693] Masa M+H 407

[695] **Ejemplo 47**

[696] **Acido 3 [({(5R) 3 [3 (tert butil)fenil]-5 isopropil-4 5-dihidro-5 isoxazolil) carbonil)amino]-5 fluoro-4-oxopentanoico (laa5)**

[698] ¹H NMR(500MHz CDCl₃) δ 7.69 (s 1H) 7.48(d 1H) 7.41(d 1H) 7.35 (t 1H) 4.74-4.50(m 3H) 3.69(d 1H) 3.40 (d 1H) 3.06 2.77 (m 2H) 2.32 (m 1H) 1.33 (s 9H) 1.04 (m 6H)

[699] Masa M+H 421

[701] **Ejemplo 48**

[702] **Acido 3-([(3 [1 1 bifenil]-3 il-5 isopropil-4 5-dihidro 5 isoxazolil) carbonil]amino} -5 fluoro-4-oxopentanoico (laa6)**

[703] 3 Bifenilcarboxaldehido (ver *Synthesis* 2003 337) fue usado como material de inicio para obtener el compuesto del titulo

[705] ¹H NMR (500MHz DMSO d₆) δ 8.42(bs 1H) 7.87 (d 1H) 7.73 7.69(m 4H) 7.52 (m 1H) 7.45 (m 2H) 7.38(m 1H) 5.03(bs 2H) 4.63 (m 1H) 3.73 3.57(m 2H) 2.67 2.63 (dos m 2H) 2.22 (m 1H) 0.89 (m 6H)

[706] Masa M+H 441

[708] **Metodo de Preparación de los Ejemplo 49 – 59**

[709] 4 piridina sustituida 2 carboxaldehidos fueron obtenidos por método conocidos en US 6043248 JOC 1982 47 p 4315 y ellos fueron reaccionados de acuerdo al mismo procedimiento de las Preparaciones 1 2 y 3 (o Preparaciones 1 y 16) Los compuestos resultantes fueron punificados si era necesario por prep HPLC usando columna OD quiral para aislar los isómeros quirales activos Los isómeros quirales activos aislados o los isómeros quirales inactivos fueron hidrolizados de acuerdo al mismo procedimiento de la Preparación 4 y los compuestos resultantes fueron reaccionados con t butil 3 amino 5 fluoro-4

hidroxipentanoato de acuerdo al mismo procedimiento de los Ejemplos 1 y 2 para dar los compuestos de los títulos de los siguientes ejemplos 49 – 59

[711] Ejemplo 49

[712] Ácido 3 ({[5-etil 3 (2 piridinil)-4 5-dihidro-5 isoxazolil]carbonil} amino) 5 fluoro-4-oxopentanoico (laa7)

[714] ¹H NMR (500MHz DMSO-d₆) δ 12.41 (bs 1H) 8.61(s 1H) 8.59-8.53 (dd 1H) 7.87 (m 1H) 7.44 (m 1H) 5.19 5.04 (dos d 1H) 4.70 (m 1H) 4.45-4.27 (m 1H) 3.67 (m 1H) 3.42 (m 1H) 2.95 2.53 (dos m 2H) 1.96 (m 1H) 1.86 (m 1H) 0.85 (m 3H)

[715] Masa M+H 352

[717] Ejemplo 50

[718] Acido 3 [{[3 [4 (tert butil) 2 piridinil] 5-etil-4 5-dihidro-5 isoxazolil} carbonil] amino]-5 fluoro-4-oxopentanoico (laa8)

[720] ¹H NMR (400MHz CDCl₃) δ 8.58 (d 1H) 7.90 (s 1H) 7.65 (bs 1H) 7.45 7.39 (m 1H) 4.98-4.68(m 3H) 3.92 & 3.88 (dos d 1H) 3.52 & 3.47(dos d 1H) 3.05 2.86 (m 2H) 2.23 2.18(m 1H) 2.08 2.00(m 1H) 1.38 (s 9H) 1.05 (t 3H)

[721] Masa M+H 408

[723] Ejemplo 51

[724] ácido 3 [({(5R) 3 [4-(tert butil) 2 piridinil]-5 isopropil-4 5-dihidro-5 isoxazolil}carbonil)amino] 5 fluoro-4-oxopentanoico (laa9)

[726] ¹H NMR(400MHz CDCl₃) δ 8.58(d 1H) 7.88(d 1H) 7.61(bs 1H) 7.43(m 1H) 4.84(m 1H) 4.60(bs 2H) 3.89 3.82(dos d 1H) 3.60 3.55(dos d 1H) 3.04 2.86(m 2H) 2.38(m 1H) 1.38(s 9H) 1.07(m 6H)

[727] Masa M+H 422

[729] Ejemplo 52

[730] Ácido 3-({[5 Etil-3-(4 isobutil 2 piridinil)-4 5-dihidro-5 isoxazolil]
carbonil}amino)-5 fluoro-4-oxopentanoico (laa10)

[732] ^1H NMR(500MHz DMSO- d_6) δ 8 58 8 52(dd 1H) 8 49(s 1H) 7 68(s 1H)
7 27(s 1H) 5 19 5 04(m 1H) 4 69(m 1H) 4 46-4 29(m 1H) 3 68(m 1H) 3 41
3 37(dd 1H) 2 93 2 46(m 4H) 1 95 1 85(dos m 3H) 0 86 0 82(m 9H)

[733] Masa M+H 408

[735] Ejemplo 53

[736] Acido 3-({[3-(4 Acetil 2 piridinil)-5-etil-4 5-dihidro 5 isoxazolil]
carbonil}amino)-5 fluoro-4-oxopentanoico (laa11)

[738] ^1H NMR(500MHz CDCl_3) δ 8 79(d 1H) 8 35(s 1H) 7 76(d 1H) 7 46(bs
1H) 4 84-4 40(m 3H) 3 90 3 85(dos d 1H) 3 51 3 46(dos d 1H) 3 04 2 84(m
2H) 2 65(s 3H) HHHkdkdk2 16(m 1H) 2 02(m 1H) 1 03(m 3H)

[739] Masa M+H 394

[741] Ejemplo 54

[742] Acido 3-({[3-(4-Ciclopropil 2 piridinil) 5-etil-4 5-dihidro-5 isoxazolil]
carbonil}amino)-5 fluoro-4-oxopentanoico (laa12)

[744] ^1H NMR(500MHz DMSO d_6) δ 12 39(bs 1H) 8 41(t 1H) 7 56(d 1H)
7 12(m 1H) 5 19 5 04(m 1H) 4 72-4 66(m 1H) 4 46-4 27(m 1H) 3 69 3 63(m
1H) 3 39 3 35(dos d 1H) 2 80 2 74(m 1H) 2 63 2 52(m 1H) 2 00 1 80(m 3H)
1 06(m 2H) 0 86 0 80(m 5H)

[745] Masa M+H 392

[747] Ejemplo 55

[748] **Acido** 3-({[3 (4-Ciclopentil 2 piridinil) 5-etil-4 5-dihidro-5 isoxazolil] carbonil}amino)-5 fluoro-4-oxopentanoico (laa13)

[750] ^1H NMR(500MHz CDCl_3) δ 8.50(d 1H) 7.67(m 2H) 7.26(m 1H) 4.88 4.82(m 1H) 4.65(bs 2H) 3.88 3.81(dos d 1H) 3.45 3.41(dos d 1H) 3.05(m 1H) 2.96 2.80(m 2H) 2.20 2.12(m 3H) 2.02 1.96(m 1H) 1.83(m 2H) 1.72(m 2H) 1.60(m 2H) 1.01(t 3H)

[751] Masa $\text{M}+\text{H}$ 420

[753] Ejemplo 56

[754] **Acido** 3-({[(5R)3-(4-ciclopentil 2 piridinil)-5 isopropil-4 5-dihidro-5 isoxazolil] carbonil}amino) 5 fluoro-4-oxopentanoico (laa14)

[756] ^1H NMR(400MHz CDCl_3) δ 8.58(m 1H) 7.74(d 1H) 7.63(bs 1H) 7.38 7.32(dd 1H) 4.88-4.81(m 1H) 4.53(bs 2H) 3.87 3.79(dos d 1H) 3.56 3.53(dos d 1H) 3.12 3.04(m 1H) 3.02 2.85(m 2H) 2.38(m 1H) 2.16(m 2H) 1.88(m 2H) 1.78(m 2H) 1.65(m 2H) 1.07(m 6H)

[757] Masa $\text{M}+\text{H}$ 434

[759] Ejemplo 57

[760] **Acido** 3-({[3 (4-Ciclohexil 2 piridinil)-5-etil-4 5-dihidro 5 isoxazolil] carbonil}amino) 5 fluoro-4-oxopentanoico (laa15)

[762] ^1H NMR(400MHz CDCl_3) δ 8.61(m 1H) 7.75(d 1H) 7.64(bs 1H) 7.39 7.33(dd 1H) 4.86-4.53(dos m 3H) 3.87(t 1H) 3.50 3.45(dd 1H) 3.05 2.85(dos d 2H) 2.63(m 1H) 2.22(m 1H) 2.03(m 1H) 1.93 1.80(dos m 5H) 1.44(m 5H) 1.05(t 3H)

[763] Masa $\text{M}+\text{H}$ 434

[765] **Ejemplo 58**

[766] **Ácido** 3-({[5 Etil-3-(5 6 7 8 tetrahidro 1 isoquinolinil)-4 5-dihidro-5 isoxazolil] carbonil}amino)-5 fluoro-4-oxopentanoico (laa16)

[768] ¹H NMR(500MHz DMSO-d₆) δ 8 60 8 53(dd 1H) 8 30(d 1H) 7 15(d 1H) 5 20 5 05(m 1H) 4 74-4 66(m 1H) 4 45-4 25(m 1H) 3 75 3 68(m 1H) 3 47 3 41(m 1H) 2 94 2 88(m 2H) 2 80 2 72(m 3H) 2 62 2 53(m 1H) 1 99 1 93(m 1H) 1 88 1 80(m 1H) 1 71 1 69(m 4H) 0 88 0 84(m 3H)

[769] Masa M+H 406

[771] **Ejemplo 59**

[772] **Acido** 5 Fluoro-3-({[5 isopropil-3 (4 fenil 2 piridil)-4 5-dihidro-5 isoxazolil] carbonil}amino)-4-oxopentanoico (laa17)

[774] ¹H NMR(400MHz CDCl₃) δ 8 68(d 1H) 8 14(s 1H) 7 68(m 1H) 7 58(m 1H) 7 54 7 43(m 5H) 4 86-4 60(m 3H) 3 92 3 87(dos d 1H) 3 62(d 1H) 3 09 2 86(m 2H) 2 39(m 1H) 1 11 1 06(m 6H)

