

Industria y Comercio

SUPERINTENDENCIA



Nov
R&F

Delegatura de Propiedad Industrial

División de Nuevas Creaciones



Organización y
Digitalización CSA Ltda

SOLICITUD

PCT

PATENTE DE INVENCION

09-9364

21. EXPEDIENTE No.

54. TÍTULO

INHIBIDORES DE CASPASA BASADOS EN LA

ESTRUCTURA DE PIRIDAZINONA

51. CLASIFICACIÓN INTERNACIONAL

71. SOLICITANTE

LG LIFE SCIENCES, LTD.

DOMICILIO

SEOUL, COREA

4. APODERADO

EMILIO FERRERO

C.C. 438.019 de Usaquén

2. BOGOTÁ, D. C.,

Industria y Comercio

SUPERINTENDENCIA

PETITORIO

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

No. 09-009364- -00000-0000

Fecha: 2009-02-02 16:36:00 Dep. 2020 NUECREACION!!
Tra. 11 PATENTEIY!! Eve: 379 FASENACIONALII
Act. 411 PRESENTACION Folios: 221

FORMULARIO UNICO DE SOLICITUD DE PATENTE

PCT

ENTRADA EN FASE NACIONAL

1

☒ Patente de Invención.

☐ Patente de Modelo de Utilidad.

☐ Capítulo I.

☒ Capítulo II.

2

SOLICITANTE

(71)

Nombre: LG LIFE SCIENCES, LTD.
sociedad constituida y existente bajo las
leyes de Corea.

Dirección: LG LIFE SCIENCES LTD.
20, Yoido-dong,
Yongdeungpo-ku,
150-010 Seoul,
Corea

Domicilio: Seoul,
Corea

IDENTIFICACIÓN

C.C.☐

C.E.☐

NIT☐

Otro☐

Cual

Número

3

REPRESENTANTE

O APODERADO

Nombre: EMILIO FERRERO

Dirección: Carrera 4ª. No. 72-35

Teléfono: 347 36 11

Fax: 211 86 50

E-mail: clientes@cavelier.com

Domicilio: Bogotá, Colombia.

IDENTIFICACIÓN

C.C.☒

C.E.☐

NIT☐

Otro☐

Cual

Número 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

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

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

5

PCT (86)

Solicitud Internacional No. PCT/KR2007/003617

Fecha: 27 de julio de 2007

Publicación Internacional No. WO 2008/016239 A1

Fecha: 7 de febrero de 2008

6

Título (54)

INHIBIDORES DE CASPASA BASADOS EN LA ESTRUCTURA DE PIRIDAZINONA

7

Clasificación Internacional (51)

C07D 237/014

8

Prioridad

SI☒ NO☐

(33) País de Origen

(32) Fecha

(31) Número de Solicitud

KR

2 de agosto de 2006

10-2006-0073029

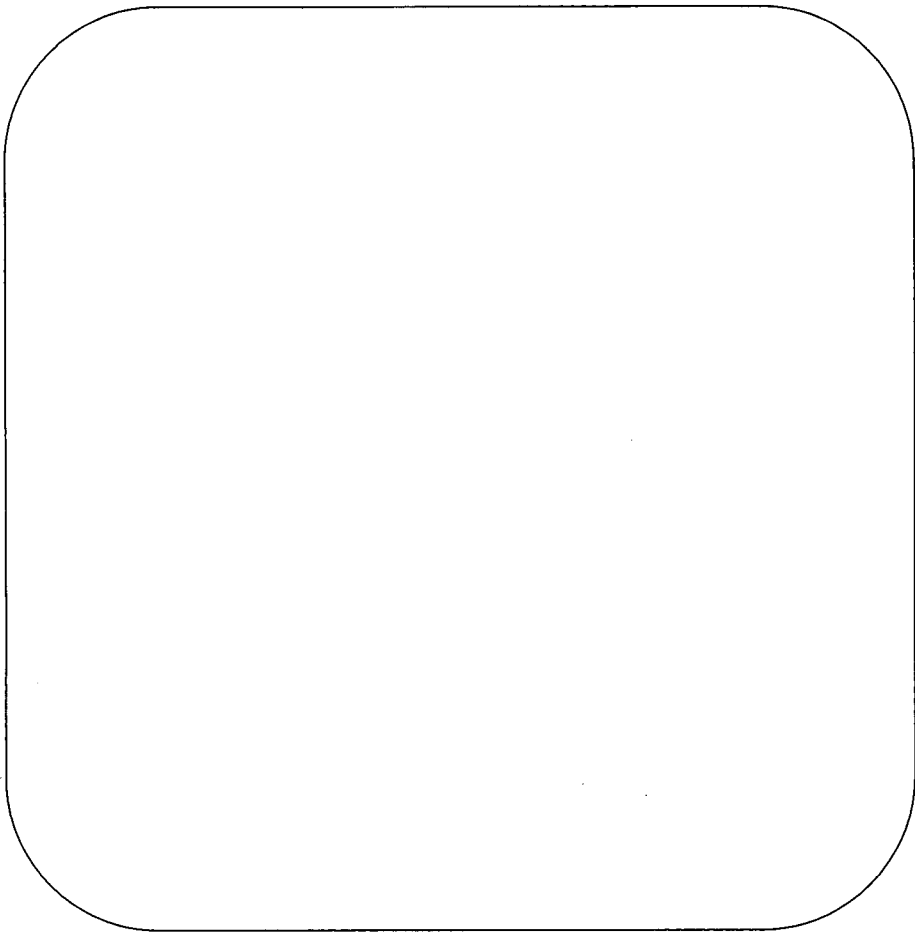
2

9	Comprobante de pago No.: <u>09-3,089</u>	Fecha: <u>14 de enero de 2009</u>
10	Anexos:	
☒	Comprobante de pago de la tasa de presentación de la solicitud por \$ 540.000.oo.	
☐	Comprobante de pago por reivindicaciones adicionales después de la decimoquinta reivindicación por.	
☒	Documento que acredita la existencia y representación legal cuando el solicitante sea persona jurídica.	
☒	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, descripción, reivindicaciones, dibujos)	
☒	Copia del examen preliminar efectuado por la IPEA.	
☐	Traducción 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 indígenas.	
☐	De ser el caso, certificado de depósito del material biológico.	
☐	Arte final 12x12	
☐	De ser el caso, información sobre otras solicitudes de patente o títulos obtenidos en el extranjero por el mismo titular o su causante, relacionadas parcial o totalmente con la invención de esta solicitud.	
☒	Otros: VER HOJA DE DOCUMENTOS ANEXOS	

3

11

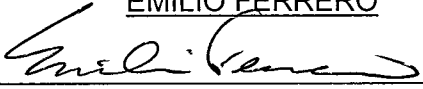
FIGURA CARACTERÍSTICA



12

Solicito la concesión de la patente,

NOMBRE: EMILIO FERRERO

FIRMA : 
C.C. 438.019 de Usaquén T.P. 31.929

SCT

DOCUMENTOS ANEXOS

1. ☒ Publicación Internacional WO 2008/016239 A1

Descripción:

Páginas 86 en el idioma original

Páginas 104 en español

Reivindicaciones: Número (s) 12

Figuras: Número (s)

2. ☒ **Forma PCT/ISA/210.** Informe de Búsqueda Internacional.

3. ☒ Extracto de publicación.

**NO SE REALIZARON MODIFICACIONES EN LA FASE
INTERNACIONAL**

No. 387

30 JUL 2003

El suscrito Cónsul de Colombia en Seúl, Corea, vistos los documentos presentados por lo interesados, CERTIFICA:

Que el señor *Paik Seung Hun* quien como Notario Público de Seúl, Corea autenticó la firma del signatorio del poder precedente, ejercía a la fecha las funciones indicadas y su firma corresponde a la registrada en este Consulado; Que la compañía *LG LIFE SCIENCES LTD*, es una Sociedad constituida de acuerdo con las leyes de República de Corea y cumple su objeto conforme a las mismas: que el Señor *Heung Joon Yang*, quien en su carácter de *Presidente* de la citada compañía confiere el poder precedente y cuya firma fue autenticada ante el notario arriba citado, es su representante legal en este país.

El Cónsul no asume responsabilidad por el contenido del documento.


ALVARO ENRIQUE AYALA MELENDEZ
Cónsul de Colombia



Esta certificación es válida para un documento de (4) páginas.

PAGADOS IMPUESTOS DE TIMBRE Y DERECHOS CONSULARES.
Valor: 23.00 dólares americanos

MINISTERIO DE
RELACIONES EXTERIORES

208440
Alvaro Ayala
CUYA FIRMA APARECE EN EL
DOCUMENTO DESEMPEÑA
LAS FUNCIONES INDICADAS

NO SE ASUME
RESPONSABILIDAD DEL TEXTO

2004 FEB 26 P 2:25

JEFE DE LEGALIZACIONES
BOGOTA D.C.

COMO NOTARIA SEXTA DEL CIRCULO DE BOGOTA
D.C.; HAGO CONSTAR QUE LA FOTOCOPIA COINCIDE
CON EL ORIGINAL QUE HE TENIDO A LA VISTA
BOGOTA D.C. REPUBLICA DE COLOMBIA

23 ENE. 2009

AMPARO QUINTERO ARTURO
NOTARIA

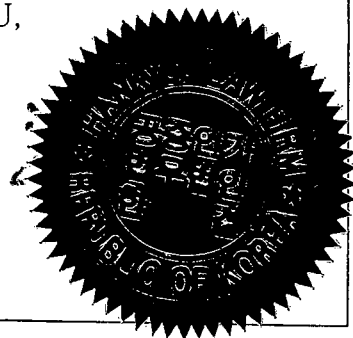
Registered No.2003-1980

NOTARIAL CERTIFICATE

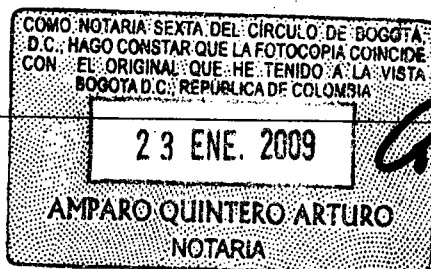
HANKYUL LAW FIRM & NOTARY OFFICE

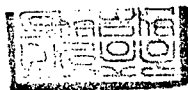
#825-33, YOKSAM-DONG, KANGNAM-GU,

SEOUL, KOREA



제 41호 서식





COMO NOTARIA SEXTA DEL CIRCULO DE BOGOTA
D.C. HAGO CONSTAR QUE LA FOTOCOPIA CONCIDE
CON EL ORIGINAL QUE HE TENIDO A LA VISTA
BOGOTA D.C. REPUBLICA DE COLOMBIA

23 ENE. 2009

AMPARO QUINTERO ARTURO
NOTARIA

REPRESENTACION Y PODER

REPRESENTATION AND POWER- OF- ATTORNEY

Yo (nosotros), abajo firmado (s)/I (we), the undersigned
LG LIFE SCIENCES LTD.

domiciliado (s) en/of 20, Yoido-dong, Yongdungpo-ku,
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 4ª 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, declararán su intención de no ejercer la representación mediante declaración autenticada por Notario Público en Colombia, o por Notario u otro Funcionario Público, 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.

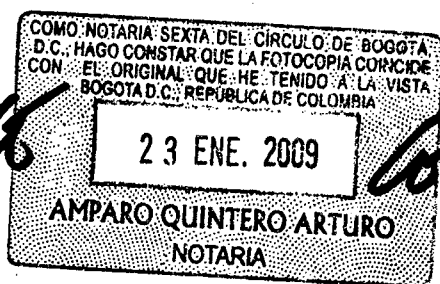
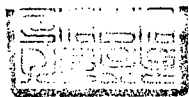
Además, confiero (conferimos) poder a los abogados arriba nombrados, para obtener la protección de mi (nuestra) propiedad industrial y contra la competencia desleal, a cuyo efecto autorizo (amos) a los dichos apoderados para que me (nos) representen ante cualesquiera entidades o personas, ejerzan o no 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, enseñás, 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 4ª 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 industrial secrets and in general the civil, penal, and administrative actions and suits instituted by the (us) above named attorneys in the above matters they may substitute this Power of Attorney, compromise, conciliate,

23 ENE. 2009

AMPARO QUINTERO ARTURO
NOTARIA



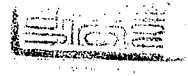
20. 2009 10/12/2009

8

promuévan. 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 _____

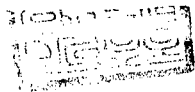


Firma LG LIFE SCIENCES LTD.
President : Heung Joon YANG
Heung Joon Yang

Signature



COMO NOTARIA SEXTA DEL CIRCULO DE BOGOTA
D.C. HAGO CONSTAR QUE LA FOTOCOPIA COINCIDE
CON EL ORIGINAL QUE HE TENIDO A LA VISTA
BOGOTA D.C. REPUBLICA DE COLOMBIA
23 ENE. 2009
AMPARO QUINTERO ARTURO
NOTARIA



[Handwritten signature]

COMO NOTARIA SEXTA DEL CIRCULO DE BOGOTA
D.C. HAGO CONSTAR QUE LA FOTOCOPIA COINCIDE
CON EL ORIGINAL QUE HE TENIDO A LA VISTA
BOGOTA D.C. REPUBLICA DE COLOMBIA

23 ENE. 2009

AMPARO QUINTERO ARTURO
NOTARIA



등부 2003 년 제 1980 호

Registered No. 2003-1980

NOTARIAL CERTIFICATE

인 증



위 위 임 장-----

Kyu Hyung LEE

attorney-in-fact of

LG LIFE SCIENCES LTD.

에 기재된 주식회사 엘지생명과학

PRESIDENT Heung Joon YANG

대표이사 양 흥 준-----

appeared before me and

의 대리인-----이 규 형은(는)

admitted said principal's

본직의 면전에서 위 본인이 서명날인

subscription to the

한 것임을 자인하였다.

attached POWER OF ATTORNEY.

2003 년 7 월 29 일

This is hereby attested

이 사무소에서 위 인증한다.

on this 29th day of Jul., 2003

at this office.

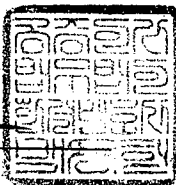
공증
인가 법무법인 한 결

HANKYUL LAW FIRM & NOTARY OFFICE

서울 강남구 역삼동 825-33

825-33, YOKSAM-DONG, KANGNAM-GU,

SEOUL, KOREA

1m 3 82 

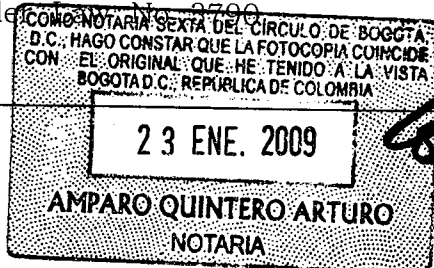
Baib Sampun

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 No. 2790



제 43호 서식



COMO NOTARIA SEXTA DEL CIRCULO DE BOGOTA
D.C. HAGO CONSTAR QUE LA FOTOCOPIA CONCIDE
CON EL ORIGINAL QUE HE TENIDO A LA VISTA
BOGOTA D.C. REPUBLICA DE COLOMBIA
23 ENE. 2009
AMPARO QUINTERO ARTURO
NOTARIA

CERTIFICATE OF BUSINESS REGISTRATION

(Juridical person)

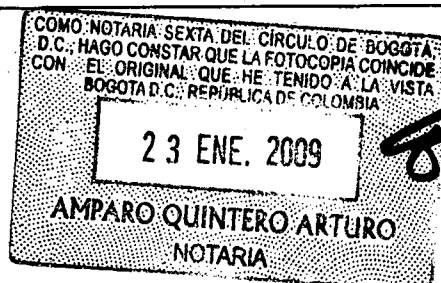
Registration Number: 107-86-21066

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, Youido-Dong, Youngdungpo-Gu, Seoul, Korea
6. Place of Head Office: 20, Youido-Dong, Youngdungpo-Gu, Seoul, Korea
7. Kind of Business: Business: Manufacturing
Kind: Medicines, Farming drugs
8. Issuing Purpose: New Juridical person

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

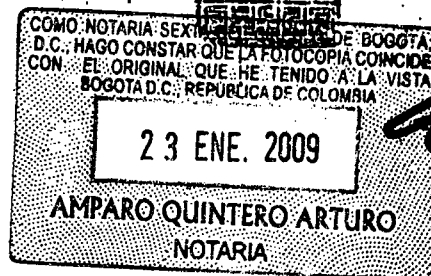
본점소재지 : 서울특별시 영등포구 여의도동 20

사업의종류 : ☒ 제조업 ☒ 중화학약품

교부사유 : 신규법인

2002년 07월 26일

영등포세무서장



TRADUCCIÓN OFICIAL 047/2004 DE UN DOCUMENTO ESCRITO EN INGLÉS Y EN ESPAÑOL, REALIZADA POR EDUARDO CALADO NOGUERA, TRADUCTOR OFICIAL APROBADO POR RESOLUCIÓN 541 DEL 27 DE FEBRERO DE 1976 POR EL MINISTERIO DE JUSTICIA Y DEBIDAMENTE REGISTRADO ANTE EL MINISTERIO DE RELACIONES EXTERIORES DE LA REPÚBLICA DE COLOMBIA Y MEDIANTE EL CUAL LG LIFE SCIENCES LTD., EMPRESA DOMICILIADA EN 20, YOIDO-DONG, YONGDUNGPO-KU, 150-010, SEÚL, COREA OTORGA PODER A EMILIO FERRERO, TPA 31929, GONZALO PERDOMO, TPA 831; LUZ CLEMENCIA DE PAEZ TPA 23555 Y A GERMÁN CAVELIER, TPA 832. EXPEDIDO Y FIRMADO EN SEÚL, COREA EL 15 DE JULIO DE 2003. FIRMADO: LG LIFE SCIENCES LTD PRESIDENTE: HEUNG JOON YANG NÚMERO DE REGISTRO 2003-1980

CERTIFICACIÓN NOTARIAL

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

Se atestigua hoy 29 de julio de 2003 en esta oficina.

OFICINA JURÍDICA Y NOTARIAL HANKYUL, 825-33, YOKSAM-DONG, KANGNAM-GU, SEÚL, COREA.

FIRMADO: APODERADO QUE ACTÚA COMO NOTARIO PÚBLICO

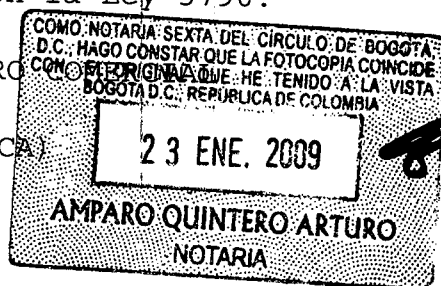
Esta oficina ha sido autorizada por el Ministerio de Justicia de la República de Corea, para actuar como notaría pública desde el 30 de septiembre de 2000, de acuerdo con la Ley 3790.

CERTIFICACIÓN DE REGISTRO

(PERSONA JURÍDICA)

NÚMERO DE REGISTRO: 107-86-21066

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



3. FECHA DE INICIACIÓN DE NEGOCIOS: 1 de agosto de 2002
4. NÚMERO DE IDENTIFICACIÓN: 110111-2581183
5. LUGAR DE NEGOCIOS: 20, YUOIDO-DONG, YOUNGDUNGPO-GU, SEÚL, COREA
6. LUGAR DE OFICINA PRINCIPAL: 20, YUOIDO-DONG, YOUNGDUNGPO-GU, SEÚL, COREA
7. TIPO DE NEGOCIOS: MANUFACTURA DE MEDICINAS Y DROGAS AGROPECUARIAS
8. OBJETIVO DE LA EXPEDICIÓN: NUEVA PERSONA JURÍDICA

FECHADO EL 26 DE JULIO DE 2002

SELLO OFICIAL FIJADO: FIRMA

FUNCIONARIO PRINCIPAL

OFICINA TRIBUTARIA DE YOUNGDUNGPO

NÚMERO DE REGISTRO 2003-1980

CERTIFICADO NOTARIAL

OFICINA NOTARIAL Y DE FIRMA JURÍDICA HANKYUL

#825-33, YOKSAM-DONG, KANGNAM-GU, SEÚL, COREA

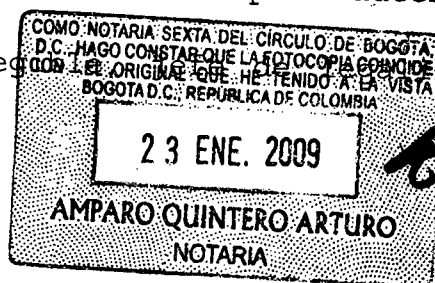
La firma y cargo de Paik Seung Hung se encuentran autenticados mediante diligencia 387 del 30 de julio de 2003 por el Consulado de Colombia en Seúl, Corea. Firmado: ALVARO ENRIQUE AYALA MELENDEZ, cónsul de Colombia.

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 por las modificaciones, Bogotá, D.C.

COLO-9281-706-003-1

WPCL002G ID 3568

Bogotá, 27 de febrero de 2004.



Eduardo Calado
Eduardo Calado Noguera
"TRADUCTOR OFICIAL"
INGLES - ESPAÑOL INGLÉS
Res. 341 Febrero de 1996

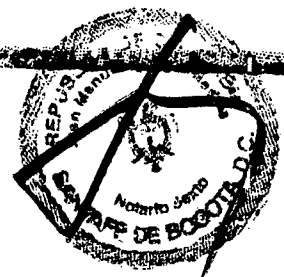
COMO NOTARIO SEXTO DEL CIRCULO DE SANTA FE DE BOGOTA, HAGO CONSTAR QUE LA FIRMA DE

Gerardo Calvo

COINCIDE CON LA FIRMA REGISTRADA POR EL (ELLOS) **01 MAR 2004**

SANTA FE DE BOGOTA.

COLEGIO DE NOTARIOS CIVILES



RECIBIDO
RESPONSE
2004 MAR 21 12:33

Gerardo Calvo

JEFE DE SECCION
SANTA FE DE BOGOTA D.C.

MINISTERIO DE RELACIONES EXTERIORES

Gerardo Calvo

2004 MAR 23 10:56:08

CULTURA Y RECREACION

BOGOTA D.C.

COMO NOTARIA SEXTA DEL CIRCULO DE BOGOTA D.C. HAGO CONSTAR QUE LA FOTOCOPIA COINCIDE CON EL ORIGINAL QUE HE TENIDO A LA VISTA BOGOTA D.C. REPUBLICA DE COLOMBIA

23 ENE. 2009

AMPARO QUINTERO ARTURO
NOTARIA

(19) World Intellectual Property Organization
International Bureau



(43) International Publication Date
7 February 2008 (07.02.2008)

PCT

(10) International Publication Number
WO 2008/016239 A1

(51) International Patent Classification:
C07D 237/14 (2006.01)

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

(21) International Application Number:
PCT/KR2007/003617

(22) International Filing Date: 27 July 2007 (27.07.2007)

(25) Filing Language: Korean

(26) Publication Language: English

(30) Priority Data:
10-2006-0073029 2 August 2006 (02.08.2006) 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) Inventors/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). JANG, Yong Jin [KR/KR]; R & D Park, LG Life
Sciences Ltd., 104-1, Moongi-dong, Yuseong-gu, Daejeon
305-380 (KR).

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

(84) Designated States (unless otherwise indicated, for every
kind of regional protection available): ARIPO (BW, GH,
GM, KE, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM,
ZW), Eurasian (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM),
European (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI,
FR, GB, GR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MT, 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

WO 2008/016239 A1

(54) Title: CASPASE INHIBITORS BASED ON PYRIDAZINONE SCAFFOLD

(57) Abstract: The present invention relates to a pyridazinone derivative which can be used as a caspase inhibitor, process for the preparation thereof, and pharmaceutical composition for inhibiting caspase comprising the same.

CASPASE INHIBITORS BASED ON PYRIDAZINONE SCAFFOLD

TECHNICAL FIELD

The present invention relates to a pyridazinone derivative or pharmaceutically acceptable salt thereof as an inhibitor against various caspases including caspase-1 [interleukin-1 β -converting enzyme, ICE], caspase-3 [apopain/ CPP-32], caspase-8, and caspase-9, and a pharmaceutical composition for the inhibition of caspase comprising the same.

BACKGROUND ART

Caspase is a new kind of cysteine protease in the form of $\alpha_2\beta_2$ tetramer 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 cytokine and participates in converting the biologically 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 31KDa precursor. Only prointerleukin-1 β is activated by ICE. The positions hydrolyzed by caspase-1 are Asp²⁷-Gly²⁸ 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 the three dimensional structure thereof was determined by X-ray crystallographic method by two independent study groups.

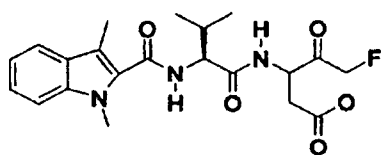
Caspase-3(CPP-32) is broadly studied for its role or mechanism for action, and its three dimensional structure was determined in 1996(2). Caspase-3(apopain) activated from procaspase-3 is hydrolyzed in the position of (P₄)Asp-X-X-Asp(P₁) motif, and the

known substrates include poly(ADP-ribose) polymerase, U1 70,000 Mr small nuclear ribonucleoprotein, 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).

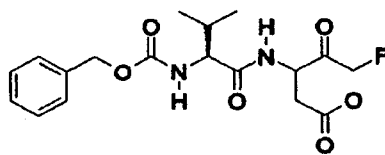
5 Caspase-8 and 9 are present in the upstream of caspase-3,6,7, and all of these caspases are known to participate in the apoptosis cascade. The X-ray structure of caspase-8 was determined in 1999(5), and particularly the inhibitors thereof may be advantageously used for treating the diseases related to apoptosis.

 Caspase inhibitors mean those compounds that inhibit the activity of caspase, and
10 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: dementia, cerebral stroke, brain impairment due to AIDS, diabetes, gastric ulcer, cerebral injury by hepatitis virus, hepatitis-induced hepatic diseases, acute hepatitis, fulminant hepatic failure, sepsis, organ transplantation rejection, rheumatic
15 arthritis, ischemic cardiac diseases, and liver cirrhosis(6).

 Among the caspase inhibitors known until now, the most noted irreversible inhibitors are the following:



IDN-1965

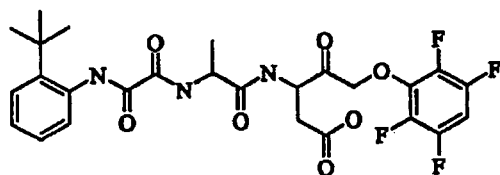


MX-1013

 Both the above inhibitors exhibit their activity based on the common mechanism
20 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

17

effective inhibitory activity than reversible inhibitor (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 is now in the stage of phase II clinical trial as a therapeutic agent for hepatic injury (10, 11).



IDN-6556

References:

- (1) *Inflammation: Basic Principles and Clinical Correlates*, 2nd ed., ed by Gallin, Goldstein and Snyderman. Raven Press Ltd., New York. 1992, pp211-232; *Blood*, 1996, 87(6), 2095-2147.
 - (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.
 - (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.
 - (4) Wei, Y. et al, *Chemistry and Biology*, 2000, 7, 423.
 - (5) Blanchard H. et al, *Structure*, 1999, 7, 1125; Blanchard H. et al, *J. of Mol. Biol.*, 2000, 302, 9.
 - (6) References for caspase related diseases
- 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 PN, Yemul S,

Xiang Z, Ho L, Haroutunian V, Purohit D, Mohs R, Pasinetti GM.

- Cerebral stroke: Proc Natl Acad Sci USA 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.

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'Emilia DM, Friedlander RM, Yuan J, Masliah E, Lipton SA.

- 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.

- 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. Slomiany BL, Piotrowski J, Slomiany A.

Cerebral injury by hepatitis virus: J Viral Hepat 2003 Mar;10(2):81-6, Cerebral dysfunction in chronic hepatitis C infection. Forton DM, Taylor-Robinson SD, Thomas HC.

- 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.

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.

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, Yaginuma H, Mikoshiba K, Guo L, Okuyama T, Enosawa S, Amemiya H, Amano T, Suzuki S.

Rheumatic arthritis: Prog Med Chem 2002;39:1-72, Caspase inhibitors as anti-inflammatory and antiapoptotic agents. Graczyk PP.

10 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.

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.

Hepatitis-induced hepatic diseases: i) J Viral Hepat. 2003 Sep;10(5):335-42. Apoptosis in hepatitis C Kountouras J, Zavos C, Chatzopoulos D.; ii) Apoptosis. 2003 Dec;8(6):655-63. Apoptosis participates to liver damage in HSV-induced fulminant hepatitis. Pretet JL, Pelletier L, Bernard B, Coumes-Marquet S, Kantelip B, Mougin C.; 20 iii) Proc Natl Acad Sci U S A. 2003 Jun 24;100(13):7797-802. Caspase 8 small interfering RNA prevents acute liver failure in mice. Zender L, Hutker S, Liedtke C, Tillmann HL, Zender S, Mundt B, Waltemathe M, Gosling T, Flemming P, Malek NP, Trautwein C, Manns MP, Kuhnel F, Kubicka S.

20

- Liver 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., Fledstein 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, Grambihler A, Bronk SF, Gores GJ.

(7) Wu J. et al, *Methods: A Companion to Methods in Enzymology*, 1999, 17, 320.

- (8) Hoglen N. C. et al, *J. of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 2001, 297, 811.

(9) Jaeschke H. et al, *Toxicology and Applied Pharmacology*, 2000, 169, 77.

- (10) Hoglen N.C. et al, *J. Pharmacol Exp. Ther.*, 2004, 309(2):634. Characterization of IDN-6556 (3-[2-(2-tert-butyl-phenylaminooxalyl)-amino]-propionylamino]-4-oxo-5-(2,3,5,6-tetrafluoro-phenoxy)-pentanoic acid): a liver-targeted caspase inhibitor.

(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.

DETAILED DESCRIPTION OF INVENTION

20 【Technical Subject】

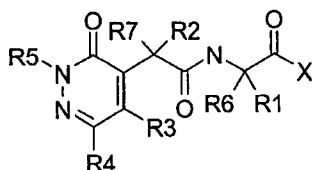
The present inventors have extensively studied to design novel compounds which can be used as an effective and more selective inhibitor against caspases.

【Means for Solving the Subject】

21

To achieve such a subject, the present inventors synthesized various compounds, 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.

5 **【Formula 1】**



in which

R, R¹, R², R³, R⁴, R⁵, R⁶, R⁷ and X are defined below.

Therefore, the present invention provides the novel pyridazinone derivative of
10 formula (1) or pharmaceutically acceptable salt thereof having effective inhibitory activity
against caspases.

It is another object of the present invention to provide a pharmaceutical
composition for inhibiting caspase, specifically a composition for preventing
inflammation and apoptosis, comprising the compound of formula (1) or pharmaceutically
15 acceptable salt thereof as an active ingredient together with the pharmaceutically
acceptable carrier.

【Advantageous Effect】

The compound of formula (I) according to the present invention has an excellent
inhibitory activity against caspase, and so can be advantageously used for the treatment of
20 various diseases and symptoms mediated by caspase.

【Best Mode for Carrying Out the Invention】

22

First of all, the important terms in the present invention are defined as follows:

- a) C₁-C₅-alkyl: Straight-chain or branched hydrocarbons having 1 to 5 carbon atoms, that include methyl, ethyl, n-propyl, i-propyl, n-butyl, i-butyl, t-butyl, etc., but are not limited thereto.
- 5 b) C₃-C₁₀-cycloalkyl: Cyclic hydrocarbons having 3 to 10 carbon atoms, that include cyclopropyl, cyclobutyl, cyclopentyl, cyclohexyl, etc., but are not limited thereto.
- c) Aryl: Aryl group includes all the aromatic, heteroaromatic and their partially reduced derivatives. The aromatic group means a 5 to 15-membered single or fused unsaturated hydrocarbon. The heteroaromatic group means the aromatic group containing
- 10 1 to 5 hetero atoms selected from a group consisting of oxygen, sulfur, and nitrogen. The aryl group includes phenyl, naphthyl, indolyl, quinoliny, isoquinolyl, imidazoliny, isoxazolyl, oxazolyl, thiazolyl, etc., but is not limited thereto.

One or more hydrogens in said C₁-C₅-alkyl, C₃-C₁₀-cycloalkyl or aryl group may be replaced with a group(s) selected from the following: acyl, amino, carboalkoxy,

15 carboxy, carboxyamino, cyano, halo, hydroxy, nitro, thio, alkyl, cycloalkyl, alkoxy, aryl, aryloxy, sulfoxy, and guanido group.

d) 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

20 Tryptophan.

Further, the present specification includes the following abbreviations:

N-bromosuccinimide: NBS

O-(7-azabenzotriazol-1-yl)-N,N,N',N'-tetramethyluroniumhexafluorophosphate]:

HATU

N,N-dimethyl formamide: DMF

Dimethylsulfoxide: DMSO

N-methylmorpholine: NMM

2,2'-Azobis(2-methyl propionitrile): AIBN

5 2,2,6,6-Tetramethyl-1-piperidinyloxy, free radical: TEMPO

Lithium bis(trimethylsilyl)amide: LiHMDS

N-(2-Hydroxyethyl)piperazine-N'-(2'-ethanesulfonic acid): HEPES

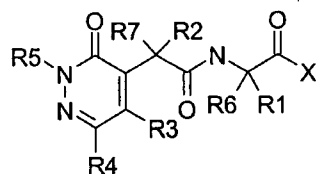
3-[(3-Cholamidopropyl)dimethylamino]-1-propanesulfonate: CHAPS

Ethylenediaminetetraacetic acid: EDTA

10 Dithiothreitol: DTT

The present invention will be explained more in detail below. One aspect of the present invention relates to the pyridazinone derivative of the following formula (1):

[Formula 1]



15 in which

I) R^1 represents H, C_1 - C_5 -alkyl, C_3 - C_{10} -cycloalkyl, aryl, or a side chain residue of all the natural amino acids,

II) R^2 represents H, C_1 - C_5 -alkyl, C_3 - C_{10} -cycloalkyl, aryl, or a side chain residue of all the natural amino acids,

20 III) R^3 represents H, C_1 - C_5 -alkyl, hydroxy, C_1 - C_5 -alkoxy, or halogen,

IV) R^4 represents H, C_1 - C_5 -alkyl, C_3 - C_{10} -cycloalkyl, or aryl,

29

V) R^5 represents H, C_1 - C_5 -alkyl, C_3 - C_{10} -cycloalkyl, or aryl,

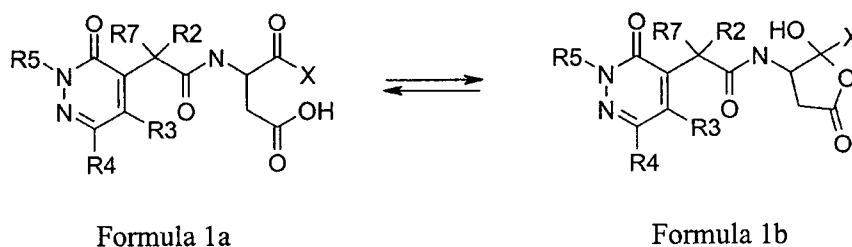
VI) R^6 and R^7 independently of one another each represent H, C_1 - C_5 -alkyl, C_3 - C_{10} -cycloalkyl, or aryl,

VII) X represents $-\text{CH}_2\text{OR}^9$ (R^9 is C_1 - C_5 -alkyl, C_3 - C_{10} -cycloalkyl, or aryl),
 5 $-\text{CH}_2\text{OC}(=\text{O})\text{R}^{10}$ (R^{10} is C_1 - C_5 -alkyl, C_3 - C_{10} -cycloalkyl, or aryl), $-\text{CH}_2\text{OP}(=\text{O})\text{R}^{11}_2$ (R^{11} is C_1 - C_5 -alkyl, C_3 - C_{10} -cycloalkyl, or aryl), or $-\text{CH}_2\text{-W}$ (W is halogen), or pharmaceutically acceptable salt thereof, which is useful as an inhibitor for caspase.

In the compound of formula (1) according to the present invention, R^1 preferably represents a side chain residue of all the natural amino acids, more preferably $-\text{CH}_2\text{COOH}$.

10 The compound of formula (1) may include the two kinds of stereoisomers, or mixtures thereof (diastereomeric mixtures) when the carbon to which R^1 is attached becomes a stereocenter due to the R^1 group. The compound of formula (1) may include an ester form ($-\text{CO}_2\text{Y}$ wherein Y is C_1 - C_5 -alkyl), a sulfonamide form ($-\text{CONHSO}_2\text{Z}$ wherein Z is C_1 - C_5 -alkyl), and a pharmaceutically acceptable salt form, when R^1 is a side chain residue
 15 of an amino acid containing carboxyl moiety; or the compound of formula (1) may also exist in the form of a pharmaceutically acceptable salt when R^1 is a side chain residue of an amino acid containing a base moiety.

The compound of the present invention (formula 1a) may exist in the form of a cyclic ketal (formula 1b) when R^1 is $-\text{CH}_2\text{COOH}$, and so a skilled artisan may understand
 20 that the cyclic ketal form (formula 1b) may also be covered by the present invention.



25

Also, the equilibrium forms of said compounds should be understood to cover their tautomeric forms.

R^2 preferably represents C_1 - C_5 -alkyl, more preferably methyl, ethyl, n-propyl, i-propyl, n-butyl, i-butyl, or t-butyl. The compound of formula (1) may include the two
5 kinds of stereoisomers, or mixtures thereof (diastereomeric mixtures) when the carbon to which R^2 is attached becomes a stereocenter due to the R^2 group. The compound of formula (1) may include an ester form ($-CO_2Y$ wherein Y is C_1 - C_5 -alkyl), a sulfonamide form ($-CONHSO_2Z$ wherein Z is C_1 - C_5 -alkyl), and a pharmaceutically acceptable salt form, when R^2 is a side chain residue of an amino acid containing carboxyl moiety; or the
10 compound of formula (1) may also exist in the form of a pharmaceutically acceptable salt when R^2 is a side chain residue of an amino acid containing a base moiety.

R^3 preferably represents H, C_1 - C_5 -alkyl, C_1 - C_5 -alkoxy, or halogen, more preferably H, methyl, ethyl, n-propyl, i-propyl, n-butyl, i-butyl, or t-butyl, methoxy, ethoxy, fluoro, or chloro.

15 R^4 preferably represents H.

R^5 preferably represents C_1 - C_5 -alkyl substituted by substituted or unsubstituted C_3 - C_{10} -cycloalkyl or by substituted or unsubstituted aryl; or represents substituted or unsubstituted aryl. R^5 more preferably represents C_1 - C_5 -alkyl substituted by C_3 - C_{10} -cycloalkyl which is unsubstituted or substituted by one or more substituents
20 selected from the group consisting of C_1 - C_5 -alkyl, hydroxy, C_1 - C_5 -alkoxy and halogen, or by aryl which is unsubstituted or substituted by one or more substituents selected from the group consisting of C_1 - C_5 -alkyl, hydroxy, C_1 - C_5 -alkoxy and halogen; or represents aryl which is unsubstituted or substituted by one or more substituents selected from the group consisting of C_1 - C_5 -alkyl, hydroxy, C_1 - C_5 -alkoxy and halogen. For example, R^5 is

26

phenyl, naphthyl, indolyl, quinoliny, isoquinolyl, imidazoliny, isoxazolyl, oxazolyl or thiazolyl, or is methyl substituted by phenyl, naphthyl, indolyl, quinoliny, isoquinolyl, imidazoliny, isoxazolyl, oxazolyl, thiazolyl or cyclohexyl, each of which is unsubstituted or substituted by one or more substituents selected from the group consisting of methyl, ethyl, n-propyl, i-propyl, n-butyl, i-butyl, t-butyl, methoxy, ethoxy, trihalomethyl and halogen.

R^6 and R^7 each preferably represent H.

R^9 preferably represents aryl substituted by one or more halogens, more preferably phenyl substituted by one or more fluorines, and most preferably 2,3,5,6-tetrafluorophenyl, 2,3,6-trifluorophenyl or 2,6-difluorophenyl.

R^{10} preferably represents aryl substituted by one or more halogens, more preferably phenyl substituted by one or more chlorines, most preferably 2,6-dichlorophenyl.

R^{11} preferably represents aryl, more preferably phenyl.

W preferably represents F.