[775] Masa M+H 442

[777] **Metodo de Preparación de los Ejemplos 60-63**

[778] **Ácido** (2S)-4 (tert butoxi)-2 ({[(5R)-5 isopropil 3 (1 isoquinolinil)-4 5 dihidro-5 isoxazolil]carbonil}amino)-4 oxobutanoico [obtenido por reacción de acoplamiento de Comound (VII f) con Asp(O t Bu) OMe e hidrolisis] fue reaccionado de acuerdo con el mismo procedimiento de la Preparacion 5 para obtener el derivado de bromometil ketona (tert butil (3S) 5 bromo 3 ({[(5R) isopropil 3 (1 isoquinolinil)-4 5 dihidro 5 isoxazolil]carbonil}amino)-4 oxopentanoato) Este derivado bromometil ketona fue reaccionado con ácido difenilfosfinico en KF/DMF (ver Preparación 5) para obtener el derivado difenilfosfonloximetil ketona el cual es reaccionado de acuerdo al mismo

procedimiento como el Ejemplo 2 para obtener el compuesto del título
(Compuesto del Ejemplo 60)

[780] Los compuestos de los siguientes Ejemplos 61-63 fueron obtenidos de 1-fenil-3-(trifluorometil)-1H-pirazol-5-ol, 3-bencil-4-hidroxi-2(5H)-furanona o ácido isobutírico de acuerdo al mismo procedimiento de más arriba

[782] **Ejemplo 60**

[783] **Ácido (3S)-5-[(difenilfosforil)oxi]-3-[[[(5R)-5-isopropil-3-(1-isoquinolinil)-4,5-dihidro-5-isoxazolil]carbonil]amino]-4-oxopentanoico (laa18)**

[785] ¹H NMR(500MHz, DMSO-d₆) δ 8.92(m, 1H), 8.58(m, 1H), 8.05(m, 1H), 7.94(m, 1H), 7.81(m, 1H), 7.75-7.72(m, 3H), 7.57(m, 3H), 7.49(m, 4H), 7.35(m, 2H), 4.90-4.65(dos m, 3H), 3.79-3.75(dos d, 1H), 3.69-3.67(dos d, 1H), 2.65(dos m, 2H), 2.22(m, 1H), 0.84(m, 6H)

[786] Masa M+H 614

[788] **Ejemplo 61**

[789] **Ácido (3S)-3-[[[(5R)-5-isopropil-3-(1-isoquinolinil)-4,5-dihidro-5-isoxazolil]carbonil]amino]-4-oxo-5-[[1-fenil-3-(trifluorometil)-1H-pirazol-5-il]oxi]pentanoico (laa19)**

[791] ¹H NMR(500MHz, DMSO-d₆) δ 8.95(m, 1H), 8.83(d, 1H), 8.57(m, 1H), 8.03(d, 1H), 7.92(d, 1H), 7.80(m, 1H), 7.74(m, 1H), 7.65(d, 1H), 7.57(m, 1H), 7.51-7.34(m, 3H), 6.27(s, 1H), 5.29-5.15(m, 2H), 4.76(m, 1H), 3.92-3.88(m, 1H), 3.75-3.69(m, 1H), 2.84-2.60(m, 2H), 2.33(m, 1H), 0.96(m, 6H)

[792] Masa M+H 624

[794] **Ejemplo 62**

[795] **Ácido (3S) 5 [(4 bencil 5-oxo 2 5-dihidro-3 furanil)oxi]-3 ([[(5R)-5 isopropil-3 (1 isoquinolinil)-4 5-dihidro-5 isoxazolil]carbonil]amino)-4 oxopentanoico (Iaa20)**

[797] ¹H NMR(500MHz DMSO d₆) δ 8.97(t 1H) 8.58(d 1H) 8.04(d 1H) 7.92(d 1H) 7.81(m 1H) 7.73(m 1H) 7.23 7.07(m 6H) 7.51(m 1H) 4.79-4.65(m 3H) 3.92 3.87(dos d 1H) 3.74 3.68(dos d 1H) 2.82 2.58(m 2H) 2.31(m 1H) 0.95(m 6H)

[798] Masa M+H 586

[800] **Ejemplo 63**

[801] **Ácido (3S)-5 (isobutiriloxi) 3-([[(5R)-5 isopropil-3-(1 isoquinolinil)-4 5 dihidro 5 isoxazolil]carbonil]amino)-4-oxopentanoico (Iaa21)**

[803] ¹H NMR(500MHz DMSO d₆) δ 12.39(bs 1H) 8.96(t 1H) 8.73(m 1H) 8.58(dd 1H) 8.04(d 1H) 7.92(d 1H) 7.81(t 1H) 7.73(m 1H) 4.78(m 2H) 4.68(m 1H) 3.87 (t 1H) 3.73 3.68(dos d 1H) 2.79 2.60(dos m 2H) 2.56(m 1H) 2.31(m 1H) 1.05(d 3H) 0.95(m 9H)

[804] Masa M+H 484

[806] **Ejemplo 64**

[807] **Ácido (3S) 3 ([[(5R)-5 isopropil-3-(1 isoquinolinil)-4 5-dihidro-5 isoxazolil]carbonil]amino)-4-oxo-5 hexenoico (Iaa22)**

[808] Amida Weinreb derivada de ácido (2S)-4 (tert butoxi) 2 ([[(5R) 5 isopropil 3 (1 isoquinolinil)-4 5 dihidro 5 isoxazolil]carbonil]amino)-4-oxobutanoico (derivado condensado con N O-dimetilhidroxilamina) y bromuro de vinil magnesio fueron reaccionados y el compuesto resultante fue reaccionado de acuerdo al mismo procedimiento del Ejemplo 2 para obtener el compuesto del titulo

[810] ^1H NMR(400MHz DMSO d_6) 12.27(bs 1H) 8.95(t 1H) 8.74 8.67(dos d 1H) 8.58(m 1H) 8.04(d 1H) 7.92(d 1H) 7.83 7.72(m 2H) 6.47(m 1H) 6.22 6.11(dos dd 1H) 5.71 5.62(dos dd 1H) 4.77(m 1H) 3.90 3.79(m 1H) 3.72 3.64(m 1H) 2.82(m 1H) 2.62 2.49(m 1H) 2.30(m 1H) 0.94(m 6H)

[811] Masa M+H 410

[813] Preparación 22

[814] t Butil (3S)-3-amino-4 hidroxí-5-(2 piridiniloxi)pentanoato (VIII f)

[815] El derivado bromometil ketona X (3.2 g 7.93 mmol) un intermedio en la Preparación 5 fue disuelto en benceno (30 ml) Ag_2CO_3 (2.62 g 1.2 Eq) y fue adicionado 2 hidroxipiridina (0.93 g 1.2 Eq) y la mezcla fue agitada bajo reflujo a 80 C por 3 días. La mezcla de reacción fue filtrada a través de Celita concentrada bajo presión reducida y purificada por columna cromatográfica para obtener el derivado 2 piridiniloximetil ketona (XI f) (466 mg Rendimiento 14 %)

[817] El derivado 2 piridiniloximetil ketona (XI f) (227 mg 0.548 mmol) así obtenido fue disuelto en una mezcla solvente de tetrahidrofuran/metanol (3/2 v/v) (10 ml) fue adicionado NaBH_4 (43 mg 2.0 Eq) a 0 C y la mezcla fue agitada por 30 minutos a temperatura ambiente. La reacción fue detenida por una solución saturada de cloruro de amonio y la solución de reacción fue concentrada bajo reducción de presión. El residuo fue extraído con acetato de etilo lavado con agua y una solución acuosa de cloruro de sodio secada (Na_2SO_4 anhidro) y concentrada bajo reducción de presión para obtener el Compuesto (XIIf) (230 mg) donde el grupo ketona fue reducido al grupo hidroxilo.

[819] El grupo benciloxicarbonil del compuesto preparado atrás fue removido (Pd/C) bajo globo de hidrógeno por 40 minutos para obtener el compuesto del título (155 mg 99 %)

[821] **Método de Preparación de los Ejemplos 65-66**

[822] Los compuestos VIIf (o VIIu) y VIIIf fueron reaccionados de acuerdo al mismo procedimiento de los Ejemplos 1 y 2 para obtener los compuestos de los Ejemplos 65-66. Aquí VIIu representa ácido 5-etil-3-(2-isopropilfenil)-4,5-dihidro-5-isoxazolecarboxílico.

[824] **Ejemplo 65**

[825] **Ácido (3S)-3-({[(5R)-5-isopropil-3-(1-isoquinolinil)-4,5-dihidro-5-isoxazolil] carbonil} amino)-4-oxo-5-(2-piridiniloxi)pentanoico (Iaa23)**

[827] ^1H NMR(500MHz MeOH- d_4) δ 9.04(d, 1H), 8.50(d, 1H), 7.95(d, 1H), 7.81(d, 1H), 7.77(t, 1H), 7.69(t, 1H), 7.59(m, 1H), 6.85-6.80(m, 2H), 6.67(bs, 1H), 5.07(bs, 1H), 4.95(t, 1H), 4.84(m, 1H), 3.94-3.79(Abq, 2H), 2.92-2.80(m, 2H), 2.39(m, 1H), 1.09(m, 6H).

[828] Masa M+H 491

[830] **Ejemplo 66**

[831] **Ácido (3S)-3-({[5-etil-3-(2-isopropilfenil)-4,5-dihidro-5-isoxazolil] carbonil} amino)-4-oxo-5-(2-piridiniloxi)pentanoico (Iaa24)**

[833] ^1H NMR(500MHz DMSO- d_6) δ 8.71(bs, 1H), 8.02-7.94(dos bs, 1H), 7.71-7.64(m, 1H), 7.42-7.18(m, 4H), 6.96-6.90(dos t, 1H), 6.85-6.80(dos d, 1H), 4.99(bs, 2H), 4.86-4.78(m, 1H), 3.58(dos d, 1H), 3.48(dos d, 1H), 3.36(m, 1H), 2.81-2.61(m, 2H), 2.05-1.80(dos m, 2H), 1.14-1.03(m, 6H), 0.93-0.88(m, 3H).