The most preferred compounds are those selected from the following group:

5-fluoro-3-[2-(5-methyl-3-oxo-2-phenyl-2,3-dihydro-pyridazin-4-yl)-butyrylamino]-4-oxo-pentanoic acid (1);

3-[2-(2-benzyl-5-methyl-3-oxo-2,3-dihydro-pyridazin-4-yl)-butyrylamino]-5-fluoro-4-oxo-pentanoic acid (2);

3-[2-(2-benzyl-3-oxo-2,3-dihydro-pyridazin-4-yl)-butyrylamino]-5-fluoro-4-oxo-pentanoic acid (3);

3-[2-(2-benzyl-5-chloro-3-oxo-2,3-dihydro-pyridazin-4-yl)-butyrylamino]-5-fluoro-4-oxo-pentanoic acid (4);

27

3-[2-(2-benzyl-5-methoxy-3-oxo-2,3-dihydro-pyridazin-4-yl)-butyrylamino]-5-fluoro-4-oxo-pentanoic acid (5);

3-2-[2-(2-tert-butyl-benzyl)-3-oxo-2,3-dihydro-pyridazin-4-yl]-butyrylamino-5-fluoro-4-oxo-pentanoic acid (6);

5 3-2-[2-(3-tert-butyl-benzyl)-3-oxo-2,3-dihydro-pyridazin-4-yl]-butyrylamino-5-fluoro-4-oxo-pentanoic acid (7);

5-fluoro-3-2-[2-(2-methyl-benzyl)-3-oxo-2,3-dihydro-pyridazin-4-yl]-butyrylamino-4-oxo-pentanoic acid (8);

10 5-fluoro-3-2-[2-(3-methyl-benzyl)-3-oxo-2,3-dihydro-pyridazin-4-yl]-butyrylamino-4-oxo-pentanoic acid (9);

5-fluoro-3-2-[2-(3-methoxy-benzyl)-3-oxo-2,3-dihydro-pyridazin-4-yl]-butyrylamino-4-oxo-pentanoic acid (10);

5-fluoro-3-[2-(2-naphthalen-1-ylmethyl-3-oxo-2,3-dihydro-pyridazin-4-yl)-butyrylamino]-4-oxo-pentanoic acid (11);

15 5-fluoro-3-[2-(2-naphthalen-2-ylmethyl-3-oxo-2,3-dihydro-pyridazin-4-yl)-butyrylamino]-4-oxo-pentanoic acid (12);

5-fluoro-3-2-[2-(2-methyl-oxazol-4-ylmethyl)-3-oxo-2,3-dihydro-pyridazin-4-yl]-butyrylamino-4-oxo-pentanoic acid (13);

20 5-fluoro-3-2-[2-(2-methyl-thiazol-4-ylmethyl)-3-oxo-2,3-dihydro-pyridazin-4-yl]-butyrylamino-4-oxo-pentanoic acid (14);

3-2-[2-(3,5-dimethyl-isoxazol-4-ylmethyl)-3-oxo-2,3-dihydro-pyridazin-4-yl]-butyrylamino-5-fluoro-4-oxo-pentanoic acid (15);

3-[2-(2-cyclohexylmethyl-3-oxo-2,3-dihydro-pyridazin-4-yl)-butyrylamino]-5-fluoro-4-oxo-pentanoic acid (16);

28

5-fluoro-3-[2-(2-isoquinolin-1-ylmethyl-3-oxo-2,3-dihydro-pyridazin-4-yl)-butyryl amino]-4-oxo-pentanoic acid (17);

3-{2-[2-(2-chloro-benzyl)-3-oxo-2,3-dihydro-pyridazin-4-yl]-butyrylamino}-5-fluoro-4-oxo-pentanoic acid (18);

5 3-{2-[2-(3-chloro-benzyl)-3-oxo-2,3-dihydro-pyridazin-4-yl]-butyrylamino}-5-fluoro-4-oxo-pentanoic acid (19);

3-{2-[2-(3-bromo-benzyl)-3-oxo-2,3-dihydro-pyridazin-4-yl]-butyrylamino}-5-fluoro-4-oxo-pentanoic acid (20);

10 5-fluoro-4-oxo-3-{2-[3-oxo-2-(2-trifluoromethyl-benzyl)-2,3-dihydro-pyridazin-4-yl]-butyrylamino}-pentanoic acid (21);

5-fluoro-4-oxo-3-{2-[3-oxo-2-(3-trifluoromethyl-benzyl)-2,3-dihydro-pyridazin-4-yl]-butyrylamino}-pentanoic acid (22);

2,6-dichloro-benzoic acid

(S)-3-{(R)-2-[2-(2-tert-butyl-benzyl)-3-oxo-2,3-dihydro-pyridazin-4-yl]-butyrylamino}-4-carboxy-2-oxo-butyl ester and 2,6-dichloro-benzoic acid
15 (S)-3-{(S)-2-[2-(2-tert-butyl-benzyl)-3-oxo-2,3-dihydro-pyridazin-4-yl]-butyrylamino}-4-carboxy-2-oxo-butyl ester (23-1, 23-2);

(S)-3-{(R)-2-[2-(2-tert-butyl-benzyl)-3-oxo-2,3-dihydro-pyridazin-4-yl]-butyrylamino}-4-oxo-5-(2,3,5,6-tetrafluoro-phenoxy)-pentanoic acid and
20 (S)-3-{(S)-2-[2-(2-tert-butyl-benzyl)-3-oxo-2,3-dihydro-pyridazin-4-yl]-butyrylamino}-4-oxo-5-(2,3,5,6-tetrafluoro-phenoxy)-pentanoic acid (24-1, 24-2);

(S)-3-{(R)-2-[2-(3-tert-butyl-benzyl)-3-oxo-2,3-dihydro-pyridazin-4-yl]-butyrylamino}-4-oxo-5-(2,3,5,6-tetrafluoro-phenoxy)-pentanoic acid and

(S)-3-{(S)-2-[2-(3-tert-butyl-benzyl)-3-oxo-2,3-dihydro-pyridazin-4-yl]-butyrylamino}-4-oxo-5-(2,3,5,6-tetrafluoro-phenoxy)-pentanoic acid (25-1, 25-2);

(S)-3-{(R)-2-[2-(2-tert-butyl-benzyl)-3-oxo-2,3-dihydro-pyridazin-4-yl]-butyryla
5 mino}-4-oxo-5-(2,3,6-trifluoro-phenoxy)-pentanoic acid and

(S)-3-{(S)-2-[2-(2-tert-butyl-benzyl)-3-oxo-2,3-dihydro-pyridazin-4-yl]-butyrylamino}-4-oxo-5-(2,3,6-trifluoro-phenoxy)-pentanoic acid (26-1, 26-2);

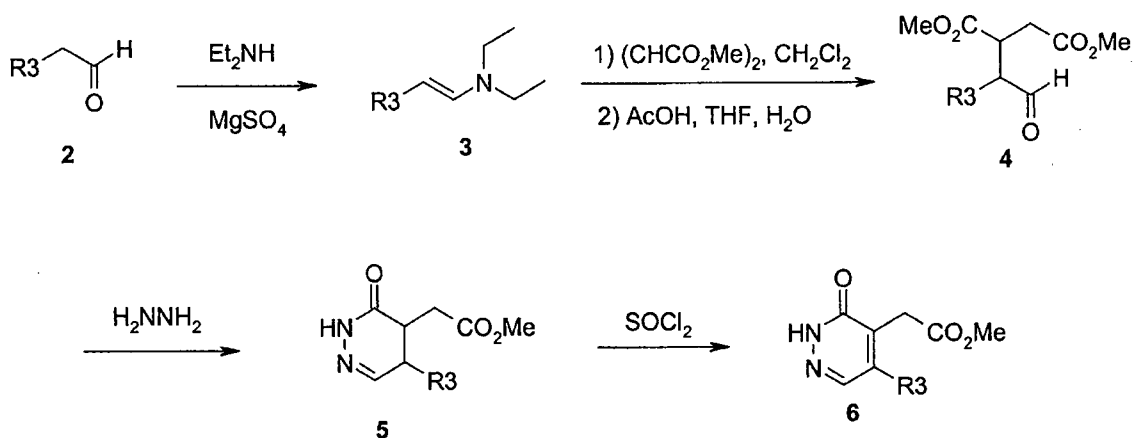
(S)-3-{(R)-2-[2-(2-tert-butyl-benzyl)-3-oxo-2,3-dihydro-pyridazin-4-yl]-butyryla
10 mino}-5-(2,6-difluoro-phenoxy)-4-oxo-pentanoic acid and

(S)-3-{(S)-2-[2-(2-tert-butyl-benzyl)-3-oxo-2,3-dihydro-pyridazin-4-yl]-butyrylamino}-5-(2,6-difluoro-phenoxy)-4-oxo-pentanoic acid (27-1, 27-2); and

(S)-3-{2-[2-(2-tert-butyl-benzyl)-3-oxo-2,3-dihydro-pyridazin-4-yl]-butyrylamino
15 }-5-(diphenyl-phosphinoyloxy)-4-oxo-pentanoic acid (28).

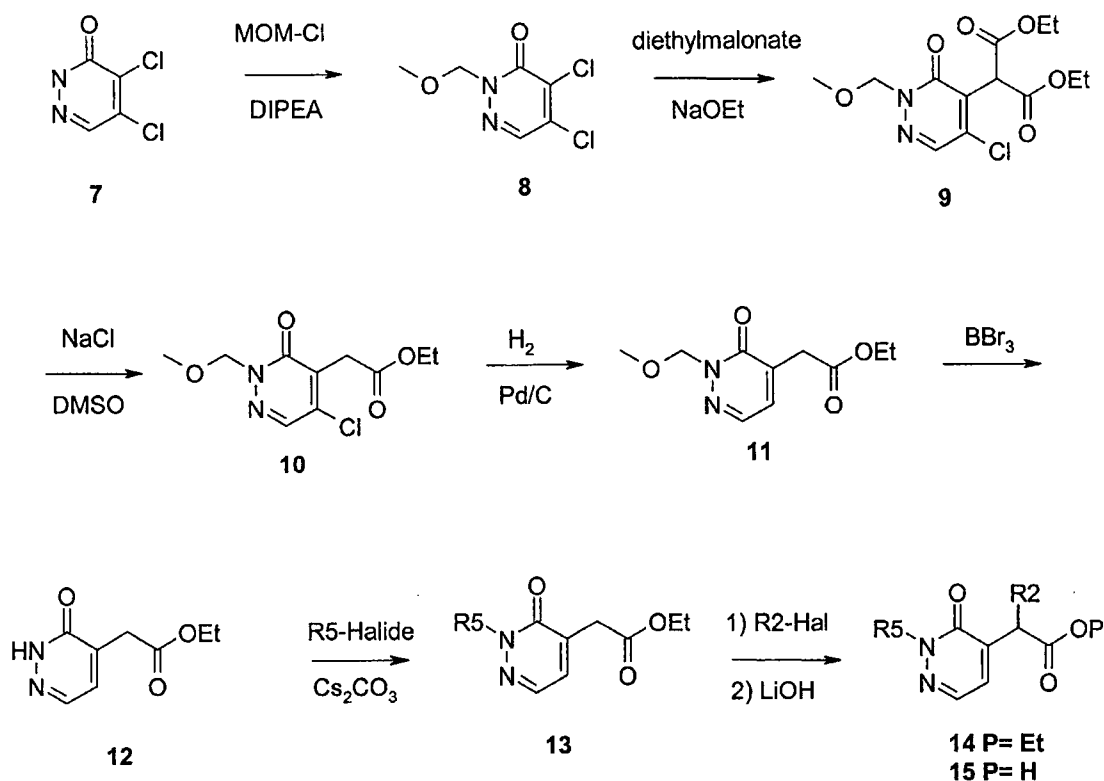
The processes for preparation of the novel pyridazinone derivative of formula (1) showing an inhibitory activity against caspases are depicted in the following Reaction Schemes 1 to 4. However, those illustrated in the following Reaction Schemes represent only the typical processes used in the present invention. The manipulation order, reagent,
20 reaction condition, solvent, etc. may be changed with no limit.

【Reaction Scheme 1】



In Reaction Scheme 1 above, an alkylaldehyde (2), for example propionaldehyde, and a secondary amine, for example diethylamine, are dehydrated in the presence of magnesium sulfate to give an enamine compound (3). This enamine (3) is reacted with a dialkylmaleate, for example dimethylmaleate, in a suitable solvent, for example methylene chloride, and treated with acetic acid to give an aldehyde compound (4). Then, the aldehyde compound (4) and hydrazine hydrate are reacted in a suitable solvent, for example ethanol, to give a dihydropyridazinone compound (5). The dihydropyridazinone compound (5) is oxidized with a suitable oxidizing agent, for example thionyl chloride, in a suitable solvent, for example methylene chloride, to give the desired compound of pyridazinone structure (6).

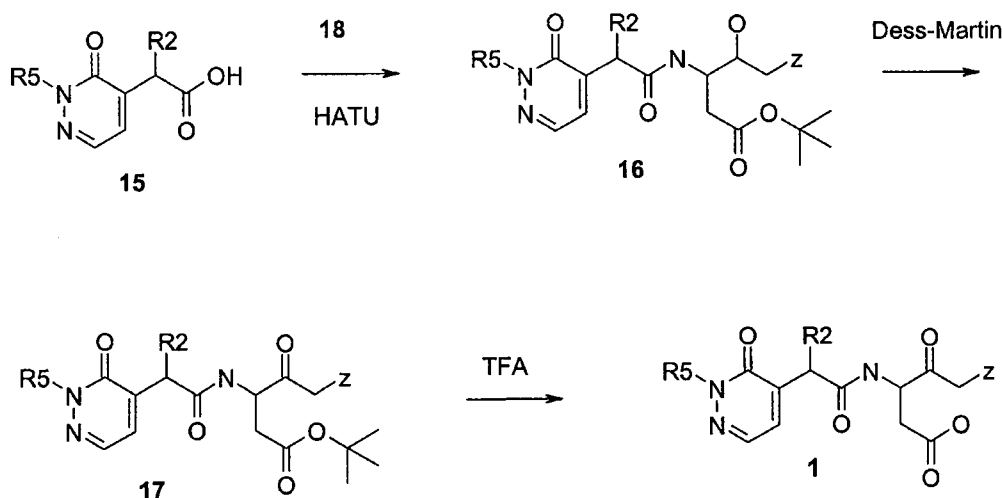
【Reaction Scheme 2】



In Reaction Scheme 2 above, 4,5-dichloro-3(2H)-pyridazinone (7) is protected by methoxymethyl protecting group (8), and reacted with diethylmalonate and sodium ethoxide to give a derivative of diethyl malonate (9). The derivative (9) is heated with NaCl in DMSO to give monoacetate (10). The monoacetate thus obtained (10) is treated with Pd/C under hydrogen atmosphere to synthesize the derivative (11). This derivative (11) is deprotected by using BBr₃, and the resulting derivative (12) is reacted with a suitable alkyl halide to give the derivative (13). This derivative (13) is reacted with LiHMDS and a suitable alkyl halide to give the derivative (14), which is further hydrolyzed, if necessary, to give the carboxylic acid derivative (15) having no protecting group.

【Reaction Scheme 3】

32



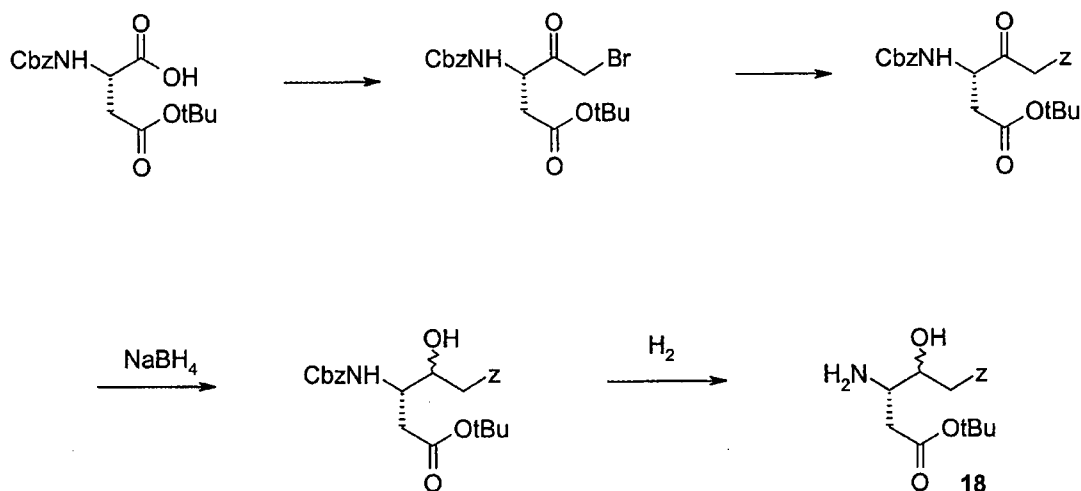
In Reaction Schemes 3 and 4, Z represents $-\text{OR}^9$ (R^9 is $\text{C}_1\text{-C}_5\text{-alkyl}$, $\text{C}_3\text{-C}_{10}\text{-cycloalkyl}$ or aryl), $-\text{OC}(=\text{O})\text{R}^{10}$ (R^{10} is $\text{C}_1\text{-C}_5\text{-alkyl}$, $\text{C}_3\text{-C}_{10}\text{-cycloalkyl}$ or aryl), or $-\text{W}$ (W is halogen).

As depicted in Reaction Scheme 3 above, the carboxylic acid derivative (15) is coupled with the aspartic acid derivative (18) (see the following Reaction Scheme 4) to give the compound (16), which is then subjected to Dess-Martin periodene oxidation reaction, and deprotection reaction, if needed, to give the desired compound of formula (1).

The functional group Z in the compound (1) of Reaction Scheme 3 may be formed first by synthesizing the compound (18) already having the desired Z group according to the process of Reaction Scheme 4, and by reacting the compound (18) with the carboxylic acid compound (15) (see WO 00/23421). Or, the desired Z group may be introduced later according to the process of Reaction Scheme 4 after the carboxylic acid compound (15) is combined with the aspartic acid (β -t-Bu) methyl ester and hydrolyzed. When Z is F, the racemic compound may be prepared according to a method known in *Tetrahedron*

Letters, 1994, 35(52), 9693-9696.

【Reaction Scheme 4】



5 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 pharmaceutical composition for inhibiting caspases, specifically a therapeutic composition for preventing inflammation and apoptosis,

10 comprising the compound of formula (1) or pharmaceutically acceptable salt thereof as an active ingredient together with the pharmaceutically acceptable carrier. Specifically, the composition of the present invention has a therapeutic or preventing 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,

15 sepsis, organ transplantation rejection, rheumatic arthritis, cardiac cell apoptosis due to ischemic cardiac diseases, or liver cirrhosis.

34

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 compound of formula (1) or pharmaceutically acceptable salt thereof is mixed with a pharmaceutically acceptable carrier that may take a wide variety of forms depending on the formulation to be prepared.

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.

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.

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- or di-glyceride may be used for this purpose. Fatty acid such as oleic acid may also be used for injections.

35

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.

5 These percutaneous preparations are administered via various manners, e.g., as a transdermal patch, a spot-on, or an ointment.

When the caspase inhibitor of the present invention is used for clinical purpose, it is preferable to administer to the subject patient in an amount ranging from 0.1 to 100mg per kg of body weight a day. The total daily dosage may be administered once or over

10 several times. However, specific administration dosage for an individual patient can be varied with specific compound used, body weight, gender, 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.

【Embodiments for Practicing the Invention】

15 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.

20 Preparation 1-1)

(5-Methyl-3-oxo-2,3,4,5-tetrahydro-pyridazin-4-yl)-acetic acid methyl ester

Magnesium sulfate (3.6 kg, 30.0 mol) was introduced into diethylamine (6.6 kg, 90.0 mol), to which was added propionaldehyde (1.76 kg, 30.3 mol) with maintaining a

temperature of 0°C. The mixture was warmed to room temperature, and stirred for 2.5 h. To this mixture was introduced 18 L of methylene chloride, which was then cooled to 0°C. Dimethylmaleate (3.04 kg, 21.1 mol) was added, and the resulting mixture was stirred for 20 h. The reaction mixture was filtered to remove the solid, and the filtrate was distilled
5 under reduced pressure to give crude 3-diethylamino-4-methyl-cyclobutane-1,2-dicarboxylic acid dimethyl ester.

To 3-diethylamino-4-methyl-cyclobutane-1,2-dicarboxylic acid dimethyl ester obtained above were added tetrahydrofuran (10 L) and distilled water (5 L), acetic acid (2.54 kg, 42.3 mol) was added thereto, and the mixture was stirred under reflux for 1 h.
10 Tetrahydrofuran was removed by distillation under reduced pressure. Ethyl acetate was added to the residue, which was then extracted-dried-concentrated according to a conventional manner to give crude 2-(1-methyl-2-oxo-ethyl)succinic acid dimethyl ester (3.44 kg).

To this 2-(1-methyl-2-oxo-ethyl)succinic acid dimethyl ester was added ethanol
15 (13 L), which was cooled to 0°C. Acetic acid (1.2 kg, 20 mol) was added with maintaining the temperature. To the reaction mixture was added hydrazine hydrate (1.08 kg, 21.6 mol), which was warmed to room temperature and stirred for 16 h. Ethanol was removed by distillation under reduced pressure, methylene chloride was added to the residue, which was then extracted-dried-concentrated according to a conventional manner
20 to give the title compound (2.80 kg, Yield: 51 %).

¹H-NMR (CDCl₃, 500 MHz) δ □ 8.39 (br s, 1H), 7.17 (d, 0.5H), 6.94 (s, 0.5H), 3.71 (d, 3H), 3.20-3.15 (m, 0.5H), 3.03-2.98 (m, 0.5H), 2.78-2.73 (m, 1H), 2.67-2.61 (m, 1H), 2.39-2.34 (m, 0.5H), 1.24 (d, 0.5H), 1.01 (d, 1.5H)

Zf

Preparation 1-2)**(5-Methyl-3-oxo-2,3-dihydro-pyridazin-4-yl)-acetic acid methyl ester**

To the compound of Preparation 1-1) (2.70 kg, 14.7 mol) was added methylene
5 chloride (27 L), which was then cooled to 0 °C. Thionyl chloride (2.08 kg, 17.6 mol) was
added thereto over 40 min. The mixture was warmed to room temperature, and stirred
for 4.5 h. To the reaction mixture were added 20 kg of 10% aqueous sodium chloride
solution and 16 kg of methylene chloride. The organic layer obtained by phase
separation was dried-concentrated according to a conventional manner to give the title
10 compound (1.72 kg, Yield: 64%) as a pale yellow solid.

¹H-NMR (CDCl₃, 500 MHz) δ 12.08 (br s, 1H), 7.66 (s, 1H), 3.70 (s, 3H), 3.68
(s, 2H), 2.19 (s, 3H)

Preparation 1-3)

15 **(5-Methyl-3-oxo-2-phenyl-2,3-dihydro-pyridazin-4-yl)-acetic acid methyl ester**

To a mixture of the compound of Preparation 1-2) (182 mg, 1.0 mmol),
phenylboronic acid (244 mg, 2.0 eq), Cu(OAc)₂·H₂O (40 mg, 0.2 eq), pyridine (0.16 mL,
2.0 eq), TEMPO (172 mg, 1.1 eq) and molecular sieve (120mg, 4A, powder, pre-dried)
20 was added CH₂Cl₂ (10 mL), which was then stirred for 1 h at room temperature under
nitrogen gas. The reaction mixture was exposed to air, and stirred for one day.
Saturated ammonium acetate (30 mL) was added thereto, and the mixture was extracted
twice with ethyl acetate (100 mL). The extract was washed with dilute solution of
sodium hydrogen carbonate (NaHCO₃, 100mL x 2), dried (anhydrous Na₂SO₄), and

concentrated under reduced pressure. The residue was separated by column chromatography (20-35% ethyl acetate-hexane) to give 258 mg of the title compound in a stoichiometric yield.

¹H-NMR (500MHz, CDCl₃) δ 7.75(s, 1H), 7.58 (d, 2H), 7.44(t, 2H), 7.36(t, 1H),
5 3.70(s, 3H), 3.68(s, 2H), 2.25(s, 3H)

Preparation 1-4)

2-(5-Methyl-3-oxo-2-phenyl-2,3-dihydro-pyridazin-4-yl)-butyric acid methyl ester

10 The compound of Preparation 1-3) (258 mg, 1.0 mmol) was dissolved in anhydrous THF (10 mL) under nitrogen atmosphere and maintained at a temperature of -78°C. 1.0M LiHMDS/THF (1.20 mL, 1.2 eq) was added thereto, and the mixture was stirred for 10 min. Ethyl iodide (0.12 mL, 1.5 eq) was added, and the mixture was slowly warmed to room temperature, with stirring overnight. Water (20 mL) was added,
15 and the mixture was extracted with ethyl acetate (50 mL x 2), washed with aqueous sodium chloride solution (100 mL), dried (anhydrous Na₂SO₄), and concentrated under reduced pressure to give 286 mg of the title compound in a stoichiometric yield. This compound was used in the next reaction without further purification.

¹H-NMR (500MHz, CDCl₃) δ 7.72(s, 1H), 7.60(d, 2H), 7.44(t, 2H), 7.35(t, 1H),
20 3.77(dd, 1H), 3.70(s, 3H), 2.28(m, 1H), 2.26(s, 3H), 1.90(m, 1H), 0.92(t, 3H)

Preparation 1-5)

2-(5-Methyl-3-oxo-2-phenyl-2,3-dihydro-pyridazin-4-yl)-butyric acid

The compound of Preparation 1-4) (286 mg) was dissolved in a solvent mixture (6 mL, tetrahydrofuran:MeOH:H₂O = 3:2:1), LiOH.H₂O (126 mg, 3.0 eq) was added thereto, and the mixture was heated for about 2 h with stirring. The reaction solution was neutralized by 1N aqueous hydrochloric acid solution, and distilled under reduced pressure to almost thoroughly remove tetrahydrofuran. The residue was dissolved in excess ethyl acetate (50 mL), washed with aqueous sodium chloride solution, dried (anhydrous Na₂SO₄), and concentrated under reduced pressure to give the title compound (272 mg) in a stoichiometric yield. This compound was used in the next reaction without further purification.

10

Preparation 1-6)

5-Fluoro-3-[2-(5-methyl-3-oxo-2-phenyl-2,3-dihydro-pyridazin-4-yl)-butyrylamino]-4-oxo-pentanoic acid tert-butyl ester

A mixture of the carboxylic acid derivative of Preparation 1-5) (271 mg, 1.00 mmol), 3-amino-5-fluoro-4-hydroxy-pentanoic acid tert-butyl ester (see *Tetrahedron Letters*, 1994, 35(52), 9693-9696, 248 mg, 1.2 eq) and HATU (494 mg, 1.3 eq) was cooled to 0°C, triethylamine (0.56 mL, 4.0 eq) was added thereto in DMF solvent (5 mL), and the mixture was reacted for one day. The solvent was distilled under reduced pressure. The residue was extracted with ethyl acetate (30 mL x 2), washed with water, aqueous sodium hydrogen carbonate solution and aqueous sodium chloride solution, dried (anhydrous Na₂SO₄), and concentrated under reduced pressure. To this compound and Dess-Martin reagent (848 mg, 2.0 eq) was added anhydrous dichloromethane (4 mL), which was then stirred for 1 h at room temperature. The reaction was stopped by isopropyl alcohol (1 mL). The solid was removed by celite filtration under reduced

20

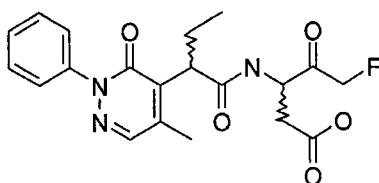
pressure, and extracted with ethyl acetate (20 mL x 2). The extract was washed with water, saturated aqueous sodium hydrogen carbonate solution and aqueous sodium chloride solution, dried (anhydrous Na₂SO₄), and concentrated under reduced pressure. The residue was separated by column chromatography (30-40% ethyl acetate-hexane) to
5 give 330 mg (72%) of the title compound.

¹H-NMR (500MHz, CDCl₃) δ 7.79(br m, 1H), 7.62(m, 1H), 7.50-7.25(m, 5H), 5.20-4.80(m, 2H), 4.80-4.68(m, 1H), 3.75(m, 1H), 2.88-2.57(m, 2H), 2.26(s, 3H), 2.26-1.98(m, 2H), 1.41(m, 9H), 0.87(m, 3H)

10

Example 1)

**5-Fluoro-3-[2-(5-methyl-3-oxo-2-phenyl-2,3-dihydro-pyridazin-4-yl)-butyryl-
mino]-4-oxo-pentanoic acid**



The compound of Preparation 1-6) (100mg, 0.218 mmol) was dissolved in
15 dichloromethane (4 mL), and trifluoroacetic acid (2 mL) was added at 0°C. The mixture was stirred for 1 h, during which it was slowly warmed to room temperature. The mixture was concentrated under reduced pressure, and separated by column chromatography (10% methanol-dichloromethane) to give 68 mg (78%) of the title compound.

20 ¹H-NMR (500MHz, DMSO-*d*₆) δ 7.93(m, 1H), 7.84(br s, 1H), 7.45-7.37(m, 5H), 5.03(m, 2H), 4.57-4.49(m, 1H), 3.69(m, 1H), 2.68-2.47(m, 2H), 2.19(s, 3H),

2.08-1.68(m, 2H), 0.76(m, 3H)

Mass $M+H^+$ 402.74

Preparation 2-1)

5 **(2-Benzyl-5-methyl-3-oxo-2,3-dihydro-pyridazin-4-yl)-acetic acid methyl ester**

To a mixture of the compound of Preparation 1-2) (364 mg, 2.0 mmol) and CS_2CO_3 (977 mg, 1.5 eq) were added DMF (8 mL) and benzyl bromide (0.31 mL, 1.3 eq), which was then stirred for 3 h at 60°C under nitrogen atmosphere. The mixture was
10 concentrated under reduced pressure, and the residue was extracted twice with ethyl acetate (100 mL). The extract was washed with saturated aqueous sodium hydrogen carbonate solution ($NaHCO_3$, 100 mL x 2) and aqueous sodium chloride solution, dried (anhydrous Na_2SO_4), and concentrated under reduced pressure. The residue was
15 separated by column chromatography (30% ethyl acetate-hexane) to give 484 mg (89%) of the title compound.

^1H -NMR (500MHz, $CDCl_3$) δ 7.61(s, 1H), 7.39(d, 2H), 7.35-7.26(m, 3H), 5.29(s, 2H), 3.70 (s, 3H), 3.65(s, 2H), 2.15(s, 3H)

Preparation 2-2)

20 **2-(2-Benzyl-5-methyl-3-oxo-2,3-dihydro-pyridazin-4-yl)-butyric acid methyl ester**

The compound of Preparation 2-1) (471 mg, 1.73 mmol) was dissolved in anhydrous THF (6 mL) under nitrogen atmosphere, and maintained at -78°C. 1.0M

LiHMDS/THF (2.10 mL, 1.2 eq) was added thereto, and the mixture was stirred for 10 min. Ethyl iodide (0.21 mL, 1.5 eq) was added, and the mixture was slowly warmed to room temperature with stirring overnight. The reaction was stopped by saturated ammonium acetate solution. The reaction mixture was extracted with ethyl acetate (50 mL x 2), washed with aqueous sodium chloride solution (100 mL), dried (anhydrous Na₂SO₄), and concentrated under reduced pressure. The residue was separated by column chromatography (20% ethyl acetate-hexane) to give 400 mg (77%) of the title compound.

¹H-NMR (500MHz, CDCl₃) δ 7.57(s, 1H), 7.37(d, 2H), 7.30-7.25(m, 3H), 5.38 & 5.17(two d, J = 13.5Hz, 2H), 3.70(s, 3H), 3.69(dd, 1H), 2.25(m, 1H), 2.17(s, 3H), 1.84(m, 1H), 0.87(t, 3H)

Preparation 2-3)

2-(2-Benzyl-5-methyl-3-oxo-2,3-dihydro-pyridazin-4-yl)-butyric acid

The compound of Preparation 2-2) (400 mg, 1.31 mmol) was dissolved in a solvent mixture (6 mL, tetrahydrofuran:MeOH:H₂O = 3:2:1), LiOH.H₂O (165 mg, 3.0 eq) was added thereto, and the mixture was heated for about 2 h while stirring. The reaction mixture was neutralized by 1N aqueous hydrochloric acid solution, distilled under reduced pressure to almost thoroughly remove tetrahydrofuran. The residue was dissolved in excess ethyl acetate (50 mL), washed with aqueous sodium chloride solution, dried (anhydrous Na₂SO₄), and concentrated under reduced pressure to give 356mg (Yield 100%) of the title compound. This compound was used in the next reaction without further purification.

Preparation 2-4)**3-[2-(2-Benzyl-5-methyl-3-oxo-2,3-dihydro-pyridazin-4-yl)-butyrylamino]-5-fluoro-4-oxo-pentanoic acid tert-butyl ester**

A mixture of the carboxylic acid derivative of Preparation 2-3) (153 mg, 0.535 mmol), 3-amino-5-fluoro-4-hydroxy-pentanoic acid tert-butyl ester (see *Tetrahedron Letters*, 1994, 35(52), 9693-9696, 133 mg, 1.2 eq) and HATU (265 mg, 1.3 eq) was cooled to 0°C, triethylamine (0.30 mL, 4.0 eq) was added thereto in DMF solvent (5 mL), and the mixture was reacted for one day. The solvent was distilled under reduced pressure. The residue was extracted with ethyl acetate (30 mL x 2), washed with water, aqueous sodium hydrogen carbonate solution and aqueous sodium chloride solution, dried (anhydrous Na₂SO₄), and concentrated under reduced pressure. The residue was separated by column chromatography (40-60% ethyl acetate-hexane) to give 233 mg (92%) of 3-[2-(2-benzyl-5-methyl-3-oxo-2,3-dihydro-pyridazin-4-yl)butyrylamino]-5-fluoro-4-hydroxy-pentanoic acid tert-butyl ester. To this compound and Dess-Martin reagent (312 mg, 3.0 eq) was added anhydrous dichloromethane (4 mL), which was then stirred for 1 h at room temperature. The reaction was stopped by isopropyl alcohol (1 mL). The solid was removed by celite filtration under reduced pressure, and extracted with ethyl acetate (20 mL x 2). The extract was washed with water, saturated aqueous sodium hydrogen carbonate solution and aqueous sodium chloride solution, dried (anhydrous Na₂SO₄), and concentrated under reduced pressure. The residue was separated by column chromatography (30-40% ethyl acetate-hexane) to give 201 mg (79%) of the title compound.

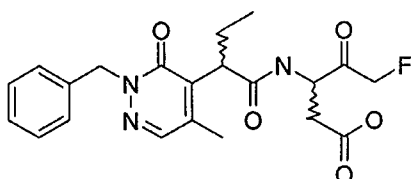
¹H-NMR (500MHz, CDCl₃) δ 8.13(br s, 1H), 7.62(s, 1H), 7.38-7.25(m, 5H),

4A

5.38-5.20(m, 2H), 5.20-4.80(m, 2H), 4.80-4.68(m, 1H), 3.76(m, 1H), 2.88-2.57(m, 2H),
2.26(s, 3H), 2.26-1.98(m, 2H), 1.41(m, 9H), 0.87(m, 3H)

Example 2)

5 **3-[2-(2-Benzyl-5-methyl-3-oxo-2,3-dihydro-pyridazin-4-yl)-butyrylamino]-5-fluoro-4-oxo-pentanoic acid**



The compound of Preparation 2-4) (198 mg, 0.418 mmol) was dissolved in dichloromethane (4 mL), and trifluoroacetic acid (2 mL) was added at 0 °C. The mixture
10 was stirred for 1 h, during which it was slowly warmed to room temperature. The mixture was concentrated under reduced pressure, and separated by column chromatography (10% methanol-dichloromethane) to give 175 mg (stoichiometric yield, white powder) of the title compound.

¹H-NMR (500MHz, DMSO-*d*₆) δ 12.31(br s, 1H), 7.95-7.86(dd, 1H), 7.79(s, 1H), 7.28-7.22(m, 5H), 5.34-4.86(m, 4H), 4.49-4.39(m, 1H), 3.60(m, 1H), 2.70-2.35(m, 2H), 2.14(s, 3H), 2.05-1.68(m, 2H), 0.70(m, 3H)
15

Preparation 3-1)**2-Benzyl-4,5-dichloro-2H-pyridazin-3-one**

20 To a mixture of 4,5-dichloro-2H-pyridazin-3-one (3.3 g, 20.0 mmol) and Cs₂CO₃ (9.77 mg, 1.5 eq) were added DMF (15 mL) and benzyl bromide (3.10 mL, 1.3 eq), which

was then stirred for 3 h at 60°C under nitrogen atmosphere. The mixture was concentrated under reduced pressure, and the residue was extracted twice with ethyl acetate (200 mL). The extract was washed with saturated aqueous sodium hydrogen carbonate solution (NaHCO₃, 100 mL x 2) and aqueous sodium chloride solution, dried (anhydrous Na₂SO₄), and concentrated under reduced pressure. The residue was separated by column chromatography (10% ethyl acetate-hexane) to give 4.48 g (88%) of the title compound.

¹H-NMR (500MHz, CDCl₃) δ 7.77(s, 1H), 7.43(d, 2H), 7.35-7.30(m, 3H), 5.32(s, 2H)

10

Preparation 3-2)

(2-Benzyl-5-chloro-3-oxo-2,3-dihydro-pyridazin-4-yl)-acetic acid ethyl ester

Diethylmalonate (1.73 g, 1.64 mL, 2.5 eq) was dissolved in isopropyl ether (2 mL), sodium ethoxide (0.73 g, 2.5 eq) was added thereto at room temperature, and the mixture was stirred for 30 min. To the reaction mixture was added the compound of Preparation 3-1) (1.10 g, 4.31 mmol), which was then refluxed for one day. The mixture was extracted with ethyl acetate (50 mL x 2), washed with aqueous sodium chloride solution (100 mL), dried (anhydrous Na₂SO₄), and concentrated under reduced pressure. The residue was separated by column chromatography (10-20% ethyl acetate-hexane) to give 1.34 g (82%) of a 1:1 mixture of 2-(2-benzyl-5-chloro-3-oxo-2,3-dihydro-pyridazin-4-yl)-malonic acid diethyl ester and 2-(1-benzyl-5-chloro-6-oxo-1,6-dihydro-pyridazin-4-yl)-malonic acid diethyl ester. This mixture was dissolved in 12 mL of a solvent mixture (H₂O:DMSO =1:5), NaCl (1.0 g, 5

20

46

eq) was added thereto, and the mixture was heated to 120°C for one day. The mixture was concentrated under reduced pressure, and the residue was extracted twice with ethyl acetate (200 mL). The extract was washed with water, saturated sodium hydrogen carbonate solution (NaHCO₃, 100 mL x 2) and aqueous sodium chloride solution, dried (anhydrous Na₂SO₄), and concentrated under reduced pressure. The residue was separated by column chromatography (10-20% ethyl acetate-hexane) to give 530 mg (49%) of the title compound.

¹H-NMR (500MHz, CDCl₃) δ 7.76(s, 1H), 7.39(d, 2H), 7.33-7.26(m, 3H), 5.29(s, 2H), 4.17(qt, 2H), 3.75(s, 2H), 1.24(t, 3H)

10

Preparation 3-3)

(2-Benzyl-3-oxo-2,3-dihydro-pyridazin-4-yl)-acetic acid ethyl ester

The compound of Preparation 3-2) (1.15 g, 3.75 mmol) was dissolved in 30 mL of EtOH, 10% Pd/C (200 mg, Aldrich) was added, and the mixture was stirred for 3 h under hydrogen atmosphere. The reaction mixture was passed through celite, washed twice with ethanol, and the ethanol extract was concentrated under reduced pressure to give 1.00 g (98%) of the title compound.

¹H-NMR (500MHz, CDCl₃) δ 7.74(d, 1H), 7.42(d, 2H), 7.33-7.26(m, 3H), 7.17(d, 1H), 5.33(s, 2H), 4.18(qt, 2H), 3.59(s, 2H), 1.25(t, 3H)

20

Preparation 3-4)

2-(2-Benzyl-3-oxo-2,3-dihydro-pyridazin-4-yl)-butyric acid ethyl ester

The compound of Preparation 3-3) (272 mg, 1.00 mmol) was dissolved in

47

anhydrous THF (5 mL) under nitrogen atmosphere and maintained at a temperature of -78°C. 1.0M LiHMDS/THF (1.50 mL, 1.5 eq) was added thereto, and the mixture was stirred for 10 min. Ethyl iodide (0.14 mL, 1.8 eq) was added, and the mixture was slowly warmed to room temperature, with stirring overnight. The reaction was stopped
5 by saturated ammonium acetate solution. The reaction mixture was extracted with ethyl acetate (50 mL x 2), washed with aqueous sodium chloride solution (100 mL), dried (anhydrous Na₂SO₄), and concentrated under reduced pressure. The residue was separated by column chromatography (10-20% ethyl acetate-hexane) to give 220 mg (73%, oil) of the title compound.

10 ¹H-NMR (500MHz, CDCl₃) δ 7.74(d, 1H), 7.42(d, 2H), 7.33-7.26(m, 3H), 7.17(d, 1H), 5.32(ABq, 2H), 4.18-4.10(m, 2H), 3.87(t, 2H), 2.01-1.77(m, 2H), 1.21(t, 3H), 0.95(t, 3H)

Preparation 3-5)

15 **3-[2-(2-Benzyl-3-oxo-2,3-dihydro-pyridazin-4-yl)-butyrylamino]-5-fluoro-4-oxo-pentanoic acid tert-butyl ester**

The compound of Preparation 3-4) was hydrolyzed according to the same procedure as Preparation 2-3) to give carboxylic acid derivative. A mixture of this carboxylic acid derivative (205 mg, 0.683 mmol), 3-amino-5-fluoro-4-hydroxy-pentanoic
20 acid tert-butyl ester (see *Tetrahedron Letters*, **1994**, 35(52), 9693-9696, 170 mg, 1.2 eq) and HATU (337 mg, 1.3 eq) was cooled to 0°C, triethylamine (0.38 mL, 4.0 eq) was added thereto in DMF solvent (5 mL), and the mixture was reacted for one day. The solvent was distilled under reduced pressure. The residue was extracted with ethyl acetate (30

28

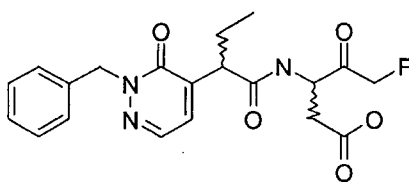
mL x 2), washed with water, aqueous sodium hydrogen carbonate solution and aqueous sodium chloride solution, dried (anhydrous Na₂SO₄), and concentrated under reduced pressure to give 3-[2-(2-benzyl-3-oxo-2,3-dihydro-pyridazin-4-yl)butyrylamino]-5-fluoro-4-hydroxy-pentanoic acid tert-butyl ester.