[834] Masa M+H 468.21

[836] **Ejemplo 67**

[837] **2-([(3S)-4-carboxi-3-([(5R)-5 isopropil-3-(1 isoquinolinil)-4,5-dihidro-5 isoxazolil]carbonil)amino)-2-oxobutil]oxi}-1-metilpiridinium trifluorometanosulfonato (Iaa25)**

[838] El intermedio *t* butil ((3S)-3-([(5R)-5 isopropil-3-(1 isoquinolinil)-4,5-dihidro-5 isoxazolil]carbonil)amino)-4-oxo-5-(2 piridiniloxi)pentanoato (49 mg 90 μ mol) obtenido después de la reacción de oxidación Dess Martin en el Ejemplo 65 fue disuelta en diclorometano (2 ml) fue adicionado metil trifluorometanosulfonato (1.1 Eq 10.1 μ l) y la mezcla fue agitada por un día a temperatura ambiente. Después de concentración bajo presión reducida el residuo fue sujeto al mismo procedimiento del Ejemplo 2 para obtener el compuesto del título (60 mg)

[840] ^1H NMR(500MHz DMSO d_6) δ 9.00, 8.91(m, 2H), 8.76, 8.57(m, 2H), 8.42(m, 1H), 8.04(m, 1H), 7.93(m, 1H), 7.80(m, 1H), 7.75(m, 1H), 7.54(m, 1H), 5.77, 5.48(m, 2H), 4.85-4.81(m, 1H), 4.00(s, 3H), 3.94, 3.69(m, 2H), 2.87, 2.60(m, 2H), 2.33(m, 1H), 0.98 & 0.94 (dos d, 6H)

[841] Masa M + 505.20

[843] **Ejemplo 68**

[844] **2-([(3S)-4-carboxi-3-([5-etil-3-(2 isopropilfenil)-4,5-dihidro-5 isoxazolil]carbonil)amino)-2-oxobutil]oxi}-1-metilpiridinium trifluorometano sulfonato (Iaa26)**

[845] El intermedio *t* butil(3S)-3-([5-etil-3-(2 isopropilfenil)-4,5-dihidro-5 isoxazolil]carbonil)amino)-4-oxo-5-(2 piridiniloxi)pentanoato (55 mg 0.105 mmol) obtenido después de la reacción de oxidación Dess Martin en el Ejemplo 16 fue disuelta en diclorometano (2 ml) fue adicionado metil trifluorometanosulfonato (1.1 Eq 13 μ l) y la mezcla fue agitada por un día a temperatura ambiente. Después de la concentración a presión reducida el residuo fue sujeto al mismo procedimiento del Ejemplo 2 para obtener el compuesto del título (59 mg 94 %)

[847] ^1H NMR(500MHz DMSO- d_6) δ 8.80, 8.73(dos d 1H), 8.65(m 1H), 8.45, 8.38(m 1H), 7.56, 7.51(m 2H), 7.43, 7.31(m 3H), 7.24, 7.12(m 1H), 5.72, 5.48(m 2H), 4.91(m 1H), 4.01 & 3.99(dos s 3H), 3.64(dos d 1H), 3.48(dos d 1H), 3.42(m 1H), 2.90, 2.62(m 2H), 2.05-1.80(dos m 2H), 1.15, 1.03(m 6H), 0.93, 0.88(m 3H)

[848] Masa M + 482.17

[850] Método de Preparación de los Ejemplos 69-70

[851] El derivado oxima de 5-cloro-1-metil-1H-indol-2-aldehído o 1,5-dimetil-1H-indol-2-aldehído fue reaccionada con t-butil-3-amino-5-fluoro-4-hidroxipentanoato de acuerdo al mismo procedimiento de las Preparaciones 1-17, 4 y Ejemplos 1-2 para obtener los compuestos de los Ejemplos 69-70.

[853] Ejemplo 69

[854] **Ácido** 3-({[3-(5-cloro-1-metil-1H-indol-2-il)-5-isopropil-4,5-dihidro-5-isoxazolil]carbonil} amino)-5-fluoro-4-oxopentanoico (laa27)

[856] ^1H NMR(500MHz CDCl_3) δ 7.59(s 1H), 7.46, 7.39 (dos d 1H), 7.30, 7.23(m 3H), 5.01(m 1H), 4.75-4.46(m 2H), 4.02(d 1H), 3.95(s 3H), 3.71(d 1H), 2.95(m 1H), 2.77(m 1H), 2.35(m 1H), 1.04(m 6H)

[857] Masa M+H 452

[859] Ejemplo 70

[860] **Ácido** 3-({[3-(1,5-dimetil-1H-indol-2-il)-5-isopropil-4,5-dihidro-5-isoxazolil]carbonil} amino)-5-fluoro-4-oxopentanoico (laa28)

[862] ^1H NMR(500MHz CDCl_3) δ 7.48(bs 1H), 7.39(d 1H), 7.23, 7.14(m 3H), 4.76(m 1H), 4.70-4.50(m 2H), 4.07-4.02(dos d 1H), 3.99, 3.94 & 3.93(tres s 3H), 3.75, 3.48(m 1H), 2.94-2.82(dos m 1H), 2.46, 2.43(dos s 3H), 2.34(m 1H), 1.05(m 6H)

[863] Masa M+H 432

[865] Preparacion 23

[866] Resolución de Acido (5R) 5 isopropil-3-(1 isoquinolinil)-4 5 dihidro 5 isoxazolcarboxilico

[867] Ácido 5 isopropil 3 (1 isoquinolinil)-4 5 dihidro 5 isoxazolcarboxilico fue disuelto en acetona (190 ml) por calentamiento a 60 C y fue adicionado (S) a metil bencilamina (14 5 ml 112 mmol) La mezcla de reacción fue enfriada a temperatura ambiente y agitada por 4 horas El precipitado resultante fue filtrado y lavado tres veces por acetona (40 ml)

[869] La sal (S)-a metil bencilamina obtenida de esa manera de ácido (5R) 5 isopropil 3 (1 isoquinolinil)-4 5 dihidro-5 isoxazolcarboxilico fue disuelta en la mezcla (150 ml) de acetona y agua (4 1) por calentamiento a 90 C enfriada a temperatura ambiente y agitada por 3 horas El precipitado resultante fue filtrado y lavado por acetona (40 ml) tres veces para obtener la sal (S)-a metil bencilamina de ácido (5R) 5 isopropil 3 (1 isoquinolinil)-4 5-dihidro 5 isoxazolcarboxilico pura (12 8g 24 3% 99 8% ee)

[871] La pureza óptica del ácido (5R) 5 isopropil 3 (1 isoquinolinil)-4 5 dihidro 5-isoxazolcarboxilico fue estimada por el uso de columna ChiralCel OD (4 6 x 250 mm 5 mm) La mezcla de n hexano/isopropanol/ácido trifluoroacético (92/8/0 1) fue utilizada como la fase móvil a la tasa de flujo de 1 ml/min la temperatura de la columna fue de 40 C y la longitud de onda de detección fue 225 nm Los dos isómeros opticos fueron observados a los tiempos de retención de 7 8 min (isómero R) y 21 1 min (isómero S) respectivamente

[873] Ejemplo 71

[874] Resolución de Compuest (III 1)

[875] 1) Aislamiento del compuesto semilla

[876] Los dos diastereómeros del Ejemplo 16 fueron separados utilizando cromatografía de columna de sílice con líquido preparativo (diámetro 40 mm DYNAMAX 100Å). La mezcla de n hexano/isopropanol/ácido trifluoroacético (4000/32/2) fue utilizada como la fase móvil a una tasa de flujo de 50 ml/min y el diastereómero deseado fue recogido con la relación de 99:1 durante el tiempo de retención de 62~66 min a la longitud de onda de detección de 227 nm (los dos diastereómeros fueron ampliamente extraídos con el cambio de relación continuamente hasta 86 min). El diastereómero así obtenido de la relación 99:1 fue desprotegido y utilizado como semilla para la resolución.

[878] La pureza óptica fue estimada por la utilización de columna Atlantis C₁₈ (4.6 x 250 mm, 5 mm). La mezcla de acetonitrilo/agua/ácido trifluoroacético fue utilizada como la fase móvil a una tasa de flujo de 1 ml/min de acuerdo con el siguiente gradiente:

[880] t=0min 0 100 0 1

[881] 3min 20 80 0 1

[882] 50min 100 0 0 1

[884] Bajo la longitud de onda de detección de 227 nm, los dos isómeros ópticos fueron observados a tiempos de retención de 36.6 min (3R:5R isómero) y 37.1 min (3S:5R isómero) respectivamente.

[886] (3S:5R isómero) tert butil (3S) 5-fluoro-3-(((5R)-5-isopropil-3-(1-isoquinolinil)-4,5-dihidro-5-isoxazolil] carbonil} amino)-4-oxo-pentanoato

[888] ^1H NMR(500Hz CDCl_3) δ 9.13(d 1H) 8.55(d 1H) 7.85(d 1H) 7.78
7.65(m 4H) 5.22-5.02 (dos m 2H) 4.90(m 1H) 4.02(d 1H) 3.80(d 1H) 2.92
2.88 (dd 1H) 2.79-2.75(dd 1H) 2.41(m 1H) 1.34(s 9H) 1.09(m 6H)

[889] Masa $\text{M}+\text{H}$ 472

[891] (3R 5R isómero) *tert* butil (3*R*)-5 fluoro-3-({[(5*R*)-5 isopropil 3 (1
isoquinolinil)-4 5-dihidro 5 isoxazolil] carbonil} amino)-4-oxo pentanoato

[893] ^1H NMR(400MHz CDCl_3) δ 9.14(d 1H) 8.56(d 1H) 7.87(d 1H) 7.77-7.64
(m 4H) 5.25-5.00(dos q 2H) 4.90(m 1H) 4.03(d 1H) 3.82(d 1H) 2.93(dd 1H)
2.77(dd 1H) 2.42(m 1H) 1.35(s 9H) 1.11(m 6H)

[894] Masa $\text{M}+\text{H}$ 472

[896] Acido (3*S*)-5 fluoro-3 ({{[(5*R*)-5 isopropil-3 (1 Isoquinolinil)-4 5-dihidro
5 isoxazolil] carbonil} amino)-4-oxo pentanoico (lii 1)

[898] ^1H NMR(400MHz CDCl_3) δ 9.07(d 1H) 8.57(d 1H) 7.89(d 1H) 7.78
7.69(m 3H) 7.69(d 1H) 4.88-4.79(m 2H) 4.67(bs 1H) 4.07(d 1H) 3.81(d 1H)
3.08-2.93(m 1H) 2.91-2.82(m 1H) 2.43(m 1H) 1.12(m 6H)

[899] Masa $\text{M}+\text{H}$ 416

[901] Acido (3*R*)-5 fluoro-3-({[(5*R*)-5 isopropil-3 (1 isoquinolinil)-4 5-dihidro
5 isoxazolil] carbonil} amino)-4-oxo pentanoico (lii 2)

[903] ^1H NMR(500MHz CDCl_3) δ 9.07(d 1H) 8.55(d 1H) 7.87(d 1H) 7.75-
7.68(m 3H) 7.52(bs 1H) 5.20-4.35 (m 3H) 4.02(d 1H) 3.80(d 1H) 3.13-2.90(m
2H) 2.39(m 1H) 1.08(m 6H)

[904] Masa $\text{M}+\text{H}$ 416

[906] 2) Recristalización

[907] **Acido (3S)-5 fluoro 3 (((5R) 5 isopropil-3-(1 isoquinolinil)-4 5-dihidro 5 isoxazolil]carbonil)amino)-4-oxopentanoico (lii 1)**

[908] *t* butil 5 fluoro 3 (((5R) 5 isopropil 3 (1 isoquinolinil)-4 5 dihidro 5 isoxazolil]carbonil)amino)-4 oxopentanoato crudo (366g) fue disuelto en cloruro de metileno (1 9 kg) y enfriado a 0 C. Fueron adicionados trietilsilano (235 g) y ácido trifluoro acético (1 88 kg) y agitado por una hora a 0 C. La mezcla de reacción fue destilada bajo presión reducida, redisolta en acetato de etilo (2 4 kg) y el pH fue ajustado a 5 2 por adición de solución acuosa de hidróxido de sodio 2N (3 1 L). La capa orgánica fue separada y la capa acuosa fue destilada bajo presión reducida para remover el solvente. El residuo resultante fue disuelto en éter metil *t* butilo (530 g) y fue adicionada una pequeña cantidad de ácido (3S) 5 fluoro 3 (((5R)-5 isopropil 3 (1 isoquinolinil)-4 5 dihidro 5 isoxazolil]carbonil)amino)-4 oxopentanoico cristalino. Después de agitar por 16 horas a temperatura ambiente, el precipitado resultante fue filtrado y lavado con la mezcla 9 1 de éter metil *t* butilo y *n* hexano (210 ml).