- 5 To this compound and Dess-Martin reagent (580 mg, 2.0 eq) was added anhydrous dichloromethane (4 mL), which was then stirred for 1 h at room temperature. The reaction was stopped by isopropyl alcohol (1 mL). The solid was removed by celite filtration under reduced pressure, and extracted with ethyl acetate (20 mL x 2). The extract was washed with water, saturated aqueous sodium hydrogen carbonate solution and aqueous sodium chloride solution, dried (anhydrous Na₂SO₄), and concentrated under reduced pressure. The residue was separated by column chromatography (20-30% ethyl acetate-hexane) to give 242 mg (77%) of the title compound.

¹H-NMR (500MHz, CDCl₃) δ 7.79 (m, 1H), 7.56(m, 1H), 7.42-7.27(m, 5H), 7.14(m, 1H), 5.40-5.27(m, 2H), 5.22-4.67(m, 3H), 3.76(m, 1H), 2.93-2.56(m, 2H), 2.16(m, 1H), 1.69(m, 1H), 1.42 & 1.38(two s, 9H), 0.95(m, 3H)

Example 3)

3-[2-(2-Benzyl-3-oxo-2,3-dihydro-pyridazin-4-yl)-butyrylamino]-5-fluoro-4-oxo-pentanoic acid



The compound of Preparation 3-5) (242 mg, 0.527 mmol) was reacted according

to the same procedure as Example 2) to give 195 mg (92%) of the title compound.

$^1\text{H-NMR}$ (500MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ 12.40(br s, 1H), 8.70(m, 1H), 7.87(m, 1H), 7.27-7.24(m, 6H), 5.25-5.16(m, 2H), 5.21(m, 2H), 4.58-4.47(m, 1H), 3.64(m, 1H), 2.69-2.47(m, 2H), 1.72-1.62(m, 2H), 0.82(m, 3H)

5

Preparation 4-1)

2-(2-Benzyl-5-chloro-3-oxo-2,3-dihydro-pyridazin-4-yl)-butyric acid ethyl ester

The compound of Preparation 3-2) (170 mg, 0.554 mmol) was reacted according to the same procedure as Preparation 3-4) to give 137 mg (74%) of the title compound.

$^1\text{H-NMR}$ (500MHz, CDCl_3) δ 7.74(s, 1H), 7.38-7.26(m, 5H), 5.37-5.17(ABq, 2H), 4.18-4.02(m, 2H), 3.91(dd, 1H), 2.27(m, 1H), 1.90(m, 1H), 1.08(t, 3H), 0.89(t, 3H)

Preparation 4-2)

2-(2-Benzyl-5-chloro-3-oxo-2,3-dihydro-pyridazin-4-yl)-butyric acid and 2-(2-Benzyl-5-methoxy-3-oxo-2,3-dihydro-pyridazin-4-yl)-butyric acid

The compound of Preparation 4-1) (132 mg, 0.395 mmol) was dissolved in a solvent mixture (6 mL, tetrahydrofuran:MeOH:H₂O = 3:2:1), LiOH.H₂O(50 mg, 3.0 eq) was added thereto, and the mixture was stirred for one day. The reaction mixture was neutralized by 1N aqueous hydrochloric acid solution, and distilled under reduced pressure to almost thoroughly remove tetrahydrofuran. The residue was dissolved in excess ethyl acetate (50 mL), washed with aqueous sodium chloride solution, dried (anhydrous Na₂SO₄), and concentrated under reduced pressure to give 118 mg of the title compound, which was then identified by NMR to be a mixture of the chloro derivative and the

methoxy derivative in a ratio of 0.4:1.0. These compounds were used in the next reaction without further purification.

Preparation 4-3)

5 3-[2-(2-Benzyl-5-chloro-3-oxo-2,3-dihydro-pyridazin-4-yl)-butyrylamino]-5-fluoro-4-oxo-pentanoic acid tert-butyl ester and

3-[2-(2-Benzyl-5-methoxy-3-oxo-2,3-dihydro-pyridazin-4-yl)-butyrylamino]-5-fluoro-4-oxo-pentanoic acid tert-butyl ester

The two compounds obtained in Preparation 4-2) were reacted according to the same procedure as Preparation 2-4), and were separated by column chromatography (30-50% ethyl acetate-hexane) to give the chloro derivative (45 mg, 23%) and the methoxy derivative (62 mg, 32%).

Chloro derivative

¹H-NMR (500MHz, CDCl₃) δ 7.78(s, 1H), 7.70(m, 1H), 7.42-7.27(m, 5H),
15 5.35-4.86(m, 4H), 4.78-4.67(m, 1H), 4.01(m, 1H), 2.94-2.62(m, 2H), 2.28-2.06(m, 2H),
1.69(m, 1H), 1.42 & 1.41(two s, 9H), 0.89(m, 3H)

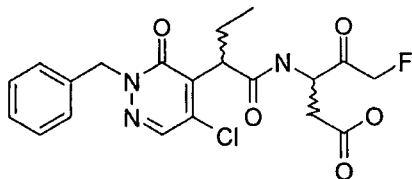
Methoxy derivative

¹H-NMR (500MHz, CDCl₃) δ 8.14-8.03(br m, 1H), 7.84(m, 1H), 7.40-7.26(m,
5H), 5.40-4.70(m, 5H), 3.94(two s, 3H), 3.94(m, 1H), 2.88-2.58(m, 2H), 2.26-1.90(m, 2H),
20 1.42 & 1.40(two s, 9H), 0.86(m, 3H)

Example 4)

3-[2-(2-Benzyl-5-chloro-3-oxo-2,3-dihydro-pyridazin-4-yl)-butyrylamino]-5-fluoro-4-oxo-pentanoic acid

57

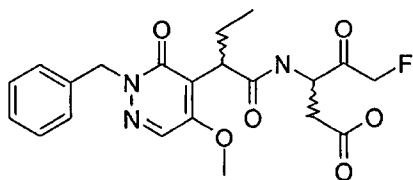


The chloro compound of Preparation 4-3) (45 mg, 0.091 mmol) was reacted according to the same procedure as Example 2) to give 23 mg (58%) of the title compound.

5 $^1\text{H-NMR}$ (500MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ 8.17(s, 1H), 7.97(m, 1H), 7.40-7.23(m, 5H), 5.36-5.29(m, 1H), 5.29-4.70(m, 2H), 5.09-5.05(m, 1H), 4.52-4.43(m, 1H), 3.74(m, 1H), 2.67-2.46(m, 2H), 2.10-1.74(m, 2H), 0.73(m, 3H)

Example 5)

10 **3-[2-(2-Benzyl-5-methoxy-3-oxo-2,3-dihydro-pyridazin-4-yl)-butyrylamino]-5-fluoro-4-oxo-pentanoic acid**



The methoxy compound of Preparation 4-3) (62 mg, 0.127mmol) was reacted according to the same procedure as Example 2) to give 28 mg (51%) of the title compound.

15 $^1\text{H-NMR}$ (500MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ 8.17(s, 1H), 7.89-7.81(m, 1H), 7.26-7.21(m, 5H), 5.34-5.09(Ab q, 2H), 5.29-4.70(m, 2H), 4.52-4.40(m, 1H), 3.90(d, 3H), 3.62(m, 1H), 2.65-2.46(m, 2H), 1.97-1.64(m, 2H), 0.68(m, 3H)

Preparation 6-1)**4,5-Dichloro-2-methoxymethyl-2H-pyridazin-3-one**

4,5-Dichloro-2H-pyridazin-3-one (30 g, 182 mmol), N,N-diisopropylethylamine (47.5 mL, 258 mmol) and 4-dimethylaminopyridine (2.20 g, 18.2 mmol) were dissolved in 200 mL of methylene chloride, to which was slowly added dropwise chloromethyl methyl ether (16.6 mL, 21.8 mmol) while maintaining at 0°C. The mixture was stirred for 3 h at room temperature. The reaction solution was washed with saturated aqueous sodium hydrogen carbonate solution, distilled under reduced pressure, and separated-purified by column chromatography (10% methylene chloride/ethyl acetate) to give the title compound (26.6 g, Yield: 70%) as a yellow solid.

¹H-NMR (CDCl₃, 400 MHz) δ 7.81(s, 1H), 5.45(s, 2H), 3.48(s, 3H)

Preparation 6-2)

2-(5-Chloro-2-methoxymethyl-3-oxo-2,3-dihydro-pyridazin-4-yl)-malonic acid diethyl ester and 2-(5-chloro-1-methoxymethyl-6-oxo-1,6-dihydro-pyridazin-4-yl)-malonic acid diethyl ester

The compound of Preparation 6-1) (26.6 g, 127 mmol) and sodium ethoxide (13 g, 191 mmol) were suspended in diisopropyl ether (100 mL), and stirred for 30 min. Diethyl malonate (29.0 mL, 191 mmol) was added thereto, and the mixture was refluxed for one day. After completion of the reaction, the mixture was distilled under reduced pressure to remove diisopropyl ether. The residue was dissolved again in methylene chloride, washed with 1 N hydrochloric acid and saturated aqueous sodium hydrogen carbonate solution, and distilled under reduced pressure. The residue was separated by column chromatography (14.3%, ethyl acetate/hexane) to give the title mixture in a ratio

of 1:1 (32 g, Yield: 76%) as a pale yellow liquid.

Preparation 6-3)

(5-Chloro-2-methoxymethyl-3-oxo-2,3-dihydro-pyridazin-4-yl)-acetic acid ethyl ester

The compound of Preparation 6-2) (32.0 g, 96.2 mmol) and sodium chloride (228 g, 481 mmol) were dissolved in water/dimethylsulfoxide (120 mL, 1/5), and stirred for 16 h at 170°C. Dimethylsulfoxide was removed by distillation in vacuo. The residue was dissolved in methylene chloride, washed with water, distilled under reduced pressure, and separated by column chromatography (33%, ethyl acetate/hexane) to give the title compound (12 g, Yield: 48%) as a colorless liquid.

¹H-NMR (CDCl₃, 500 MHz) δ 7.78(s, 1H), 5.42(s, 2H), 4.18(t, 2H), 3.77(s, 2H), 3.44(s, 3H), 1.26(q, 3H)

15 Preparation 6-4)

(2-Methoxymethyl-3-oxo-2,3-dihydro-pyridazin-4-yl)-acetic acid ethyl ester

The compound of Preparation 6-3) (405 mg, 1.55 mmol) was dissolved in 10 mL of EtOH, 10% Pd/C (100 mg, Aldrich) was added, and the mixture was stirred for 1 h under hydrogen atmosphere. The reaction mixture was passed through celite, and washed twice with ethanol. The ethanol extract was concentrated under reduced pressure, and separated by column chromatography (40-50%, ethyl acetate/hexane) to give the title compound (240 mg, Yield: 68%) as a colorless liquid.

¹H-NMR (500MHz, CDCl₃) δ 7.76(d, 1H), 7.21(d, 1H), 5.45(s, 2H), 4.18(qt,

54

2H), 3.45(s, 3H), 1.27(t, 3H)

Preparation 6-5)

2-(2-Methoxymethyl-3-oxo-2,3-dihydro-pyridazin-4-yl)-butyric acid ethyl

5 ester

The compound of Preparation 6-4) (240 mg, 1.06 mmol) was reacted according to the same procedure as Preparation 2-2) to give 179 mg (67%) of the title compound.

¹H-NMR (500MHz, CDCl₃) δ 7.77(d, 1H), 7.21(d, 1H), 5.46(m, 2H),
4.22-4.10(m, 2H), 3.88(m, 1H), 3.45(s, 3H), 2.00-1.78(two m, 2H), 1.24(t, 3H), 0.96(t,
10 3H)

Preparation 6-6)

2-(3-Oxo-2,3-dihydro-pyridazin-4-yl)-butyric acid ethyl ester

The compound of Preparation 6-5) (172 mg, 0.676 mmol) was dissolved in 8 mL
15 of CH₂Cl₂, BBr₃ (70 μl, or 1.1 eq/1.0M solution in CH₂Cl₂) was added at -78 °C, and the
mixture was stirred for 2 h while slowly warming to room temperature. The reaction was
stopped by saturated ammonium acetate. The reaction mixture was extracted with ethyl
acetate, and washed with aqueous sodium chloride solution. The extract was
concentrated under reduced pressure, and separated by Prep-TLC (70%, ethyl
20 acetate/hexane) to give the title compound (132 mg, Yield: 91%) as a colorless liquid.

¹H-NMR (500MHz, CDCl₃) δ 7.76(d, 1H), 7.26(d, 1H), 4.18-4.10(m, 2H),
3.88(m, 1H), 2.00-1.75(two m, 2H), 1.23(t, 3H), 0.94(t, 3H)

SS

Preparation 6-7)**1-Bromomethyl-2-tert-butyl-benzene**

To 1-tert-butyl-2-methyl-benzene (940 mg, 6.34 mmol), NBS (1.24 g, 1.1 eq) and AIBN (20 mg, catalytic amount) was added CCl₄ (12 mL), which was then refluxed for 1 h.

- 5 The suspended particles were removed by filtration, and washed with CCl₄. The organic layers were combined and concentrated under reduced pressure to give 1.5 g of a yellow liquid in a stoichiometric yield.

¹H-NMR (500MHz, CDCl₃) δ 7.46(m, 1H), 7.38(m, 1H), 7.22-7.21(m, 2H), 4.83(s, 2H), 1.46(s, 9H)

10

Preparation 6-8)**2-[2-(2-tert-Butyl-benzyl)-3-oxo-2,3-dihydro-pyridazin-4-yl]-butyric acid ethyl ester**

- The compound of Preparation 6-6) (58 mg, 0.276 mmol) and the compound of Preparation 6-7) (81 mg, 1.3 eq) were reacted according to the same procedure as Preparation 2-1) to give 53 mg (54%) of the title compound.

¹H-NMR (500MHz, CDCl₃) δ 7.78(d, 1H), 7.42(d, 1H), 7.25(m, 1H), 7.18(d, 1H), 7.09(t, 1H), 6.82(d, 1H), 5.66(ABq, 2H), 4.21-4.10(m, 2H), 3.94(t, 1H), 2.03-1.80(two m, 2H), 1.49(s, 9H), 1.23(t, 3H), 0.97(t, 3H)

20

Preparation 6-9)**3-2-[2-(2-tert-Butyl-benzyl)-3-oxo-2,3-dihydro-pyridazin-4-yl]-butyrylamino-5-fluoro-4-oxo-pentanoic acid tert-butyl ester**

The compound of Preparation 6-8) (53mg, 0.149mmol) was reacted according to

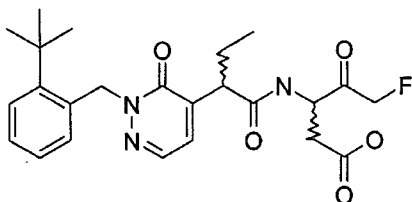
56

the same procedure as Preparation 3-5) to give 46mg (60%) of the title compound.

¹H-NMR (500MHz, CDCl₃) δ 7.84(two d, 1H), 7.52(m, 1H), 7.43(two s, 1H),
7.23-7.09(m, 2H), 7.08(two d, 1H), 5.71 & 5.66(two s, 2H), 5.21-4.70(m, 3H), 3.81(m,
1H), 2.91-2.58(m, 2H), 2.17(m, 1H), 1.72(m, 1H), 1.50(s, 9H), 1.40 & 1.36(two s, 9H),
5 0.97(m, 3H)

Example 6)

**3-2-[2-(2-tert-Butyl-benzyl)-3-oxo-2,3-dihydro-pyridazin-4-yl]-butyrylamino-
5-fluoro-4-oxo-pentanoic acid**



10

The compound of Preparation 6-9) (46 mg, 0.089 mmol) was reacted according to
the same procedure as Example 2) to give the title compound (29 mg, 71%).

¹H-NMR (500MHz, DMSO-*d*₆) δ 8.65-8.61(m, 1H), 7.93(q, 1H), 7.39-7.34(m,
2H), 7.14(t, 1H), 7.04(t, 1H), 6.67(m, 1H), 5.50(Ab q, 2H), 5.02(m, 2H), 4.58-4.48(m, 1H),
15 3.69(m, 1H), 2.63(m, 2H), 1.75-1.64(m, 2H), 1.40(s, 9H), 0.83(m, 3H)

Preparation 7-1)

1-Bromomethyl-3-tert-butyl-benzene

To 1-methyl-3-tert-butyl-benzene (551 mg, 3.72 mmol), NBS(730 mg, 1.1 eq) and
20 AIBN (14 mg, catalytic amount) was added CCl₄ (8 mL), which was then refluxed for 2 h.
The suspended particles were removed by filtration, and washed with CCl₄. The organic

57

layers were combined and concentrated under reduced pressure to give 860 mg of a yellow liquid (which was identified by NMR to contain about 15% dibromo derivative).

$^1\text{H-NMR}$ (500MHz, CDCl_3) δ 7.39-7.19(m, 4H), 4.51(s, 2H), 1.35(s, 9H)

5

Preparation 7-2)

2-[2-(3-tert-Butyl-benzyl)-3-oxo-2,3-dihydro-pyridazin-4-yl]-butyric acid ethyl ester

To a mixture of the compound of Preparation 6-6) (50 mg, 0.238 mmol) and Cs_2CO_3 (116 mg, 1.5 eq) were added DMF (3 mL) and 1-bromomethyl-3-tert-butyl-benzene of Preparation 7-1) (70 mg, 1.3 eq), which was then stirred for 2 h at 60°C under nitrogen atmosphere. The mixture was concentrated under reduced pressure, and the residue was extracted twice with ethyl acetate (50 mL). The extract was washed with saturated aqueous sodium hydrogen carbonate solution (NaHCO_3 , 30 mL x 2) and aqueous sodium chloride solution, dried (anhydrous Na_2SO_4), and concentrated under reduced pressure. The residue was separated by Prep-TLC (30% ethyl acetate-hexane) to give 57 mg (67%) of the title compound.

$^1\text{H-NMR}$ (500MHz, CDCl_3) δ 7.74(d, 1H), 7.43(s, 1H), 7.30-7.16(m, 4H), 5.32(ABq, 2H), 4.18-4.10(m, 2H), 3.88(t, 1H), 1.99-1.76(two m, 2H), 1.29(s, 9H), 1.20(t, 3H), 0.95(t, 3H)

20

Preparation 7-3)

3-2-[2-(3-tert-Butyl-benzyl)-3-oxo-2,3-dihydro-pyridazin-4-yl]-butyrylamino-5-fluoro-4-oxo-pentanoic acid tert-butyl ester

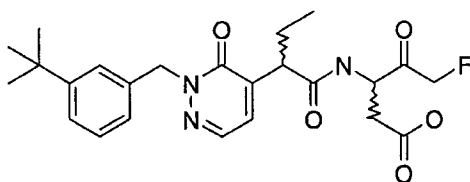
SB

The compound of Preparation 7-2) (56 mg, 0.157 mmol) was reacted according to the same procedure as Preparation 3-5) to give the title compound (49 mg, 60%).

¹H-NMR (500MHz, CDCl₃) δ 7.79(two d, 1H), 7.58(m, 1H), 7.42(two s, 1H), 7.32-7.14(m, 4H), 5.35-5.28(m, 2H), 5.21-4.68(m, 3H), 3.75(m, 1H), 2.91-2.58(m, 2H),
5 2.14(m, 1H), 1.69(m, 1H), 1.43 & 1.41(two s, 9H), 1.29(s, 9H), 0.95(m, 3H)

Example 7)

3-2-[2-(3-tert-Butyl-benzyl)-3-oxo-2,3-dihydro-pyridazin-4-yl]-butyrylamino-5-fluoro-4-oxo-pentanoic acid



10

The compound of Preparation 7-3) (48 mg, 0.0931 mmol) was reacted according to the same procedure as Example 2) to give the title compound (31 mg, 72%).

¹H-NMR (500MHz, DMSO-*d*₆) δ 8.65(m, 1H), 7.89(q, 1H), 7.31(t, 1H), 7.27(s, 1H), 7.26(m, 1H), 7.19(t, 1H), 7.00(m, 1H), 5.21(m, 2H), 5.20-4.67(m, 2H), 4.57-4.48(m, 1H), 3.68(m, 1H), 2.62(m, 2H), 1.73-1.63(m, 2H), 1.20(s, 9H), 0.83(m, 3H)
15

Preparation 8-1)

2-[2-(2-Methyl-benzyl)-3-oxo-2,3-dihydro-pyridazin-4-yl]-butyric acid ethyl ester

20 The compound of Preparation 6-6) (98 mg, 0.47 mmol) and 1-bromomethyl-2-methylbenzene (112 mg, 1.3 eq) were reacted according to the same

procedure as Preparation 2-1) to give the title compound (118 mg, 80%).

$^1\text{H-NMR}$ (500MHz, CDCl_3) δ 7.75(d, 1H), 7.20-7.13(m, 5H), 5.40-5.31(ABq, 2H), 4.20-4.10(m, 2H), 3.89(m, 1H), 2.40(s, 3H), 1.97(m, 1H), 1.82(m, 1H), 1.22(t, 3H), 0.96(t, 3H)

5

Preparation 8-2)

5-Fluoro-3-2-[2-(2-methyl-benzyl)-3-oxo-2,3-dihydro-pyridazin-4-yl]-butyryl amino-4-oxo-pentanoic acid tert-butyl ester

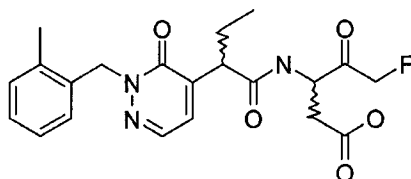
The compound of Preparation 8-1) (118 mg, 0.38 mmol) was reacted according to the same procedure as Preparation 3-5) to give the title compound (145 mg, 82%).

$^1\text{H-NMR}$ (500MHz, CDCl_3) δ 7.80(two d, 1H), 7.57(m, 1H), 7.20-7.13(m, 5H), 5.38-5.35(two s, 2H), 5.21-4.68(m, 3H), 3.77(m, 1H), 2.91-2.57(m, 2H), 2.42 & 2.41(two s, 3H), 2.15(m, 1H), 1.70(m, 1H), 1.43 & 1.39(two s, 9H), 0.95(m, 3H)

15

Example 8)

5-Fluoro-3-2-[2-(2-methyl-benzyl)-3-oxo-2,3-dihydro-pyridazin-4-yl]-butyryl amino-4-oxo-pentanoic acid



The compound of Preparation 8-2) (143 mg, 0.302 mmol) was reacted according to the same procedure as Example 2) to give the title compound (109 mg, 87%).

$^1\text{H-NMR}$ (500MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ 12.40(br s, 1H), 8.72-8.63(m, 1H), 7.88(m,

1H), 7.31(m, 1H), 7.14(m, 2H), 7.07(t, 1H), 6.94(t, 1H), 5.28-4.95(m, 4H), 4.58-4.48(m, 1H), 3.65(m, 1H), 2.69-2.47(m, 2H), 2.29(s, 3H), 1.73-1.64(m, 2H), 0.83(m, 3H)

Preparation 9-1)

5 **2-[2-(3-Methyl-benzyl)-3-oxo-2,3-dihydro-pyridazin-4-yl]-butyric acid ethyl ester**

The compound of Preparation 6-6) (103 mg, 0.49 mmol) and 1-bromomethyl-3-methylbenzene (118 mg, 1.3 eq) were reacted according to the same procedure as Preparation 2-1) to give the title compound (110 mg, 71%).

10 ¹H-NMR (500MHz, CDCl₃) δ 7.74(d, 1H), 7.22-7.08(m, 4H), 7.08(m, 1H), 5.33-5.24(ABq, 2H), 4.20-4.01(m, 2H), 3.88(m, 1H), 2.32(s, 3H), 1.95(m, 1H), 1.81(m, 1H), 1.21(t, 3H), 0.95(t, 3H)

Preparation 9-2)

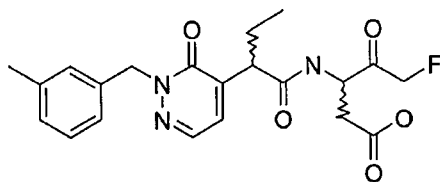
15 **5-Fluoro-3-2-[2-(3-methyl-benzyl)-3-oxo-2,3-dihydro-pyridazin-4-yl]-butyryl amino-4-oxo-pentanoic acid tert-butyl ester**

The compound of Preparation 9-1) (110 mg, 0.35 mmol) was reacted according to the same procedure as Preparation 3-5) to give the title compound (141 mg, 89%).

20 ¹H-NMR (500MHz, CDCl₃) δ 7.79(two d, 1H), 7.59(m, 1H), 7.22-7.08(m, 5H), 5.36-4.69(m, 5H), 3.75(m, 1H), 2.92-2.59(m, 2H), 2.32(two s, 3H), 2.15(m, 1H), 1.70(m, 1H), 1.44 & 1.41(two s, 9H), 0.95(m, 3H)

Example 9)

5-Fluoro-3-2-[2-(3-methyl-benzyl)-3-oxo-2,3-dihydro-pyridazin-4-yl]-butyryl

amino-4-oxo-pentanoic acid

The compound of Preparation 9-2) (137 mg, 0.289 mmol) was reacted according to the same procedure as Example 2) to give the title compound (104 mg, 86%).

5 $^1\text{H-NMR}$ (500MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ 12.41(br s, 1H), 8.72-8.64(m, 1H), 7.87(m, 1H), 7.29(s, 1H), 7.16(t, 1H), 7.05(m, 3H), 5.26-4.92(m, 4H), 4.58-4.47(m, 1H), 3.66(m, 1H), 2.69-2.47(m, 2H), 2.22(s, 3H), 1.73-1.63(m, 2H), 0.83(m, 3H)

Preparation 10-1)

10 **2-[2-(3-Methoxy-benzyl)-3-oxo-2,3-dihydro-pyridazin-4-yl]-butyric acid ethyl ester**

The compound of Preparation 6-6) (114 mg, 0.54 mmol) and 1-bromomethyl-3-methoxy-benzene (142 mg, 1.3 eq) were reacted according to the same procedure as Preparation 2-1) to give the title compound (145 mg, 81%).

15 $^1\text{H-NMR}$ (400MHz, CDCl_3) δ 7.79(d, 1H), 7.25(t, 1H), 7.22(d, 1H), 7.03(d, 1H), 7.00(s, 1H), 6.87(d, 1H), 5.40-5.30(ABq, 2H), 4.21-4.13(m, 2H), 3.93(t, 1H), 3.82(s, 3H), 1.98(m, 1H), 1.85(m, 1H), 1.26(t, 3H), 1.00(t, 3H)

Preparation 10-2)

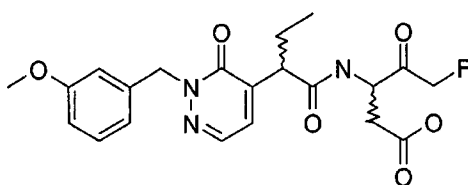
20 **5-Fluoro-3-2-[2-(3-methoxy-benzyl)-3-oxo-2,3-dihydro-pyridazin-4-yl]-butyrylamino-4-oxo-pentanoic acid tert-butyl ester**

The compound of Preparation 10-1) (145 mg, 0.44 mol) was reacted according to the same procedure as Preparation 3-5) to give the title compound (70 mg, 33%).

¹H-NMR (500MHz, CDCl₃) δ 7.79(two d, 1H), 7.58(m, 1H), 7.23(t, 1H), 7.15(two d, 1H), 7.00-6.90(m, 2H), 6.81(m, 1H), 5.32(m, 2H), 5.30-4.68(m, 3H), 3.77(s, 3H), 3.74(m, 1H), 2.92-2.58(m, 2H), 2.15(m, 1H), 1.68(m, 1H), 1.43 & 1.40(two s, 9H), 0.95(m, 3H)

Example 10)

5-Fluoro-3-2-[2-(3-methoxy-benzyl)-3-oxo-2,3-dihydro-pyridazin-4-yl]-butyrylamino-4-oxo-pentanoic acid



The compound of Preparation 10-2) (70 mg, 0.14 mmol) was reacted according to the same procedure as Example 2) to give the title compound (56 mg, 90%).

¹H-NMR (500MHz, DMSO-*d*₆) δ 8.64(br s, 1H), 7.88(m, 1H), 7.30(m, 1H), 7.19(m, 1H), 6.80-6.77(m, 3H), 5.41-4.80(m, 2H), 5.28-5.14(m, 2H), 4.57-4.49(m, 1H), 3.67(m, 3H), 3.65(m, 1H), 2.71-2.32(m, 2H), 1.74-1.63(m, 2H), 0.82(m, 3H)

Preparation 11-1)

2-(2-Naphthalen-1-ylmethyl-3-oxo-2,3-dihydro-pyridazin-4-yl)-butyric acid ethyl ester

The compound of Preparation 6-6) (98 mg, 0.47 mmol) and

1-chloromethyl-naphthalene (107 mg, 1.3 eq) were reacted according to the same procedure as Preparation 2-1) to give the title compound (81 mg, 50%).

¹H-NMR (500MHz, CDCl₃) δ 8.29 (d, 1H), 7.87-7.79(m, 2H), 7.73(d, 1H), 7.56-7.42(m, 4H), 7.16(d, 1H), 5.86-5.73(ABq, 2H), 4.20-4.10(m, 2H), 3.90(m, 1H), 1.97(m, 1H), 1.82(m, 1H), 1.20(t, 3H), 0.95(t, 3H)

Preparation 11-2)

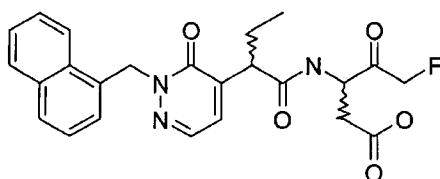
5-Fluoro-3-[2-(2-naphthalen-1-ylmethyl-3-oxo-2,3-dihydro-pyridazin-4-yl)-butyrylamino]-4-oxo-pentanoic acid tert-butyl ester

The compound of Preparation 11-1) (81 mg, 0.23 mmol) was reacted according to the same procedure as Preparation 3-5) to give the title compound (82 mg, 70%).

¹H-NMR (400MHz, CDCl₃) δ 8.32(two d, 1H), 7.91-7.81(m, 3H), 7.65-7.46(m, 5H), 7.19(m, 1H), 5.89-5.80(m, 2H), 5.28-4.75(m, 3H), 3.83(m, 1H), 2.96-2.65(m, 2H), 2.18(m, 1H), 1.75(m, 1H), 1.47 & 1.42(two s, 9H), 0.99(m, 3H)

Example 11)

5-Fluoro-3-[2-(2-naphthalen-1-ylmethyl-3-oxo-2,3-dihydro-pyridazin-4-yl)-butyrylamino]-4-oxo-pentanoic acid



The compound of Preparation 11-2) (82 mg, 0.16 mmol) was reacted according to the same procedure as Example 2) to give the title compound (57 mg, 78%).

¹H-NMR (500MHz, DMSO-*d*₆) δ 8.66(br s, 1H), 8.20(d, 1H), 7.93-7.84(m, 3H), 7.52(m, 2H), 7.42(m, 1H), 7.31(m, 1H), 7.26(m, 1H), 5.70(m, 2H), 5.43-4.80(m, 2H), 4.55-4.48(m, 1H), 3.72(m, 1H), 2.70-2.33(m, 2H), 1.75-1.65(m, 2H), 0.84(m, 3H)

5 **Preparation 12-1)**

2-(2-Naphthalen-2-ylmethyl-3-oxo-2,3-dihydro-pyridazin-4-yl)-butyric acid ethyl ester

The compound of Preparation 6-6) (97 mg, 0.46 mmol) and 2-bromomethyl-naphthalene (132 mg, 1.3 eq) were reacted according to the same procedure as Preparation 2-1) to give the title compound (91 mg, 57%).

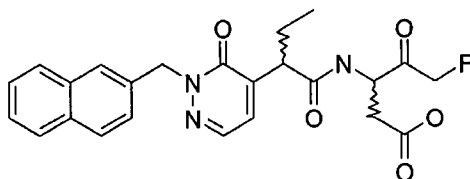
¹H-NMR (500MHz, CDCl₃) δ 7.88 (s, 1H), 7.83-7.78(m, 3H), 7.76(d, 1H), 7.56(d, 1H), 7.47-7.44(m, 2H), 7.18(d, 1H), 5.53-5.43(ABq, 2H), 4.20-4.10(m, 2H), 3.88(m, 1H), 1.95(m, 1H), 1.82(m, 1H), 1.19(t, 3H), 0.95(t, 3H)

15 **Preparation 12-2)**

5-Fluoro-3-[2-(2-naphthalen-2-ylmethyl-3-oxo-2,3-dihydro-pyridazin-4-yl)-butyrylamino]-4-oxo-pentanoic acid tert-butyl ester

The compound of Preparation 12-1) (91 mg, 0.26 mmol) was reacted according to the same procedure as Preparation 3-5) to give the title compound (83 mg, 63%).

20 ¹H-NMR (400MHz, CDCl₃) δ 7.91(d, 1H), 7.87-7.83(m, 4H), 7.66-7.56(m, 2H), 7.53-7.48(m, 2H), 7.20(t, 1H), 5.60-5.52(m, 2H), 5.28-4.75(m, 3H), 3.82(m, 1H), 2.94-2.65(m, 2H), 2.19(m, 1H), 1.74(m, 1H), 1.47 & 1.44(two s, 9H), 1.00(m, 3H)

Example 12)**5-Fluoro-3-[2-(2-naphthalen-2-ylmethyl-3-oxo-2,3-dihydro-pyridazin-4-yl)-butyrylamino]-4-oxo-pentanoic acid**

5 The compound of Preparation 12-2) (83 mg, 0.16 mmol) was reacted according to the same procedure as Example 2) to give the title compound (68 mg, 92%).

$^1\text{H-NMR}$ (500MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ 8.64(br s, 1H), 7.90(m, 1H), 7.85-7.83(m, 3H), 7.76(s, 1H), 7.46(m, 2H), 7.42(m, 1H), 7.31(m, 1H), 5.44-5.34(m, 2H), 5.31-4.73(m, 2H), 4.57-4.49(m, 1H), 3.69(m, 1H), 2.63-2.32(m, 2H), 1.75-1.63(m, 2H), 0.82(m, 3H)

10

Preparation 13-1)**(2-Methyl-oxazol-4-yl)-methanol**

To LiAlH_4 (304mg, 1.5 eq) was added anhydrous THF (20 mL). 2-Methyl-oxazole-4-carboxylic acid methyl ester (see *J. of Org. Chem.*, 2003, 68, p.4215-4234) dissolved in THF (20 mL) was added thereto at -78°C , and stirred for 1 h at the same temperature. The reaction was stopped by water. The reaction mixture was passed through celite, and extracted with ethyl acetate (50 mL x 3). The organic layer was washed with aqueous sodium chloride solution, distilled under reduced pressure, and separated by column chromatography (ethyl acetate) to give the title compound (308 mg, Yield: 51%) as a pale yellow solid.

20

$^1\text{H-NMR}$ (400MHz, CDCl_3) δ 7.48(s, 1H), 4.56(d, 2H), 2.45(s, 3H), 2.18(t, 1H)

66

Preparation 13-2)**4-Bromomethyl-2-methyl-oxazole**

The compound of Preparation 13-1) (307 mg, 2.71 mmol) was dissolved in
5 CH₂Cl₂ (20 mL), CBr₄ (1.17 g, 1.3 eq) and PPh₃ (1.07 g, 1.5 eq) were added thereto, and
the mixture was stirred for 3 h. The reaction mixture was dried under reduced pressure
and separated by column chromatography (25% ethyl acetate/hexane) to give the title
compound (139 mg, Yield: 29%) as a colorless liquid.

¹H-NMR (400MHz, CDCl₃) δ 7.58(s, 1H), 4.39(s, 2H), 2.50(s, 3H)

10

Preparation 13-3)**2-[2-(2-Methyl-oxazol-4-ylmethyl)-3-oxo-2,3-dihydro-pyridazin-4-yl]-butyric
acid ethyl ester**

The compound of Preparation 6-6) (160 mg, 0.761 mmol) and
15 4-bromomethyl-2-methyl-oxazole (139 mg, 1.3 eq) were reacted according to the same
procedure as Preparation 2-1) to give the title compound (159 mg, 69%).

¹H-NMR (500MHz, CDCl₃) δ 7.77(d, 1H), 7.56(s, 1H), 7.18(d, 1H), 5.19(ABq,
2H), 4.20-4.10(m, 2H), 3.86(t, 1H), 1.98-1.74(two m, 2H), 1.22(t, 3H), 0.94(t, 3H)

20

Preparation 13-4)**5-Fluoro-3-2-[2-(2-methyl-oxazol-4-ylmethyl)-3-oxo-2,3-dihydro-pyridazin-4-
yl]-butyrylamino-4-oxo-pentanoic acid tert-butyl ester**

The compound of Preparation 13-3) (155 mg, 0.508 mmol) was reacted according
to the same procedure as Preparation 3-5) to give the title compound (150 mg, 64%).

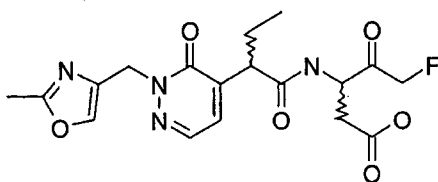
67

$^1\text{H-NMR}$ (500MHz, CDCl_3) δ 7.80(two d, 1H), 7.60-7.55(m, 2H), 7.15(m, 1H), 5.30-4.69(m, 5H), 3.75(m, 1H), 2.93-2.62(m, 2H), 2.39 & 2.37(two s, 3H), 2.12(m, 1H), 1.66(m, 1H), 1.41 & 1.38(two s, 9H), 0.92(m, 3H)

5

Example 13)

5-Fluoro-3-2-[2-(2-methyl-oxazol-4-ylmethyl)-3-oxo-2,3-dihydro-pyridazin-4-yl]-butyrylamino-4-oxo-pentanoic acid



The compound of Preparation 13-4) (150 mg, 0.323 mmol) was reacted according to the same procedure as Example 2) to give the title compound (113 mg, 86%).

$^1\text{H-NMR}$ (500MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 12.41(br s, 1H), 8.70-8.63(dd, 1H), 7.85(m, 1H), 7.78(m, 1H), 7.30(m, 1H), 5.24-4.97(m, 4H), 4.59-4.46(m, 1H), 3.63(m, 1H), 2.82-2.47(m, 2H), 2.30(s, 3H), 1.73-1.63(m, 2H), 0.83(m, 3H)

15

Preparation 14-1)

2-[2-(2-Methyl-thiazol-4-ylmethyl)-3-oxo-2,3-dihydro-pyridazin-4-yl]-butyric acid ethyl ester

The compound of Preparation 6-6) (98 mg, 0.47 mmol) and 4-bromomethyl-2-methyl-thiazole (112 mg, 1.3 eq, Lancaster) were reacted according to the same procedure as Preparation 2-1) to give the title compound (101 mg, 67%).

$^1\text{H-NMR}$ (500MHz, CDCl_3) δ 7.79(d, 1H), 7.20(d, 1H), 7.05(s, 1H),

5.45-5.37(ABq, 2H), 4.20-4.10(m, 2H), 3.88(t, 1H), 2.68 (s, 3H), 1.96 & 1.81(two m, 2H),
1.22(t, 3H), 0.95(t, 3H)

Preparation 14-2)

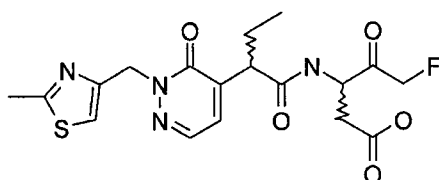
5 **5-Fluoro-3-2-[2-(2-methyl-thiazol-4-ylmethyl)-3-oxo-2,3-dihydro-pyridazin-4-yl]-butyrylamino-4-oxo-pentanoic acid tert-butyl ester**

The compound of Preparation 14-1) (101 mg, 0.31 mmol) was reacted according to the same procedure as Preparation 3-5) to give the title compound (32 mg, 21%).

¹H-NMR (500MHz, CDCl₃) δ 7.83(two d, 1H), 7.58(m, 2H), 7.20-7.03(m, 2H),
10 5.51-4.69(m, 5H), 3.75(m, 1H), 2.93-2.62(m, 2H), 2.64(m, 3H), 2.12(m, 1H), 1.66(m, 1H),
1.41 & 1.38(m, 9H), 0.94(m, 3H)

Example 14)

15 **5-Fluoro-3-2-[2-(2-methyl-thiazol-4-ylmethyl)-3-oxo-2,3-dihydro-pyridazin-4-yl]-butyrylamino-4-oxo-pentanoic acid**



The compound of Preparation 14-2) (32 mg, 0.066 mmol) was reacted according to the same procedure as Example 2) to give the title compound (16 mg, 58%).

¹H-NMR (500MHz, CDCl₃) δ 7.82(m, 1H), 7.80-7.76(dd, 1H), 7.25(s, 1H),
20 7.12(m, 1H), 6.07-6.91(m, 1H), 5.15-4.57(m, 4H), 3.90(m, 1H), 2.92-2.75(m, 2H), 2.67(s,
3H), 2.22-1.67(m, 2H), 0.97(m, 3H)

69

Preparation 15-1)

2-[2-(3,5-Dimethyl-isoxazol-4-ylmethyl)-3-oxo-2,3-dihydro-pyridazin-4-yl]-butyric acid ethyl ester

5 The compound of Preparation 6-6) (96 mg, 0.46 mmol) and 4-chloromethyl-3,5-dimethyl-isoxazole (86 mg, 1.3 eq, Aldrich) were reacted according to the same procedure as Preparation 2-1) to give the title compound (119 mg, 82%).