[910] El ácido (3S) 5 fluoro 3 (((5R) 5 isopropil 3 (1 isoquinolinil)-4 5 dihidro 5 isoxazolil]carbonil)amino)-4-oxopentanoico así obtenido fue disuelto en acetato de etilo (240 ml) por calentamiento a 50 C. Fue adicionado lentamente *n* hexano (240 ml) y gradualmente enfriado a temperatura ambiente. Después de agitar por 24 horas a temperatura ambiente, el precipitado resultante fue filtrado y lavado con la mezcla 1 1 de acetato de etilo y *n* hexano (30 ml) para obtener el compuesto del título (lii 1 46 0 g 3S/3R=94/6 0). La pureza óptica fue estimada utilizando columna Luna (4 6 x 250 mm 5 mm C₁₈). La mezcla de acetonitrilo/20mM NH₄OAc (pH 6) (30/70) fue utilizada como la fase móvil a una tasa de flujo de 1 ml/min. Bajo la velocidad de onda de detección de 227nm, los dos isómeros ópticos fueron observados a tiempos de retención de 8 0 min (isómero 3R) y 9 0 min (isómero 3S) respectivamente.

[912] **Experimento 1**

[913] **Determinación del efecto inhibitorio de la caspasa**

[914] Las Caspasa 1 y caspasa 8 conocidas como proteasas de cisteína en la forma de $\alpha_2\beta_2$ fueron expresadas purificadas y activadas por modificación de un método conocido en Thornberry N A y otros *Naturaleza (Nature)* 1992 356 768 Thornberry N A *Métodos en Enzimología (Methods in Enzymology)* 1994 244 615 Walker N P C y otros *Célula (Cell)* 1994 78 343 y la caspasa 9 también fue purificada por un método similar y la actividad inhibitoria contra ellas fue probada Describiendo brevemente subunidades p10 y p20 (Thornberry N A y otros *Naturaleza (Nature)* 1992 356 768) fueron expresadas en *E coli* y purificadas por cromatografía de columna de níquel e intercambio aniónico para obtener caspasa 1 caspasa 8 y caspasa 9 El sustrato fluorescente AcYVAD AFC para la caspasa 1 así obtenida AcDEVD AFC para la caspasa 8 y AcLEHD AFC para la caspasa 9 fueron utilizados para determinar la actividad específica de los inhibidores sintetizados La reacción de enzima fue llevada a cabo a 25 C con varias concentraciones de los inhibidores en una solución amortiguadora que contiene 50mM HEPES(pH 7.5) 10%(w/v) sucrosa 0.1%(w/v) CHAPS 100mM NaCl 1mM EDTA y 10mM DTT en la presencia de 50 μ M AcYVAD AFC por 10nM caspasa 1 50 μ M AcDEVD AFC por 2 nM caspasa 8 y 150 μ M AcLEHD AFC por 200nM caspasa 9 Las constantes inhibitorias K_i y K_{obs} de los inhibidores fueron determinadas por medición de la velocidad de reacción con el lapso de tiempo utilizando un espectrometro fluorescente y obteniendo la tasa inicial constante K_i fue calculada de la figura Lineweaver Burk y K_{obs} de la siguiente Ecuación 1

[916] Ecuación 1

[917] $K_{obs} = \ln(1 - A_t / A_{00}) / t$

[918] en la cual

[919] A_t es la tasa de rompimiento (%) al tiempo t y

[920] A_{00} es la máxima tasa de fragmentación (%)

[921] Fue utilizado un Espectrometro Fluorescente Spectra MAX GeminiXS de Molecular Device Co en la excitación de longitud de onda de 405nm y en la emisión de longitud de onda de 505nm

[923] La actividad inhibidora *in vivo* de los inhibidores fue determinada por sujeción a la célula Jurkat (ATCC TIB 152) a apoptosis utilizando anticuerpo Fas (Upstate Biotech 05 201) y por detección de cambio de color de acuerdo al método WST 1 conocido en Francoeur A M y Assalian A (1996) Bioquímica 3 19 25 para observar la cantidad de células Jurkat vivas cuando las células fueron tratadas con el inhibidor Espectrometro Spectra MAX 240 de Molecular Device Co fue utilizado en la longitud de onda de absorbancia de 440nm

[925] Tabla 1

Com No	Caspase 1 K _{obs} / [I] (M ⁻¹ min ⁻¹)	Caspase 8 K _{obs} / [I] (M ⁻¹ min ⁻¹)	Caspase 9 K _{obs} / [I] (M ⁻¹ min ⁻¹)	Célula Jurkat IC ₅₀ (μM)
lcc	1 9 E5	3 3 E4		22 5
ldd	3 1 E5	1 9 E5		4 25
lee		1 8 E5		32 6
lff		5 0 E5		1 2
lgg	2 7 E6	1 5 E6	3 2E5	0 17
lII	1 1 E6	1 3 E7	2 0E5	0 1
lII u		1 9 E5		0 71
lII 1		2 3 E7		
lII 2		4 7 E5		
lJJ		1 9 E5		4 7
lkk		1 2 E5		1 1
lII		1 3 E5		39 2
Imm		1 6 E5		2 0

Inn		2 6 E5		6 5
loo		2 0 E4		50
lpp	2 3 E6	1 7 E5		3 5
lqq	3 3 E6	1 4 E5		37
lrr				No Actividad
lss				No Actividad
lth		4 3 E5		0 16
luu		2 9 E5		0 98
lvv		1 5 E6		0 15
lww		1 1 E6		1 9
lxx		4 0 E4		26 5
lyy		3 1 E5		31 2
lzz		4 2 E5		1 25
laa1		1 8 E5		0 33
laa2		3 2 E5		0 56
laa3		1 4 E5		2 65
laa4		5 0 E5		0 67
laa5		3 0 E5		0 3
laa6		2 0 E5		2 45
laa7		4 4 E5		2 27
laa8		4 5 E5		0 70
laa9		2 3 E5		1 24
laa10		1 5 E5		1 02
laa11		6 4 E4		31
laa12		1 9 E5		0 70
laa13		3 1 E5		0 35
laa14		4 1 E5		0 79
laa15		4 3 E5		0 72

laa16		6 2E5		0 73
laa17		1 8E5		1 14
laa18		5 2E5		1 5
laa19		1 6E4		No Actividad
laa20		3 7E4		No Actividad
laa21		No Actividad		No Actividad
laa22		No Actividad		
laa23		2 9E4		No Actividad
laa24		No Actividad		
laa25		1 7E5		No Actividad
laa26		3 1E4		No Actividad
laa27		8 2E5		1 3
laa28		1 8E6		0 6

[926] El compuesto III u es la forma (5 S) de Compound III

[928] Experimento 2

[929] Efecto terapéutico para hepatitis aguda LPS inducida en un ratón

[930] Paso 1) Preparación de la muestra de sangre

[931] Ratones hembras Balb/c (6 semanas Charles River Laboratory Osaka Japón) fueron mantenidos bajo condiciones de 22 °C 55 % de humedad relativa y ciclos de luz –oscuridad de 12 horas Alimento y agua les fueron suministrados ad libitum En solución salina libre de pirogen fueron disueltos LPS (lipopolisacárida) y D galactosamina en concentraciones de 0 4 mg/ml y 280 mg/ml respectivamente y su mezcla 1 1 fue inyectada a los ratones en una cantidad de 5 ml/kg Inmediatamente después de la inyección de LPS y D galactosamina el vehículo (una mezcla de PEG400 etanol Tween 80 = 15 7 5 25 fue diluida cinco veces con solución salina) con el compuesto de ensayo disuelto o el vehículo solo fue

intrapentonealmente inyectado a los ratones Después de 8 horas de la inyección se tomaron muestras de sangre de sus corazones

[933] Paso 2) Determinación de la actividad de la aminotransferasa en plasma

[934] La actividad ALT del plasma fue determinada para las muestras de sangre obtenidas en el paso 1 usando el kit de ensayo ALT (Asan Pharm Co Seul Korea) de acuerdo a las instrucciones de los fabricante Como resultado aparecio que la inyeccion de LPS y D galactosamina incrementa fuertemente la actividad ALT en el plasma y que los compuestos de prueba inhiben la actividad incrementada de la enzima en una forma dependiente de la dosis Basado en estos resultados los valores de ED₅₀ de los compuestos de prueba fueron calculados usando el programa Prism de GraphPad Co para dar 0.01-10 mg/kg

[936] **Experimento 3**

[937] **Efecto inhibitorio contra fibrosis hepática en ratas SD**

[938] Paso 1) Inducción de fibrosis hepática y administración

[939] Ratas macho Spargue Dawley (6 semanas Korea Biolink) fueron mantenidas bajo condiciones de 22 °C 55 % de humedad relativa y ciclos de luz –oscuridad de 12 horas Alimento y agua les fueron suministrados ad libitum Para la ligazón del conducto biliar las ratas fueron anestesiadas por inhalación de 1 % halotano el abdomen de las ratas fue abierto y los conductos biliares distal y proximal fueron ligados las parte entre sitios de ligazón fueron cortadas 2 ml de solución salina fue inyectada y suturada

[941] El compuesto de prueba (Iii) fue administrado oralmente en una dosis de 3 mg/kg o 10 mg/kg dos veces al dia Es decir el compuesto fue disuelto en un cosolvente (PEG400 etanol Tween80 =15 7.5 2.5) diluido con solución amortiguadora de fosfato (pH 7.4) cinco veces y administrada Al grupo de control

se le administró solución sin el compuesto de prueba La administracion fue hecha por 1 semana después de 1 semana de la ligazón de los conductos biliares

[943] Paso 2 Preparación de la sección de tejido y el manchado de rojo Sirius

Después de la administración las ratas fueron sacrificadas Los higados fueron fijados con 10% de formalina neutral y una sección de parafina de 5 µm de espesor fue preparada y manchada con = 1 % rojo Sirius (Rojo directo 80 Sigma) La sección de tejido fue investigada con un microscopio óptico para observar la fibras de colágeno manchadas con rojo y los resultados se muestran en la Figura 1

[946] **Experimento 4**

[947] **Efecto inhibitorio contra apoptosis durante el estancamiento de bilis en ratas SD**

[948] El compuesto de ensayo (Iii) fue administrado a las ratas SD cuyos conductos biliares fueron ligados de acuerdo al procedimiento del paso 1 del Experimento 3 Después de 2 semanas de la operación las ratas fueron sacrificadas Los higados fueron fijados con 10 % formalina neutra y una seccion de parafina de 5 µm de espesor fue preparada TUNEL manchado (staining) fue realizado usando el kit de Detección de Apoptosis *In Situ* de Peroxidasa ApopTag (Chemicon) de acuerdo a las instrucciones del fabricante Mas de 10 sitios del tejido de higado TUNEL manchado fueron fotografiadas con una magnificacion de 200 sin traslapos cuyos resultados se muestran en la Figura 1 El numero de celulas que sufrieron apoptosis en cada grupo de prueba fue contabilizado y presentado en la Tabla 2 siguiente En la Tabla la operación Sham significa el caso en que el conducto biliar fue expuesto pero no ligado y la operación BDL significa el caso donde solo el vehiculo fue administrado después de la ligazón del conducto biliar

[950] Tabla 2

[951] Efecto Inhibitorio del Compuesto (Iii) contra la Apoptosis de Células Hepáticas durante el Estancamiento de Bilis

[952] (unidad TUNEL células positivas/campo)

Operación Sham	Operacion BDL	BDL+Compuesto (Iii) 3 mg/kg	BDL+Compuesto (Iii) 10 mg/kg
0 76 ±0 15	16 7 ± 2 75	4 12 ± 1 3	5 66 ± 1 34

[954] Conclusion

[955] La inhibición efectiva de la apoptosis (75 % inhibición) con el compuesto (Iii) fue mostrada por el TUNEL staining en un modelo generado por la inducción de fibrosis hepáticas a través del estancamiento de bilis. Adicionalmente el manchado Sinus rojo mostro una severa fibrosis en el grupo de control pero casi no fibrosis en el grupo tratado con (Iii). Este grupo demostro el efecto inhibidor del compuesto (Iii) contra la fibrosis hepática en ratas y así se espera que el Compuesto (Iii) pueda exhibir la actividad farmacológica de suspender la cirrosis hepática por la inhibición de la apoptosis de células hepáticas en aplicación clínica. La aplicación puede ser extendida no solo a la cirrosis hepática por estancamiento de bilis pero también a varias enfermedades hepáticas donde la fibrosis hepatica debido a la apoptosis esta involucrada.

[957] Experimento 5

[958] Efecto antiflogistico en ratas

[959] Ratones SD machos (6 semanas Orient) fueron mantenidas bajo condiciones de 22 °C 55 % de humedad relativa y ciclos de luz –oscuridad de 12 horas. Alimento y agua les fueron suministrados ad libitum. Antes de la inducción del edema el volumen de la pata de cada ratón fue medido por pletismómetro. Antes de la inducción del edema el vehículo (una mezcla de PEG400 etanol Tween 80 = 15 7 5 2 5 fue diluida diez veces en una solución amortiguadora de

fosfato) donde el compuesto del ensayo fue disuelto o el vehiculo solo fueron administrados oralmente a los ratones Carrageenan (gamma) fue disuelto en una concentración de 1% en una solución salina y subcutáneamente inyectado en la pata posterior derecha de las ratas en una dosis de 100 µl Despues de 3 horas el volumen de la pata derecha fue medido otra vez con pletismómetro El efecto del compuesto de ensayo fue mostrado por una inhibición del edema (%) (ver Tabla 3) La inhibición del edema (5) fue calculada de acuerdo a la siguiente Ecuación 2

[961] Ecuación 2

[962]
$$\text{Inhibición de Edema (\%)} = 100 \times \frac{(\text{Incremento promedio del volumen de la pata en el grupo al que solo se le suministro el vehiculo} - \text{Incremento de volumen la pata en el grupo tratado con el compuesto})}{\text{Promedio del incremento de volumen de la pata en el grupo tratado con el compuesto}}$$

[964] Tabla 3

[965] Efecto de Inhibición de Edema del Compuesto (Iii)

Efecto de Inhibición de Edema (%)		
Dosis (mg/kg)	Promedio	SEM
3	2 3	7 7
30	20 7	9 7
100	22 7	2 6

[967] Experimento 6

[968] Efecto terapeutico para la artritis reumática en ratones

[969] Ratones hembras Lewis (7 semanas Charles River Japón) fueron mantenidas bajo condiciones de 22 °C 55 % de humedad relativa y ciclos de luz –oscuridad de 12 horas Alimento y agua les fueron suministrados ad libitum El colágeno Tipo II (bovino) fue disuelto en ácido acético 0 05M en una concentración

de 2 ml/ml a 4 °C y la misma cantidad de coadyuvante completo Freund fue adicionado para emulsificar la solución a 4 °C 0.1 ml de la solución así emulsificada fue inyectada subcutáneamente en la cola de los ratones Lewis Después de 7 días la solución emulsificada fue inyectada una vez mas de la misma manera Del día en que la segunda solución emulsificada fue inyectada el vehículo (una mezcla de PEG400 etanol Tween 80 = 15 7.5 2.5 fue diluida diez veces en una solución amortiguadora de fosfato) con el compuesto de prueba disuelto o el vehículo solo fue administrado a las ratas diariamente El día 14 después de la primera inyección de la solución emulsificada que contenía el colágeno el volumen de la pata posterior derecha fue medida otra vez con pletismómetro (ver Tabla 4) La inhibición del Edema (5) fue determinada con la Ecuación 3 siguiente

[971] Ecuación 3

[972]
$$\text{Inhibición de Edema (\%)} = 100 \times \frac{(\text{Incremento promedio del volumen de la pata en el grupo al que solo se le suministro el vehículo en el día 14} - \text{Incremento de volumen la pata en el grupo tratado con el compuesto en el día 14})}{\text{Promedio del incremento de volumen de la pata en el grupo tratado con el compuesto en el día 14}}$$

[974] Además el valor p fue calculado por el ensayo Student t del volumen incrementado de la pata en el día 14 para confirmar la significación

[976] Tabla 4

[977] Efecto de Inhibición de Edema de Pata

Dosis del Compuesto (Iii) (mg/kg)	Volumen de la Pata (ml)				Efecto de inhibición del Edema (%)	
	Día 0		Dia 14		Dia 14	
	Promedio	SEM	Promedio	SEM	Promedio	SEM
0	1 115	0 036	1 975	257		
10	1 134	0 032	1 394	089	69 8	10 8

[978] valor p = 0 032

[980] En la prueba edema de pata en las ratas el Compuesto (Iii) mostró una inhibición del edema dependiente de las dosis de cerca de 2 21 y 23 % a dosificaciones de 3 30 y 100 mg/kg respectivamente En el modelo de artritis reumática el edema de la pata fue disminuido significativamente (cerca del 70% de disminución) en el grupo administrado con el Compuesto (Iii) en el dia 14 cuando el grupo de control negativo mostraba el máximo edema En consecuencia se considera que el Compuesto (Iii) tiene un efecto inhibitorio contra el progreso de la inflamación en un modelo de enfermedad inflamatoria y así puede tratar enfermedades inflamatorias autoinmunes

[982] Experimento 7

[983] Comparación de efectos con compuestos conocidos

[984] El compuesto (Iii) de acuerdo con al invención y LB84068MP (Compuesto 68) conocido en PCT/KR00/01047 (WO/21600) fueron ensayados y los resultados son mostrados en la Tabla 5

[986] Tabla 5

	LB84068MP	Iii
K _{obs} /[I] contra caspasa 8	1 03 E6 (M ⁻¹ min ⁻¹)	1 30 E7 (M ⁻¹ min ⁻¹)

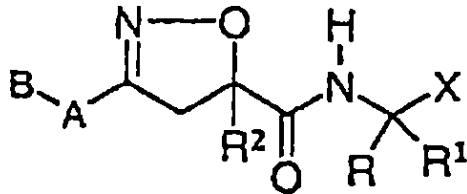
IC ₅₀ (Celula Jurkat)	1 6 µM	0 1 µM o menos
ED ₅₀ (LPS + Gal)	99 mg /kg	0 01 mg/kg
Solubilidad (pH=7 4 fosfato)	0 93 mg/ml o menos	7 8 g/ml

[988] Como puede verse en la Tabla 5 anterior el Compuesto (Iii) de acuerdo a la presente invención mostró una actividad inhibitoria incrementada 10 veces o mas contra caspasa 8 y la célula Jurkat en comparación LB84068MP y por cerca de 100 veces contra hepatitis aguda LPS inducida (ratones) También en relacion con las propiedades físico químicas el compuesto mostró una solubilidad mejorada y así el puede ser facilmente usado como una inyección Esto es el compuesto de la presente invencion muestra unos efectos altamente mejorados en comparacion con el compuesto de LB84068MP en ambos aspectos actividad y propiedades físico químicas

REIVINDICACIONES

[1] 1 Un compuesto de la siguiente formula (1)

[2]



(1)

en el cual

I) R representa H cadena alquil simple (SAC) Cadena cicloalquil simple (SCAC) grupo aril (Ar) o cadena alquil simple sustituida por un aril (SAC Ar)

[3] II) R¹ representa –SAC SCAC Ar SAC Ar o un residuo de cadena lateral de todos los amino ácidos naturales y el compuesto de la formula (1) puede existir en una forma diastereomérica específica o mezclas de ellas cuando el carbono al cual R¹ esta enlazado se convierte en un estereocentro debido al grupo R¹ o el compuesto de la formula (1) puede tener un grupo protector en la forma de un ester (CO R³ donde R³ es –SAC) o en forma de sulfonamida (CONHSO R⁴ donde R⁴ es –SAC) o puede existir en la forma de una sal farmacéuticamente aceptable donde R¹ es un residuo de cadena lateral de un amino ácido que contiene moiety de carboxil o el compuesto de la formula (1) puede tambien existir en la forma de una sal farmacéuticamente aceptable donde R¹ es un residuo de cadena lateral de un amino ácido que contiene moiety de base