¹H-NMR (500MHz, CDCl₃) δ 7.71(d, 1H), 7.18(d, 1H), 5.10-5.02(ABq, 2H), 4.20-4.10(m, 2H), 3.85(t, 1H), 2.46(s, 3H), 2.32(s, 3H), 1.98-1.74(two m, 2H), 1.22(t, 3H),
10 0.95(t, 3H)

Preparation 15-2)

3-2-[2-(3,5-Dimethyl-isoxazol-4-ylmethyl)-3-oxo-2,3-dihydro-pyridazin-4-yl]-butyrylamino-5-fluoro-4-oxo-pentanoic acid tert-butyl ester

15 The compound of Preparation 15-1) (119 mg, 0.37 mmol) was reacted according to the same procedure as Preparation 3-5) to give the title compound (47 mg, 40%).

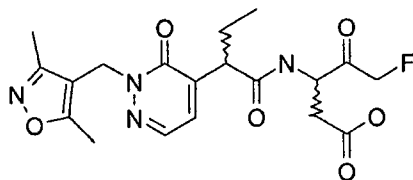
¹H-NMR (400MHz, CDCl₃) δ 7.79(two d, 1H), 7.48(m, 1H), 7.21(d, 2H), 5.30-4.79(m, 5H), 3.77(m, 1H), 2.97-2.69(m, 2H), 2.54(two s, 3H), 2.36(s, 1H), 2.16(m, 1H), 1.72(m, 1H), 1.47 & 1.42(two s, 9H), 0.99(m, 3H)

20

Example 15)

3-2-[2-(3,5-Dimethyl-isoxazol-4-ylmethyl)-3-oxo-2,3-dihydro-pyridazin-4-yl]-butyrylamino-5-fluoro-4-oxo-pentanoic acid

50



The compound of Preparation 15-2) (47 mg, 0.098 mmol) was reacted according to the same procedure as Example 2) to give the title compound (27 mg, 66%).

¹H-NMR (500MHz, DMSO-*d*₆) δ 8.64(br s, 1H), 7.86(dd, 1H), 7.28(m, 1H),
5 5.32-4.91(m, 2H), 5.08-4.96(m, 2H), 4.56-4.47(m, 1H), 3.66(m, 1H), 2.63-2.32(m, 2H),
2.37(s, 3H), 2.16(s, 3H), 1.72-1.63(m, 2H), 0.82(m, 3H)

Preparation 16-1)

2-(2-Cyclohexylmethyl-3-oxo-2,3-dihydro-pyridazin-4-yl)-butyric acid ethyl
10 ester

The compound of Preparation 6-6) (101 mg, 0.48 mmol) and bromomethyl-cyclohexane (111 mg, 1.3 eq, Aldrich) were reacted according to the same procedure as Preparation 2-1) to give the title compound (82 mg, 56%).

¹H-NMR (500MHz, CDCl₃) δ 7.71(d, 1H), 7.16(d, 1H), 4.20-4.10(m, 2H),
15 4.14-3.94(m, 2H), 3.86(t, 1H), 1.98-1.74(two m, 2H), 1.72-1.60(broad m, 5H), 1.23(t, 3H),
1.20-1.16(broad m, 3H), 1.05-1.00(m, 2H), 0.96(t, 3H)

Preparation 16-2)

3-[2-(2-Cyclohexylmethyl-3-oxo-2,3-dihydro-pyridazin-4-yl)-butyrylamino]-5
20 -fluoro-4-oxo-pentanoic acid tert-butyl ester

The compound of Preparation 16-1) (80 mg, 0.26 mmol) was reacted according to

31

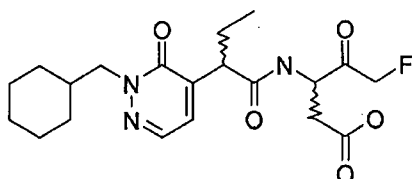
the same procedure as Preparation 3-5) to give the title compound (106 mg, 88%).

$^1\text{H-NMR}$ (500MHz, CDCl_3) δ 7.77(m, 1H), 7.64(m, 1H), 7.14(m, 1H), 5.29-4.72(m, 3H), 4.10-3.98(m, 2H), 3.76(m, 1H), 2.94-2.62(m, 2H), 2.15(m, 1H), 1.94(m, 1H), 1.72-1.60(broad m, 5H), 1.43 & 1.41(two s, 9H), 1.23-1.00(m, 5H), 0.96(m, 3H)

5

Example 16)

3-[2-(2-Cyclohexylmethyl-3-oxo-2,3-dihydro-pyridazin-4-yl)-butyrylamino]-5-fluoro-4-oxo-pentanoic acid



10 The compound of Preparation 16-2) (106 mg, 0.23 mmol) was reacted according to the same procedure as Example 2) to give the title compound (71 mg, 76%).

$^1\text{H-NMR}$ (500MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 8.65(br s, 1H), 7.83(m, 1H), 7.26(m, 1H), 5.35-4.88(m, 2H), 4.57-4.48(m, 1H), 3.97-3.82(m, 2H), 3.63(m, 1H), 2.66-2.47(m, 2H), 1.79(m, 1H), 1.73(m, 1H), 1.61(m, 3H), 1.55(m, 1H), 1.49(m, 2H), 1.10(m, 3H), 0.95(m, 2H), 0.82(m, 3H)

15

Preparation 17-1)

1-Bromomethyl-isoquinoline

To 1-methylisoquinoline (0.99 g, 6.91 mmol), NBS (1.35 g, 1.1 eq) and AIBN(10 mg, catalytic amount) was added CCl_4 (15 mL), which was then refluxed for 2 h. The suspended particles were removed by filtration, and washed with CCl_4 . The organic

20

72

layers were combined, concentrated under reduced pressure, and separated by column chromatography (30%, ethyl acetate/hexane) to give the title compound (270 mg, Yield: 18%) as a violet solid.

¹H-NMR (500MHz, CDCl₃) δ 8.48(d, 1H), 8.25(d, 1H), 7.87(d, 1H),
5 7.75-7.67(two t, 2H), 7.65(d, 1H)

Preparation 17-2)

2-(2-Isoquinolin-1-ylmethyl-3-oxo-2,3-dihydro-pyridazin-4-yl)-butyric acid ethyl ester

10 The compound of Preparation 6-6) (110 mg, 0.52 mmol) and 1-bromomethyl-isoquinoline (151 mg, 1.3 eq) obtained in Preparation 17-1) were reacted according to the same procedure as Preparation 2-1) to give the title compound (135 mg, 73%).

¹H-NMR (500MHz, CDCl₃) δ 8.42(d, 1H), 8.26(d, 1H), 7.82(d, 1H), 7.77(d, 1H),
15 7.60(t, 1H), 7.57(d, 1H), 7.22(d, 1H), 6.06-5.91(ABq, 2H), 4.21-4.10(m, 2H), 3.91(t, 1H), 2.01-1.78(two m, 2H), 1.21(t, 3H), 0.96(t, 3H)

Preparation 17-3)

5-Fluoro-3-[2-(2-isoquinolin-1-ylmethyl-3-oxo-2,3-dihydro-pyridazin-4-yl)-butyrylamino]-4-oxo-pentanoic acid tert-butyl ester
20

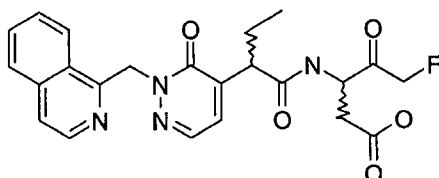
The compound of Preparation 17-2) (130 mg, 0.37 mmol) was reacted according to the same procedure as Preparation 3-5) to give the title compound (150 mg, 79%).

¹H-NMR (500MHz, CDCl₃) δ 8.39(d, 1H), 8.27(d, 1H), 7.88-7.80(m, 2H),

7.73-7.56(m, 3H), 7.22(m, 1H), 6.12-5.95(m, 2H), 5.23-4.68(m, 3H), 3.80(m, 1H),
2.92-2.58(m, 2H), 2.19(m, 1H), 1.75(m, 1H), 1.34(m, 9H), 0.96(m, 3H)

Example 17)

5 **5-Fluoro-3-[2-(2-isoquinolin-1-ylmethyl-3-oxo-2,3-dihydro-pyridazin-4-yl)-butyrylamino]-4-oxo-pentanoic acid**



The compound of Preparation 17-3) (150 mg, 0.29 mmol) was reacted according to the same procedure as Example 2) to give the title compound (123 mg, 92%).

10 ¹H-NMR (500MHz, DMSO-*d*₆) δ 12.42(br s, 1H), 8.74-8.64(dd, 1H), 8.28(m, 2H), 7.98(d, 1H), 7.87(m, 1H), 7.79(m, 1H), 7.72-7.65(m, 2H), 7.37(m, 1H), 5.92(m, 2H), 5.22-5.00(m, 2H), 4.60-4.48(m, 1H), 3.67(m, 1H), 2.74-2.54(m, 2H), 1.77-1.65(m, 2H), 0.84(m, 3H)

15 **Preparation 18-1)**

2-[2-(2-Chloro-benzyl)-3-oxo-2,3-dihydro-pyridazin-4-yl]-butyric acid ethyl ester

The compound of Preparation 6-6) (100mg, 0.476mmol) and 1-bromomethyl-2-chlorobenzene (127 mg, 1.3 eq, Aldrich) were reacted according to the same procedure as Preparation 2-1) to give the title compound (92 mg, 58%).

¹H-NMR (500MHz, CDCl₃) δ 7.77(d, 1H), 7.37(d, 1H), 7.23-7.16(m, 3H),

7.07(d, 1H), 5.51-5.43(ABq, 2H), 4.21-4.10(m, 2H), 3.90(t, 1H), 2.02-1.79(two m, 2H), 1.22(t, 3H), 0.96(t, 3H)

Preparation 18-2)

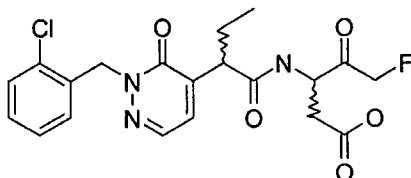
5 **3-{2-[2-(2-Chloro-benzyl)-3-oxo-2,3-dihydro-pyridazin-4-yl]-butyrylamino}-5-fluoro-4-oxo-pentanoic acid tert-butyl ester**

The compound of Preparation 18-1) (92 mg, 0.275 mmol) was reacted according to the same procedure as Preparation 3-5) to give the title compound (113 mg, 83%).

¹H-NMR (500MHz, CDCl₃) δ 7.82(two d, 1H), 7.54(m, 1H), 7.38(m, 1H),
10 7.24-7.18 (m, 3H), 7.09-7.02(m, 1H), 5.54-5.44(m, 2H), 5.21-4.71(m, 3H), 3.79(m, 1H), 2.90-2.56(m, 2H), 2.16(m, 1H), 1.73(m, 1H), 1.41 & 1.38(two d, 9H), 0.96(m, 3H)

Example 18)

15 **3-{2-[2-(2-Chloro-benzyl)-3-oxo-2,3-dihydro-pyridazin-4-yl]-butyrylamino}-5-fluoro-4-oxo-pentanoic acid**



The compound of Preparation 18-2) (103 mg, 0.29 mmol) was reacted according to the same procedure as Example 2) to give the title compound (74 mg, 81%).

¹H-NMR (500MHz, DMSO-*d*₆) δ 8.63(br, 1H), 7.91(m, 1H), 7.45-7.25(m, 4H),
20 7.00(m, 1H), 5.32(m, 2H), 5.30-4.60(br, 2H), 4.57 & 4.50(two br m, 1H), 3.69(m, 1H), 2.70-2.50(br, 2H), 1.77-1.65(m, 2H), 0.84(m, 3H)

75

Preparation 19-1)

2-[2-(3-Chloro-benzyl)-3-oxo-2,3-dihydro-pyridazin-4-yl]-butyric acid ethyl ester

5 The compound of Preparation 6-6) (98 mg, 0.466 mmol) and 1-bromomethyl-3-chlorobenzene (127 mg, 1.3 eq, Aldrich) were reacted according to the same procedure as Preparation 2-1) to give the title compound (115 mg, 74%).

¹H-NMR (500MHz, CDCl₃) δ 7.74(d, 1H), 7.38(s, 1H), 7.28-7.21(m, 3H), 7.18(d, 1H), 5.32-5.22(ABq, 2H), 4.21-4.10(m, 2H), 3.84(t, 1H), 1.99-1.75(two m, 2H),
10 1.20(t, 3H), 0.94(t, 3H)

Preparation 19-2)

3-{2-[2-(3-Chloro-benzyl)-3-oxo-2,3-dihydro-pyridazin-4-yl]-butyrylamino}-5-fluoro-4-oxo-pentanoic acid tert-butyl ester

15 The compound of Preparation 19-1) (115 mg, 0.343 mmol) was reacted according to the same procedure as Preparation 3-5) to give the title compound (130 mg, 77%).

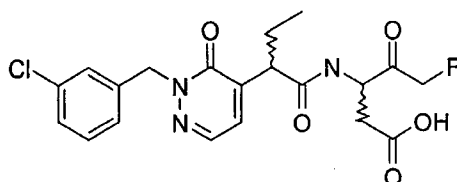
¹H-NMR (500MHz, CDCl₃) δ 7.80(m, 1H), 7.54(d, 1H), 7.38(d, 1H), 7.30-7.23(m, 3H), 7.18(m, 1H), 5.31-5.25(m, 2H), 5.21-4.71(m, 3H), 3.76(m, 1H), 2.91-2.62(m, 2H), 2.14(m, 1H), 1.69(m, 1H), 1.43 & 1.39(two d, 9H), 0.96(m, 3H)

20

Example 19)

3-{2-[2-(3-Chloro-benzyl)-3-oxo-2,3-dihydro-pyridazin-4-yl]-butyrylamino}-5-fluoro-4-oxo-pentanoic acid

7b



The compound of Preparation 19-2) (120 mg, 0.243 mmol) was reacted according to the same procedure as Example 2) to give the title compound (87 mg, 82%).

¹H-NMR (500MHz, DMSO-*d*₆) δ 8.62(br, 1H), 7.89(m, 1H), 7.32-7.30(m, 4H),
5 7.20(m, 1H), 5.28-5.18(m, 2H), 5.20-4.60(br, 2H), 4.58 & 4.50(two br m, 1H), 3.66(m,
1H), 2.70-2.50(br, 2H), 1.77-1.58(m, 2H), 0.84(m, 3H)

Preparation 20-1)

2-[2-(3-Bromo-benzyl)-3-oxo-2,3-dihydro-pyridazin-4-yl]-butyric acid ethyl
10 ester

The compound of Preparation 6-6) (100 mg, 0.48 mmol) and 1-bromo-3-bromomethylbenzene (154 mg, 1.3 eq, Aldrich) were reacted according to the same procedure as Preparation 2-1) to give the title compound (102 mg, 54%).

¹H NMR (500MHz, CDCl₃); δ 0.95(t, 3H), 0.96(t, 3H), 1.78-1.95(m, 2H), 3.85(t,
15 1H), 4.15(m, 2H), 5.27(q, 2H), 7.17-7.45(m, 5H), 7.54(s, 1H), 7.75(d, 1H)

Preparation 20-2)

3-{2-[2-(3-Bromo-benzyl)-3-oxo-2,3-dihydro-pyridazin-4-yl]-butyrylamino}-5
-fluoro-4-oxo-pentanoic acid tert-butyl ester

20 The compound of Preparation 20-1) (100 mg, 0.254 mmol) was reacted according to the same procedure as Preparation 3-5) to give the title compound (120 mg, 88%).

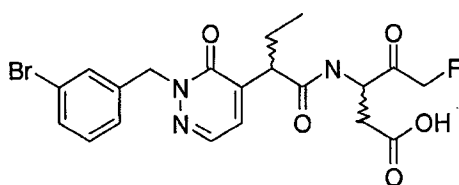
77

¹H NMR (500MHz, CDCl₃); δ 0.96(m, 3H), 1.41(d, 9H), 1.69(m, 1H), 2.13(m, 1H), 2.60-2.91(m, 2H), 3.76(m, 1H), 4.77(m, 1H), 5.01(m, 2H), 5.29(m, 2H), 7.18(m, 2H), 7.30-7.45(m, 2H), 7.52(m, 2H), 7.80(m, 1H)

5

Example 20)

3-{2-[2-(3-Bromo-benzyl)-3-oxo-2,3-dihydro-pyridazin-4-yl]-butyrylamino}-5-fluoro-4-oxo-pentanoic acid



The compound of Preparation 20-2) (80 mg, 0.15 mmol) was reacted according to the same procedure as Example 2) to give the title compound (59 mg, 81%).

¹H NMR (500MHz, CDCl₃); δ 0.96(m, 3H), 1.68(m, 1H), 2.06(m, 1H), 2.50-3.16(m, 2H), 3.84(m, 1H), 4.77(m, 3H), 5.29(m, 2H), 7.19-7.52(m, 6H), 7.91(m, 1H)

Preparation 21-1)

15

2-[3-Oxo-2-(2-trifluoromethyl-benzyl)-2,3-dihydro-pyridazin-4-yl]-butyric acid ethyl ester

The compound of Preparation 6-6) (104 mg, 0.50 mmol), DIAD(diisopropyl azodicarboxylate, 151 mg, 1.5 eq), (2-trifluoromethyl-phenyl)-methanol (131 mg, 1.5 eq) and triphenylphosphine (261 mg, 2.0 eq) were dissolved in THF (6 mL), and stirred for 2 h at room temperature. The mixture was concentrated under reduced pressure and separated by column chromatography (30% EA/Hexane) to give the title compound (125

78

mg, 68%).

$^1\text{H-NMR}$ (500MHz, CDCl_3) δ 7.79(d, 1H), 7.67(d, 1H), 7.44(t, 1H), 7.36(t, 1H), 7.26(d, 1H), 6.97(d, 1H), 5.62-5.54(ABq, 2H), 4.21-4.12(m, 2H), 3.90(t, 1H), 2.03-1.81(two m, 2H), 1.22(t, 3H), 0.97(t, 3H)

5

Preparation 21-2)

5-Fluoro-4-oxo-3-{2-[3-oxo-2-(2-trifluoromethyl-benzyl)-2,3-dihydro-pyridazin-4-yl]-butyrylamino}-pentanoic acid tert-butyl ester

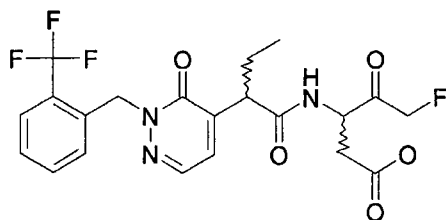
The compound of Preparation 21-1) (125 mg, 0.34 mmol) was reacted according to the same procedure as Preparation 3-5) to give the title compound (48 mg, 27%).

$^1\text{H-NMR}$ (500MHz, CDCl_3) δ 7.83(two d, 1H), 7.68(m, 1H), 7.51-7.44(m, 2H), 7.36(d, 1H), 7.23(d, 1H), 7.00-6.92(two d, 1H), 5.69-5.51(m, 2H), 5.21-4.73(m, 3H), 3.78(m, 1H), 2.90-2.58(m, 2H), 2.16(m, 1H), 1.75(m, 1H), 1.37(m, 9H), 0.96(m, 3H)

15

Example 21)

5-Fluoro-4-oxo-3-{2-[3-oxo-2-(2-trifluoromethyl-benzyl)-2,3-dihydro-pyridazin-4-yl]-butyrylamino}-pentanoic acid



The compound of Preparation 21-2) (48 mg, 0.092 mmol) was reacted according to the same procedure as Example 2) to give the title compound (37 mg, 86%).

$^1\text{H-NMR}$ (500MHz, CDCl_3) δ 7.92(dd, 1H), 7.70(d, 1H), 7.60(bs, 1H), 7.45(t, 1H),

7.39(t, 1H), 7.35(m, 1H), 6.95(d, 1H), 5.64-5.51(m, 2H), 4.77-4.35(m, 3H), 3.84(m, 1H),
3.06-2.90(m, 1H), 2.68-2.58(m, 1H), 2.12(m, 1H), 1.74(m, 1H), 0.97(t, 3H)

Preparation 22-1)

5 **2-[3-Oxo-2-(3-trifluoromethyl-benzyl)-2,3-dihydro-pyridazin-4-yl]-butyric
acid ethyl ester**

The compound of Preparation 6-6) (100 mg, 0.48 mmol), DIAD(diisopropyl
azodicarboxylate, 192 mg, 2.0 eq), (3-trifluoromethyl-phenyl)-methanol (168 mg, 2.0 eq)
and triphenylphosphine (312 mg, 2.5 eq) were dissolved in THF (6 mL), and stirred for 2
10 h at room temperature. The mixture was concentrated under reduced pressure and
separated by column chromatography (30% EA/Hexane) to give the title compound (158
mg, 90%).