III) R² representa –SAC SCAC Ar SAC Ar o un residuo de cadena lateral de todos los amino ácidos naturales y el compuesto de la formula (1) puede existir en una forma diastereomérica específica o mezclas de ellas cuando el carbono al cual R² esta enlazado se convierte en un

estereocentro debido al grupo R^2 el compuesto de la formula (1) puede tener un grupo protector en la forma de un ester ($CO R^5$ donde R^5 es -SAC) o en forma de sulfonamida ($CONHSO R^6$ donde R^6 es -SAC) o puede existir en la forma de una sal farmacéuticamente aceptable donde R^2 es un residuo de cadena lateral de un amino ácido que contiene moiety de carboxil o el compuesto de la formula (1) puede también existir en la forma de una sal farmacéuticamente aceptable donde R^2 es un residuo de cadena lateral de un amino ácido que contiene moiety base

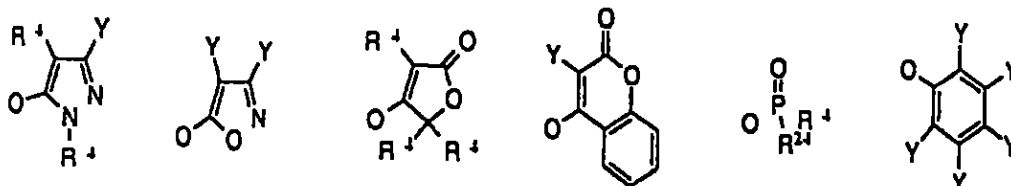
R^2 representa adicionalmente H $(CH_2) OR^7$ donde R^7 es -SAC SCAC Ar o SAC Ar y $n=1$ o 2 o $-(CH_2)_n OC(=O)R^8$ donde R^8 es -SAC SCAC Ar o SAC Ar $n=1$ o 2

IV) A representa $-(CH_2)_n - (n=0-4)$ O $(CH_2)_n - (n=0-4)$ o $-NR^9 (CH_2)_n - (n=0-4)$ donde R^9 es -SAC SCAC Ar o SAC Ar

V) B representa H -SAC SCAC Ar o SAC Ar o

VI) R y R^1 pueden formar conjuntamente un ciclo con el átomo de carbono al cual ellos están enlazados donde $-R R^1$ es $(CH_2)_n (CH_2)_n O (CH_2)_m$ o $(CH_2)_n -NR^{10} (CH_2)_m$ donde $n+m<9$ y R^{10} es -SAC SCAC Ar o SAC Ar $C(=O) SAC C(=O) SCAC SCAC C(=O)-Ar$ o $-C(=O) SAC Ar$

VII) X representa $-C(=O)CH_2 OR^{11}$ es -SAC SCAC Ar o SAC Ar - $C(=O)CH_2 OC(=O)R^{12}$ donde R^{12} es -SAC SCAC Ar o SAC Ar $CH=CH CO_2 R^{13}$ donde R^{13} es -SAC SCAC Ar o SAC Ar $CH=CH SO_2 R^{14}$ donde R^{14} es -SAC SCAC Ar o SAC Ar $C(=O)CH=CH_2$ o $COCH_2 -W$ donde W es $-N_2 F Cl Br I NR^{15}R^{16}$ (R^{15} y R^{16} cada uno son -SAC SCAC Ar o SAC Ar o juntos pueden formar un grupo cíclico no saturado o saturado de 3 a 6 miembros) SR^{17} (R^{17} es -SAC SCAC Ar o SAC Ar) o es la siguiente formula



donde

Y es H OH OR¹⁸ (R¹⁸= -SAC o -SCAC) C(=O)R¹⁹ (R¹⁹= H -SAC o SCAC) F Cl Br I CN NC N₃ CO₂H CF₃ CO R²⁰ (R²⁰= -SAC o SCAC) C(=O)NHR²¹ (R²¹= -SAC o -SCAC) O -C(=O)NR²²R²³ (R²² Y R²³ cada uno son -SAC SCAC Ar o -SAC Ar)
R²⁴ es H SAC SCAC o Ar

- [4] 2 El compuesto de acuerdo a la reivindicación 1 donde R representa H
- [5] 3 El compuesto de acuerdo a la reivindicación 1 donde R¹ representa -CH₂ COOH CH₂ COOR³ (R³ = SAC) o -CH₂ CONHSO₂ R⁴ donde (R⁴ = SAC)
- [6] 4 El compuesto de acuerdo a la reivindicación 1 donde R² representa H -SAC Ar o (CH₂)_n OR⁷ (R⁷= -SAC SCAC Ar o SAC Ar y n= 1 o 2)
- [7] 5 El compuesto de acuerdo a la reivindicación 1 donde X representa -C(=O)CH₂ OAr -C(=O)CH₂ OC(=O)Ar o COCH₂ -W donde W es -N₂ F Cl Br I NR¹⁵R¹⁶ (R¹⁵ y R¹⁶ cada uno son -SAC SCAC Ar o SAC Ar o juntos pueden formar un grupo ciclico no saturado o saturado de 3 a 6 miembros) SR¹⁷ (R¹⁷ es -SAC SCAC Ar o SAC Ar)
- [8] 6 El compuesto de acuerdo a la reivindicación 1 donde R representa H
- II) R¹ representa -CH₂ COOH CH₂ COOR³ (R³ = SAC) o -CH₂ CONHSO₂ R⁴ (R⁴=SAC)
- III) R² representa H -SAC Ar o (CH₂)_n OR⁷ (R⁷= -SAC SCAC Ar o SAC Ar y n= 1 o 2)
- IV) A representa -(CH₂)_n - (n=0-4) O (CH₂)_n - (n=0-4)
- V) B representa H -SAC SCAC Ar o SAC Ar
- VI) X representa -COCH₂ N₂ COCH₂F COCH₂Cl COCH₂Br COCH₂I COCH₂ OAr o COCH₂ SR¹⁷ (R⁷ es -SAC SCAC Ar o SAC Ar)
- [9] 7 El compuesto de acuerdo a la reivindicación 1 el cual es seleccionado del siguiente grupo

- (1) ácido (3S) 5 [(2 6-diclorobenzil)oxi] 3([5 metil 3 fenil-4 5 dihidro 5 isoxazolil]carbonil}amino)-4-oxopentanoico (laa)
- (2) ácido (3S) 3 ([5 metil 3 fenil-4 5 dihidro 5 isoxazolil]carbonil}amino)-4 oxo 5 fenoxipentanoico (lbb)
- (3) ácido (3S) 3 ([5-etil 3 fenil-4 5 dihidro 5 isoxazolil]carbonil}amino)-4 oxo 5 (2 3 5 6 tetrafluorofenoxi)pentanoico (lcc)
- (4) ácido (3S)-3 ([5 etil 3 (1 naftil)-4 5 dihidro 5 isoxazolil] carbonil}amino)-4-oxo 5 (2 3 5 6 tetrafluorofenoxi)pentanoico (ldd)
- (5) ácido (3S)-3 ([5 etil 3 (2 naftil)-4 5 dihidro 5 isoxazolil] carbonil}amino)-4 oxo 5 (2 3 5 6 tetrafluorofenoxi)pentanoico (lee)
- (6) ácido (3S) 3 ([5 etil 3 (1 isoquinolinil)-4 5 dihidro 5 isoxazolil] carbonil}amino)-4 oxo 5 (2 3 5 6 tetrafluorofenoxi)pentanoico (lff)
- (7) ácido (3S) 3 ([5 etil 3 (1 isoquinolinil)-4 5 dihidro 5 isoxazolil] carbonil}amino) 5 fluoro-4 oxopentanoico (lgg)
- (8) etil 3 ([5 etil 3 (1 isoquinolinil)-4 5 dihidro 5 isoxazolil]carbonil} amino) 5 fluoro-4-oxopentanoato (lhh)
- (9) ácido 5 fluoro 3 ([5(5R) 5 isopropil 3 (1 isoquinolinil)-4 5 dihidro 5 isoxazolil] carbonil}amino)-4 oxopentanoico (lih)
- (10) ácido 3 ([5 etil 3 (4 quinolinil)-4 5 dihidro 5 isoxazolil] carbonil} amino) 5 fluoro-4 oxopentanoico (lij)
- (11) ácido 3 ([3 (benzotiofen 2 il) 5 etil-4 5-dihidro 5 isoxazolil] carbonil}amino) 5 fluoro-4-oxopentanoico (lkk)
- (12) ácido (3S) 3 ([3 (1 3-dimetil 1H indol 2 il)-5 etil-4 5 dihidro 5 isoxazolil]carbonil}amino)-4 oxo 5 (2 3 5 6 tetrafluorofenoxi)pentanoico (lil)
- (13) ácido 3 ([3 (1 3 dimetil 1H indol 2 il)-5 etil-4 5 dihidro 5 isoxazolil]carbonil}amino) 5 fluoro-4-oxopentanoico (lmm)
- (14) ácido (3S) 3 ([5 etil 3 (1 naftilmetil)-4 5-dihidro 5 isoxazolil] carbonil}amino)-4 oxo 5-(2 3 5 6 tetrafluorofenoxi)pentanoico (lnn)

- (15) ácido (3S) 5 [(2,6-diclorobenzil)oxi] 3 ({[5-etil-3-(2-naftil)etil]-4,5-dihidro-5-isoxazolil] carbonil}amino)-4-oxopentanoico (loo)
- (16) ácido (3S)-3 ({[5-etil-3-(1-naftiloxi)metil]-4,5-dihidro-5-isoxazolil] carbonil}amino)-4-oxo-5-(2,3,5,6-tetrafluorofenoxi)pentanoico (lpp)
- (17) ácido (3S) 3 {[3-{[(4-cloro-1-naftil)oxi]metil}-5-etil-4,5-dihidro-5-isoxazolil] carbonil}amino)-4-oxo-5-(2,3,5,6-tetrafluorofenoxi)pentanoico (lqq)
- (18) ácido (3S, 4E) 6-etoxi-({[5R]-5-isopropil-3-(1-isoquinolinil)-4,5-dihidro-5-isoxazolil] carbonil}amino)-6-oxo-4-hexenoico (lrr)
- (19) ácido (3S, 4E)-3 ({[(5R)-5-isopropil-3-(1-isoquinolinil)-4,5-dihidro-5-isoxazolil] carbonil}amino)-5-(metilsulfonil)-4-pentenoico (lss)
- (20) ácido 5-fluoro-3 ({[(5R)-3-(1-isoquinolinil)-propil]-4,5-dihidro-5-isoxazolil] carbonil}amino)-4-oxopentanoico (lth)
- (21) ácido 3 ({[(5S)-5-etil-3-(1-naftil)-4,5-dihidro-5-isoxazolil] carbonil}amino)-5-fluoro-4-oxopentanoico (luu)
- (22) ácido 3 ({[(5S)-5-etil-3-(2-quinolinil)-4,5-dihidro-5-isoxazolil] carbonil}amino)-5-fluoro-4-oxopentanoico (lvv)
- (23) ácido 3 ({[(5R)-5-etil-3-(3-isoquinolinil)-4,5-dihidro-5-isoxazolil] carbonil}amino)-5-fluoro-4-oxopentanoico (lww)
- (24) ácido 3 ({[5-etil-3-(8-quinolinil)-4,5-dihidro-5-isoxazolil] carbonil}amino)-5-fluoro-4-oxopentanoico (lxx)
- (25) ácido 3 ({[5-etil-3-(3-quinolinil)-4,5-dihidro-5-isoxazolil] carbonil} amino)-5-fluoro-4-oxopentanoico (lyy)
- (26) ácido 5-fluoro-3 ({[(5R)-5-isopropil-3-(2-quinolinil)-4,5-dihidro-5-isoxazolil] carbonil} amino)-4-oxopentanoico (lzz)
- (27) ácido 3 ({[5-etil-3-(2-isopropilfenil)-4,5-dihidro-5-isoxazolil] carbonil} amino)-5-fluoro-4-oxopentanoico (laal)
- (28) ácido 3-{[3-(tert-butil)fenil]-5-etil-4,5-dihidro-5-isoxazolil} carbonil} amino]-5-fluoro-4-oxopentanoico (laa2)

- (29) ácido 3 [({3 [4 (tert butil)fenil] 5 etil-4 5 dihidro 5 isoxazolil} carbonil) amino] 5 fluoro-4 oxopentanoico (laa3)
- (30) ácido 5 fluoro 3 (((5R) 5 isopropil 3 (2 isopropilfenil)-4 5 dihidro 5 isoxazolil] carbonil) amino)-4-oxo pentanoico (laa4)
- (31) ácido 3 [(((5R) 3 [3 (tert butil)fenil] 5-isopropil-4 5-dihidro 5 isoxazolil} carbonil)amino] 5 fluoro-4 oxopentanoico (laa5)
- (32) ácido 3 [({3 [1 1 bifenil] 3 il 5 isopropil-4 5-dihidro 5 isoxazolil} carbonil)amino} 5 fluoro-4 oxopentanoico (laa6)
- (33) ácido 3 ([{5 etil 3 (2 pirdinil)-4 5 dihidro 5 isoxazolil]carbonil} amino)-5 fluoro-4-oxopentanoico (laa7)
- (34) ácido 3 [({3 [4 (tert butil) 2 pirdinil] 5 etil-4 5-dihidro 5 isoxazolil} carbonil) amino] 5 fluoro-4 oxopentanoico (laa8)
- (35) ácido 3 [(((5R)-3 [4 (tert butil) 2 pirdinil] 5 isopropil-4 5 dihidro 5 isoxazolil}carbonil)amino] 5 fluoro-4 oxopentanoico (laa9)
- (36) ácido 3 ([{5 Etil 3 (4 isobutil 2 pirdinil)-4 5-dihidro 5 isoxazolil} carbonil)amino) 5 fluoro-4 oxopentanoico (laa10)
- (37) ácido 3 ([{3 (4 acetil 2 pirdinil)-5 etil-4 5-dihidro 5 isoxazolil} carbonil} amino)-5 fluoro-4-oxopentanoico (laa11)
- (38) ácido 3 ([{3 (4 cyclopropil 2 pirdinil)-5 etil-4 5-dihidro 5 isoxazolil} carbonil)amino) 5 fluoro-4 oxopentanoico (laa12)
- (39) ácido 3 ([{3 (4 cyclopentil 2 pirdinil) 5 etil-4 5 dihidro 5 isoxazolil]carbonil)amino) 5 fluoro-4-oxopentanoico (laa13)
- (40) ácido 3 [(((5R) 3 (4 ciclopentil 2 pirdinil) 5 isopropil-4 5 dihidro 5 isoxazolil]carbonil} amino)-5 fluoro-4 oxopentanoico (laa14)
- (41) ácido 3 ([{3 (4 ciclohexil 2 pirdinil) 5 Etil-4 5 dihidro 5 isoxazolil} carbonil} amino) 5 fluoro-4 oxopentanoico (laa15)
- (42) ácido 3 ([{5 Etil 3 (5 6 7 8 tetrahidro 1 isoquinolinil)-4 5-dihidro 5 isoxazolil]carbonil}amino)-5 fluoro-4-oxopentanoico (laa16)

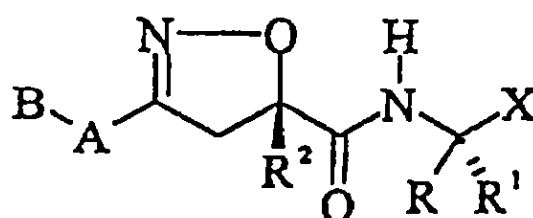
- (43) ácido 5 fluoro 3 ([[5 isopropil 3 (4 fenil 2 pindinil)-4 5 dihidro 5 isoxazolil]carbonil]amino)-4-oxopentanoico (laa17)
- (44) ácido (3S) 5 [(difenilfosforil)oxi] 3 ([[5R) 5 isopropil 3 (1 isoquinolinil)-4 5 dihidro 5 isoxazolil]carbonil]amino)-4 oxopentanoico (laa18)
- (45) ácido (3S) 3 ([[5R) 5 isopropil 3 (1 isoquinolinil)-4 5 dihidro 5 isoxazolil]carbonil]amino)-4-oxo 5 [[1 fenil 3 (trifluorometil) 1H pirazol 5 il]oxi]pentanoico (laa19)
- (46) ácido (3S) 5 [(4 bencil 5 oxo 2 5-dihidro 3 furanil)oxi] 3 ([[5R)-5 isopropil 3 (1 isoquinolinil)-4 5 dihidro 5 isoxazolil]carbonil]amino)-4 oxopentanoico (laa20)
- (47) ácido (3S)-5 (isobutiriloxi)-3 ([[5R) 5 isopropil 3 (1 isoquinolinil)-4 5 dihidro 5 isoxazolil]carbonil]amino)-4-oxopentanoico (laa21)
- (48) ácido (3S)-3 ([[5R) 5 isopropil 3 (1 isoquinolinil)-4 5 dihidro 5 isoxazolil]carbonil] amino)-4 oxo 5 hexenoico (laa22)
- (49) ácido (3S)-3 ([[5R) 5 isopropil 3 (1 isoquinolinil)-4 5 dihidro 5 isoxazolil]carbonil]amino)-4-oxo 5 (2 piridiniloxi) pentanoico (laa23)
- (50) ácido (3S) 3 ({ [5 etil 3 (2 isopropilfenil)-4 5-dihidro 5 isoxazolil] carbonil]amino)-4-oxo 5 (2 pindiniloxi) pentanoico (laa24)
- (51) 2-[[[(3S)-4 carboxi 3 ([[5R)-5 isopropil 3 (1 isoquinolinil)-4 5 dihidro 5 isoxazolil]carbonil]amino) 2-oxobutil]oxi] 1metilpindiniumtrifluorometanosulfonato (laa25)
- (52) 2 f[(3S)-4 carboxi 3 ([[5 etil 3 (2 isopropilfenil)-4 5-dihidro 5 isoxazolil]carbonil]amino) 2 oxobutil]oxi} 1 metilpindinium trifluorometanosulfonato (laa26)
- (53) ácido 3 1[3 (5 cloro 1 metil 1H indol 2 il)-5 isopropil-4 5 dihidro 5 isoxazolil]carbonil]amino)-5 fluoro-4-oxopentanoico (laa27)
- (54) ácido 3 ([[3 (1 5-dimetil 1H indol 2 il) 5 isopropil-4 5 dihidro 5 isoxazolil] carbonil]amino) 5 fluoro-4 oxopentanoico (laa28) y

(55) ácido (3S)-5 fluoro 3 (((5R) 5 isopropil 3 (1 isoquinolinil)-4 5-dihidro-5 isoxazolil] carbonil}amino)-4-oxopentanoico (Iii 1)

[10] 8 El compuesto de acuerdo a la Reivindicación 1 que es acido 5 fluoro 3 (((5R) 5 isopropil 3 (1 isoquinolinil)-4 5-dihidro 5 isoxazolil]carbonil}amino) 4-oxopentanoico (Iii)

[11] 9 A compuesto de la formula (1 a)

[12]



[13] (1 a)

en la cual

A B R R¹ R² y X estan definidos como en la reivindicación I

[14] 10 El compuesto de acuerdo a la reivindicación 9 el cual es (3S)-5 fluoro 3 (((5R) 5 isopropil 3 (1 isoquinolinil)-4 5 dihidro 5 isoxazolil] carbonil}amino)-4 oxopentanoico (Iii 1)

[15] 11 Un proceso para preparar el compuesto (Iii 1) definido en la reivindicación 10 el cual incluye los pasos de disolver una mezcla de ácido (3S) 5 fluoro 3 (((5R)-5 isopropil 3 (1 isoquinolinil)-4 5 dihidro 5 isoxazolil] carbonil}amino)-4 oxopentanoico y (3R) 5-fluoro 3 (((5R) 5 isopropil 3 (1 isoquinolinil)-4 5-dihidro 5 isoxazolil]carbonil}amino)-4 oxopentanoico en metil t butil eter adicionando una pequena cantidad de ácido (3S) 5 fluoro 3 (((5R)-5 isopropil 3 (1 isoquinolinil)-4 5-dihidro 5 isoxazolil]carbonil}amino)-4 oxopentanoico cristalino como material semilla para obtener un cristal y recristalizando este cnstal a partir de un sistema solvente de etil acetato/n hexano

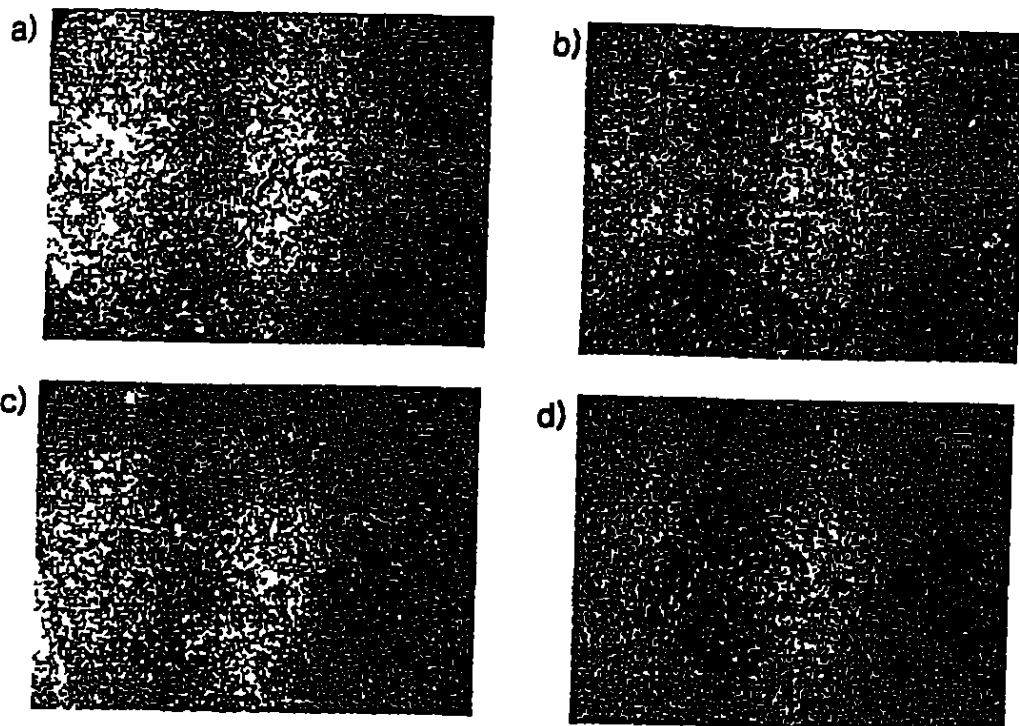
- [16] 12 Una composición terapéutica para prevenir la inflamacion y apoptosis que incluye el compuesto de inhibidores de caspase de la formula (1) sal o estereoisómero de el como se definió en la reivindicación 1 como una ingrediente activo junto con un vehículo farmacéuticamente aceptable
- [17] 13 La composición de acuerdo a la reivindicacion 12 para el tratamiento de demencia derrame cerebral dano cerebral debido a AIDS diabetes ulcera gástrica lesion cerebral por hepatitis enfermedades hepáticas inducidas por la hepatitis hepatitis aguda falla fulminante hepática cirrosis del higado sepsis rechazo de transplante de órgano artritis reumatica o apoptosis de células cardiacas debido a isquemia cardiaca
- [18] 14 La composición de acuerdo a la reivindicación 12 para el tratamiento de hepatitis aguda o cirrosis del hígado
- [19] 15 La composición de acuerdo a la reivindicación 12 para el tratamiento de artritis reumática
- [20] 16 La composición de acuerdo a la reivindicación 12 la cual es formulada como una preparación oral una inyección o un parche
- [21] 17 La composición de acuerdo a la reivindicación 12 que incluye el compuesto (Iii) como se definió en la reivindicación 8 como componente activo
- [22] 18 La composicion de acuerdo a la reivindicación 12 que incluye el compuesto (Iii 1) como se definió en la reivindicación 10 como componente activo
- [23] 19 Un proceso para preparar una composición terapéutica para prevenir inflamación y apoptosis como se definió en la reivindicacion 12 que incluye la mezcla de un inhibidor de caspase de formula (1) sal o estereoisómero de ella como se definió en la reivindicación 1 con un vehículo farmacéuticamente aceptable
- [24] 20 Un metodo para prevenir inflamacion y apoptosis que incluye la administración de una cantidad efectiva de compuesto inhibidor de caspase

de formula (1) sal o estereoisómero de él como se definió en la reivindicación 1 a un paciente que sufre de inflamacion y apoptosis

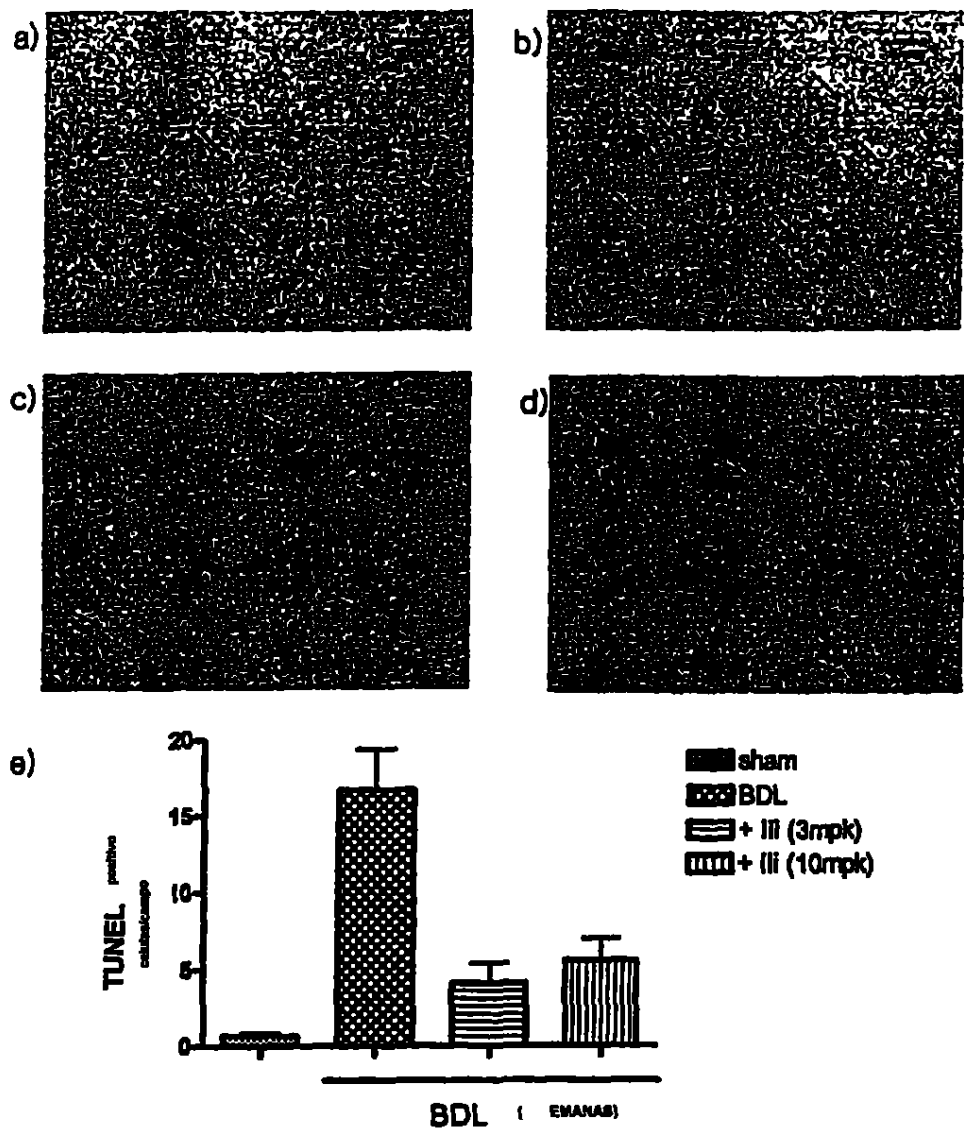
- [25] 21 Un uso del compuesto inhibidor de caspase de formula (1) sal o estereoisómero de él como se definió en la reivindicación 1 para prevenir inflamación y apoptosis

WPC13548/ID-65

[Fig 1]



[Fig 2]



|

Reetro folw 194 PARA PUBLICACION

RECIBO DE CAJA APLICADO AL EXPEDIENTE No



Industria y Comercio
SUPERINTENDENCIA

SUPERINDUSTRIA Y COMERCIO
Radicacion 06019337 00000000 Folios 195
Fecha (AMD) 2006-02-27 1/ 1/ 59
Tramite 011 PCI-PATENT 3/9 FASE NACI 411 PRESENTAC
Dependencia 2626 DIVISION DE NUEVAS CREACIONES

195

**Delegatura de Propiedad Industrial
División de Nuevas Creaciones**

**REQUISITOS NECESARIOS PARA PRESENTACIÓN Y AGILIZACION DEL
TRAMITE**

PATENTE DE INVENCION (✓)	MODELO DE UTILIDAD ()	USUARIO ()	RADICADOR ()
Indicación de que se solicita la concesión de una patente	()	()	(✓)
Datos de identificación del solicitante o de la persona que se presenta la solicitud	()	()	(✓)
Descripción de la invención	()	()	(✓)
Dibujos de ser estos pertinentes	()	()	()
Comprobante de Pago de las tasas establecidas	()	()	(✓)
COMPLETA (✓)	INCOMPLETA ()	()	()

DISEÑO INDUSTRIAL ()

Indicación de que se solicita el registro de Diseño Industrial	()	()
Datos de identificación del solicitante o de la persona que se presenta la solicitud	()	()
Representación grafica y fotográfica del Diseño Industrial o muestra del Material que incorpora el diseño	()	()
Comprobante de Pago de las tasas establecidas	()	()
COMPLETA ()	INCOMPLETA ()	()

ESQUEMA DE TRAZADO ()

Indicación de que se solicita el registro de Diseño Industrial	()	()
Datos de identificación del solicitante o de la persona que se presenta la solicitud	()	()
Representación gráfica del Esquema Trazado	()	()
Comprobante de Pago de las tasas establecidas	()	()
COMPLETA ()	INCOMPLETA ()	()

Firma Responsable

Fecha

Extracto Folio 194

147
196

REPUBLICA DE COLOMBIA
SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

Bogotá
2020

Doctor(a)
FERRERO EMILIO
Apoderado(a) y/o Representante de
LG LIFE SCIENCES LTD

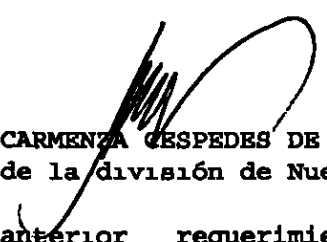
REFERENCIA	Radicación No	6 19337
	Solicitud internacional	KR2004/002139
	Fecha inicio fase nacional	27/03/2006
	Trámite	11
	Evento	379
	Actuación	430
	Oficio No	4376

Como resultado del examen de forma realizado con fundamento en el artículo 38 de la Decisión 486 de la Comisión de la Comunidad Andina artículo 27 del Tratado de Cooperación en Materia de Patentes (PCT) regla 51 bis del Reglamento y Circular Única de la Superintendencia de Industria y Comercio se le comunica que

1 La solicitud no contiene la copia del documento en que consta la cesión del derecho a la patente del inventor al solicitante o a su causante (Art 26 k) Decisión 486

En cumplimiento de lo dispuesto por el artículo 39 de la Decisión 486 se le requiere para que dentro del término de dos meses siguientes a la fecha de notificación del presente oficio complete los requisitos anteriormente enunciados En caso de no dar cumplimiento al presente requerimiento la solicitud se considerará abandonada y perderá su prelación

Notifíquese el presente oficio conforme a lo dispuesto en el numeral 5 2 literal e) del capítulo quinto del título primero de la Circular Unica No 10 de 2001


ALIX CARMENZA CESPEDES DE VERGEL
Jefe de la división de Nuevas Creaciones

El anterior requerimiento fue notificado por fijación en lista de
fecha 21 ABR 2006
gramos