¹H-NMR (500MHz, CDCl₃) δ 7.76(d, 1H), 7.65(s, 1H), 7.60(d, 1H), 7.53(d, 1H),
7.43(t, 1H), 7.20(d, 1H), 5.40-5.30(ABq, 2H), 4.20-4.08(m, 2H), 3.85(t, 1H),
15 2.01-1.76(two m, 2H), 1.19(t, 3H), 0.94(t, 3H)

Preparation 22-2)

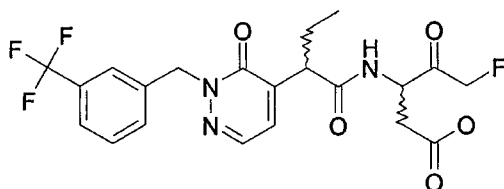
**5-Fluoro-4-oxo-3-{2-[3-oxo-2-(3-trifluoromethyl-benzyl)-2,3-dihydro-pyridazi
n-4-yl]-butyrylamino}-pentanoic acid tert-butyl ester**

20 The compound of Preparation 22-1) (157 mg, 0.43 mmol) was reacted according
to the same procedure as Preparation 3-5) to give the title compound (93 mg, 41%).

¹H-NMR (500MHz, CDCl₃) δ 7.80(two d, 1H), 7.65(two s, 1H), 7.60(m,
1H), 7.52(m, 2H), 7.44(m, 1H), 7.18(two d, 1H), 5.42-5.33(m, 2H), 5.18-4.71(m, 3H),
3.74(m, 1H), 2.90-2.60(m, 2H), 2.12(m, 1H), 1.68(m, 1H), 1.42 & 1.38(two s, 9H),

30

0.94(m, 3H)

Example 22)**5-Fluoro-4-oxo-3-{2-[3-oxo-2-(3-trifluoromethyl-benzyl)-2,3-dihydro-pyridazi**5 **n-4-yl]-butyrylamino}-pentanoic acid**

The compound of Preparation 22-2) (93 mg, 0.18 mmol) was reacted according to the same procedure as Example 2) to give the title compound (75 mg, 90%).

¹H-NMR (500MHz, CDCl₃) δ 7.90(dd, 1H), 7.65(s, 1H), 7.57(m, 2H), 7.45(t, 1H), 7.32(m, 1H), 5.37(m, 2H), 4.86-4.35(m, 3H), 3.84-3.96(m, 1H), 3.13-2.92(m, 1H), 2.70-2.59(m, 1H), 2.08(m, 1H), 1.69(m, 1H), 0.96(t, 3H)

Preparation 23-1)**(3S)-3-[[[(benzyloxy)carbonyl]amino]-5-(tert-butoxy)-2-hydroxy-5-oxopentyl**15 **2,6-dichlorobenzoate**

To N-benzyloxycarbonyl-β-t-butyl-aspartic acid (5.03 g, 15.6 mmol) and NMM (1.90 mL, 17.1 mmol) was added anhydrous tetrahydrofuran (60 mL) under nitrogen atmosphere, which was maintained at -15°C. Isobutylchloroformate (2.12 mL, 16.3 mmol) was added, and the mixture was stirred for about 20 min. To the reaction mixture maintained at 0°C was added diazomethane-ether solution (synthesized from 2.0 eq of 1-methyl-3-nitro-1-nitroso-guanidine, 60 mL), which was then stirred for 30 min at 0°C to

81

give the diazoketone derivative. 30% HBr/AcOH (6.42 mL, 2.0 eq) was added thereto at 0°C, and stirred for 30 min. The reaction mixture was extracted with ethyl acetate, washed with water, twice with saturated aqueous sodium hydrogen carbonate solution, and aqueous sodium chloride solution, dried (anhydrous Na₂SO₄), and concentrated under reduced pressure to give the bromomethylketone derivative (6.4 g).

The bromomethylketone derivative (4.36 g) and 2,6-dichlorobenzoic acid (2.28 g, 1.1 eq) were dissolved in dimethylformamide (18 mL), KF (1.58 g, 2.5 eq) was added thereto, and the mixture was stirred for 2 h at room temperature. The residue obtained by concentration under reduced pressure was extracted with ethyl acetate, washed with water, twice with saturated aqueous sodium hydrogen carbonate solution, and aqueous sodium chloride solution, dried (anhydrous Na₂SO₄), and concentrated under reduced pressure to give the 2,6-dichlorobenzoxymethylketone derivative. This compound was dissolved in methanol (20 mL), and reacted by adding NaBH₄ (412 mg)-methanol solution (40 mL). The reaction mixture was slowly warmed to room temperature for 2 h. The reaction was stopped by acetic acid. The reaction mixture was distilled under reduced pressure to remove methanol, extracted with ethyl acetate (50 mL x 2), washed with water and aqueous sodium chloride solution, dried (anhydrous Na₂SO₄), concentrated under reduced pressure, and separated by column chromatography (ethyl acetate-hexane, 1:5) to give 4.80 g (86%) of the title compound.

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)

Preparation 23-2)

(3S)-3-amino-5-(*tert*-butoxy)-2-hydroxy-5-oxopentyl 2,6-dichlorobenzoate

82

The compound of Preparation 23-1) (4.80 g, 9.37 mmol) was dissolved in EtOH, and subjected to debenzoyloxycarbonylation (Pd/C) under hydrogen balloon for 40 min to give 3.47 g (98%) of the title compound.

¹H-NMR (400 MHz, DMSO-d) δ 8.2(br, 2H), 7.6-7.5(m, 3H), 6.1(m, 1H),
5 4.4-3.9(m, 3H), 3.0-2.6(m, 2H), 1.4(s, 9H)

Preparation 23-3)

2,6-Dichloro-benzoic

acid

(S)-4-tert-butoxycarbonyl-3-{2-[2-(2-tert-butyl-benzyl)-3-oxo-2,3-dihydro-pyridazin-
10 4-yl]-butyrylamino}-2-oxo-butyl ester

The compound of Preparation 6-8) was hydrolyzed according to the same procedure as Preparation 2-3) to give the carboxylic acid derivative. A mixture of this carboxylic acid derivative (100 mg, 0.304 mmol), the compound of Preparation 23-2) (151 mg, 1.2 eq) and HATU (337 mg, 1.3 eq) was cooled to 0°C, triethylamine (0.17 mL, 4.0
15 eq) was added thereto in DMF solvent (4 mL), and the mixture was reacted for 1 h. The solvent was distilled under reduced pressure. The residue was extracted with ethyl acetate (30 mL x 2), washed with water, aqueous sodium hydrogen carbonate solution and aqueous sodium chloride solution, dried (anhydrous Na₂SO₄), and concentrated under
reduced pressure to give 2,6-dichloro-benzoic acid
20 (S)-4-tert-butoxycarbonyl-3-{2-[2-(2-tert-butyl-benzyl)-3-oxo-2,3-dihydro-pyridazin-4-yl]-butyrylamino}-2-hydroxy-butyl ester. To this compound and Dess-Martin reagent (260 mg, 2.0 eq) was added anhydrous dichloromethane (4 mL), which was then stirred for 0.5 h at room temperature. The reaction was stopped by isopropyl alcohol (1 mL). The solid was removed by celite filtration under reduced pressure, and extracted with ethyl

83

acetate (20 mL x 2). The extract was washed with water, saturated aqueous sodium hydrogen carbonate solution and aqueous sodium chloride solution, dried (anhydrous Na₂SO₄), and concentrated under reduced pressure. The residue was separated by column chromatography (20-25% ethyl acetate-hexane) to give 163 mg (78%) of the title compound.

¹H-NMR (500MHz, CDCl₃) δ 7.84 (m, 1H), 7.62(m, 1H), 7.43(t, 1H), 7.34-7.25(m, 4H), 7.16(m, 1H), 7.06(t, 1H), 6.83-6.74(two d, 1H), 5.86-5.52(m, 2H), 5.22-4.81(m, 3H), 3.86(m, 1H), 2.89-2.62(m, 2H), 2.02(m, 1H), 1.75 (m, 1H), 1.49 & 1.48(two s, 9H), 1.41 & 1.37(two s, 9H), 0.99(m, 3H)

Example 23-1) and 23-2)

2,6-Dichloro-benzoic

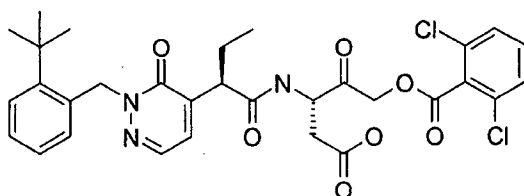
acid

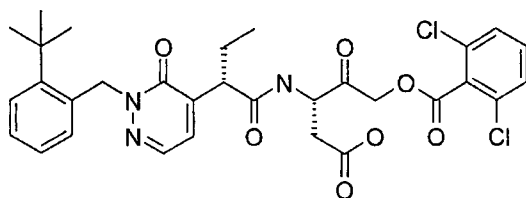
(S)-3-{(R)-2-[2-(2-tert-butyl-benzyl)-3-oxo-2,3-dihydro-pyridazin-4-yl]-butyrylamino}-4-carboxy-2-oxo-butyl ester and

2,6-Dichloro-benzoic

acid

(S)-3-{(S)-2-[2-(2-tert-butyl-benzyl)-3-oxo-2,3-dihydro-pyridazin-4-yl]-butyrylamino}-4-carboxy-2-oxo-butyl ester





The compound of Preparation 23-3) (159 mg, 0.29 mmol) was reacted according to the same procedure as Example 2) to give the title compound as a mixture of two diastereomers, which was then separated by Prep-TLC (70% EtOAc/Hexane) to give 62 mg (42%) and 50 mg (34%) of each diastereomer. The compound with lower polarity on TLC was assigned as Example 23-1 and the compound with higher polarity as Example 23-2, but their specific diastereomer forms were not identified.

Compound with lower polarity: $^1\text{H-NMR}$ (500MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ 8.78(br, 1H), 7.93(m, 1H), 7.56-7.52(m, 3H), 7.40(m, 1H), 7.34(t, 1H), 7.11(m, 1H), 7.05(m, 1H), 6.67(d, 1H), 5.58-5.42(ABq, 2H), 5.30-4.60(br m, 3H), 4.58 & 4.50(two br m, 1H), 3.72(m, 1H), 2.70-2.50(br, 2H), 1.82-1.63(m, 2H), 1.40(m, 9H), 0.85(m, 3H) (Example 23-1)

Compound with higher polarity: $^1\text{H-NMR}$ (500MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ 8.74(br, 1H), 7.93(m, 1H), 7.57-7.51(m, 3H), 7.40(d, 1H), 7.34(d, 1H), 7.11(m, 1H), 7.02(m, 1H), 6.67(d, 1H), 5.56-5.43(ABq, 2H), 5.26-5.00(br m, 2H), 4.72(m, 1H), 3.70(m, 1H), 2.76-2.50(br, 2H), 1.82-1.63(m, 2H), 1.38(s, 9H), 0.85(t, 3H) (Example 23-2)

Preparation 24-1)

tert-butyl (3*S*)-3-amino-4-hydroxy-5-(2,3,5,6-tetrafluorophenoxy)pentanoate

N-benzyloxycarbonyl- β -*t*-butyl-aspartic acid (17.9 g, 55.5 mmol) and 2,3,5,6-tetrafluorophenol were reacted according to the same procedure as Preparation

23-1) and 23-2) to give 13.2 g (68%) of the title compound.

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, 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)

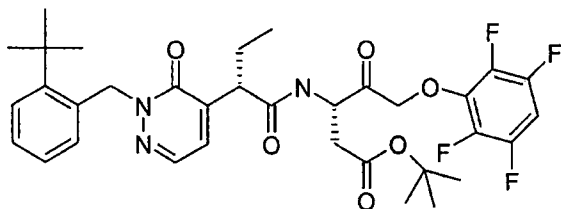
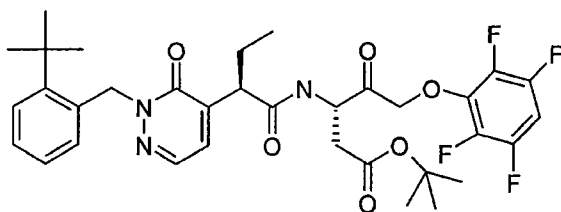
5

Preparation 24-2)

(S)-3-[(R)-2-[2-(2-tert-Butyl-benzyl)-3-oxo-2,3-dihydro-pyridazin-4-yl]-butyrylamino]-4-oxo-5-(2,3,5,6-tetrafluoro-phenoxy)-pentanoic acid tert-butyl ester and;

(S)-3-[(S)-2-[2-(2-tert-Butyl-benzyl)-3-oxo-2,3-dihydro-pyridazin-4-yl]-butyrylamino]-4-oxo-5-(2,3,5,6-tetrafluoro-phenoxy)-pentanoic acid tert-butyl ester

10



15

The compound of Preparation 6-8) (104 mg, 0.29 mol) was hydrolyzed according to the same procedure as Preparation 2-3) to give the carboxylic acid derivative. A mixture of this carboxylic acid derivative (95 mg, 0.29 mmol), the compound of Preparation 24-1) (113 mg, 1.2 eq) and HATU (143 mg, 1.3 eq) was cooled to 0°C, triethylamine (0.16 mL, 4.0 eq) was added thereto in DMF solvent (5 mL), and the mixture was reacted for 2 h. The solvent was distilled under reduced pressure. The residue was extracted with ethyl acetate (30 mL x 2), washed with water, aqueous sodium

86

hydrogen carbonate solution and aqueous sodium chloride solution, dried (anhydrous Na₂SO₄), concentrated under reduced pressure, and preliminarily purified by Prep-TLC (500% EA/Hexane) to give 172 mg (89%) of (S)-3-{2-[2-(2-tert-butyl-benzyl)-3-oxo-2,3-dihydro-pyridazin-4-yl]-butyrylamino}-4-hydroxy-5-(2,3,5,6-tetrafluoro-phenoxy)-pentanoic acid tert-butyl ester. To this compound and Dess-Martin reagent (220 mg, 2.0 eq) was added anhydrous dichloromethane (4 mL), which was then stirred for 1 h at room temperature. The reaction was stopped by isopropyl alcohol (1 mL). The solid was removed by celite filtration under reduced pressure, and extracted with ethyl acetate (20 mL x 2). The extract was washed with water, saturated aqueous sodium hydrogen carbonate solution and aqueous sodium chloride solution, dried (anhydrous Na₂SO₄), and concentrated under reduced pressure. The residue was purified by Prep-TLC (30% EA/Hexane) to give 74 mg (38%) of the title diastereomer with lower polarity and 67 mg (35%) with higher polarity.

Diastereomer with lower polarity:

¹H-NMR (500MHz, CDCl₃) δ 7.83(d, 1H), 7.59(d, 1H), 7.42(d, 1H), 7.22(d, 1H), 7.17(t, 1H), 7.06(t, 1H), 6.76(m, 1H), 6.73(d, 1H), 5.65(Abq, 2H), 5.19-5.02(Abq, 2H), 4.75(m, 1H), 3.81(dd, 1H), 2.76(dd, 1H), 2.59(dd, 1H), 2.19(m, 1H), 1.73(m, 1H), 1.48(s, 9H), 1.34(s, 9H), 0.98(t, 3H)

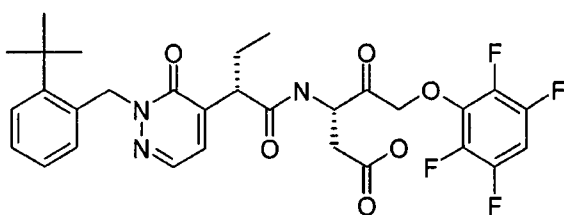
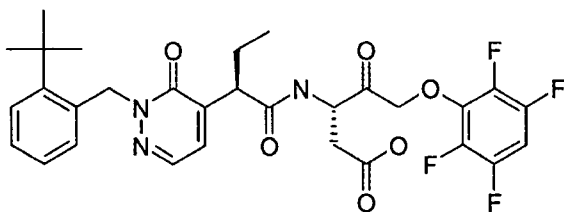
Diastereomer with higher polarity:

¹H-NMR (500MHz, CDCl₃) δ 7.83(d, 1H), 7.61(d, 1H), 7.39(d, 1H), 7.23(d, 1H), 7.14(t, 1H), 7.05(t, 1H), 6.78(d, 1H), 6.72(m, 1H), 5.74-5.58(Abq, 2H), 5.07-4.83(Abq, 2H), 4.82(m, 1H), 3.80(dd, 1H), 2.89(dd, 1H), 2.68(dd, 1H), 2.16(m, 1H), 1.75(m, 1H), 1.48(s, 9H), 1.39(s, 9H), 0.96(t, 3H)

Example 24-1) and 24-2)

(S)-3-[(R)-2-[2-(2-tert-Butyl-benzyl)-3-oxo-2,3-dihydro-pyridazin-4-yl]-butyrylamino]-4-oxo-5-(2,3,5,6-tetrafluoro-phenoxy)-pentanoic acid and

(S)-3-[(S)-2-[2-(2-tert-Butyl-benzyl)-3-oxo-2,3-dihydro-pyridazin-4-yl]-butyrylamino]-4-oxo-5-(2,3,5,6-tetrafluoro-phenoxy)-pentanoic acid



The compound with lower polarity prepared in Preparation 24-2) (74 mg, 0.11 mmol) was reacted according to the same procedure as Example 2) to give one of the title compounds (58 mg, 87%) which was assigned as Example 24-1).

$^1\text{H-NMR}$ (500MHz, CDCl_3) δ 7.91(d, 1H), 7.43(d, 1H), 7.39(bs, 1H), 7.18(t, 1H), 7.05(t, 1H), 6.75(m, 1H), 6.70(d, 1H), 5.65(s, 2H), 5.40-4.50(m, 3H), 3.95(m, 1H), 3.01(m, 1H), 2.55(m, 1H), 2.13(m, 1H), 1.73(m, 1H), 1.47(s, 9H), 0.97(t, 3H) (Example 24-1)

The compound with higher polarity prepared in Preparation 24-2) (67 mg, 0.10 mmol) was reacted according to the same procedure as Example 2) to give the other of the title compounds (60 mg, 98%) which was assigned as Example 24-2).

$^1\text{H-NMR}$ (500MHz, CDCl_3) δ 7.91(d, 1H), 7.42(d, 1H), 7.31(bs, 1H), 7.16(t, 1H), 7.03(t, 1H), 6.75(m, 1H), 6.70(d, 1H), 5.65(s, 2H), 4.89-4.03(m, 3H), 3.76(m, 1H), 2.99(m,

1H), 2.70(m, 1H), 2.12(m, 1H), 1.75(m, 1H), 1.48(s, 9H), 0.97(t, 3H) (Example 24-2)

Preparation 25-1)

(S)-3-{2-[2-(3-tert-Butyl-benzyl)-3-oxo-2,3-dihydro-pyridazin-4-yl]-butyryl-
5 amino}-4-oxo-5-(2,3,5,6-tetrafluoro-phenoxy)-pentanoic acid tert-butyl ester

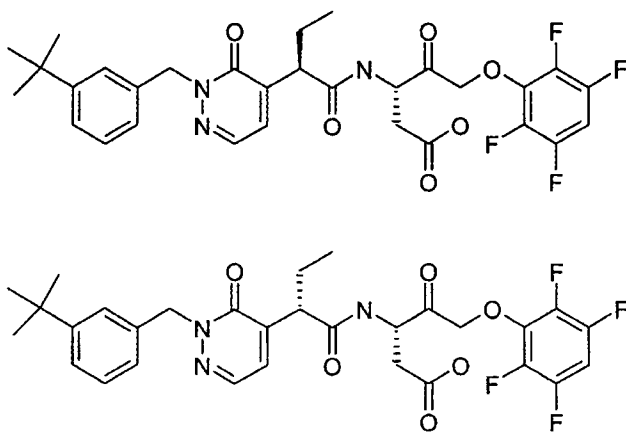
The compound of Preparation 7-2) (135 mg, 0.38 mmol) was reacted according to the same procedure as Preparation 24-2) to give the title compound (198 mg, 79%).

¹H-NMR (500MHz, CDCl₃) δ 7.79(two d, 1H), 7.63(m, 1H), 7.42(two s, 1H), 7.32-7.14(m, 4H), 6.73(m, 1H), 5.43-5.21(m, 2H), 5.20-4.71(m, 3H), 3.77(m, 1H),
10 2.93-2.59(m, 2H), 2.15(m, 1H), 1.69(m, 1H), 1.43 & 1.40(two s, 9H), 1.29(s, 9H), 0.95(m, 3H)

Example 25-1) and 25-2)

(S)-3-{(R)-2-[2-(3-tert-Butyl-benzyl)-3-oxo-2,3-dihydro-pyridazin-4-yl]-butyryl-
15 ylamino}-4-oxo-5-(2,3,5,6-tetrafluoro-phenoxy)-pentanoic acid and

(S)-3-{(S)-2-[2-(3-tert-Butyl-benzyl)-3-oxo-2,3-dihydro-pyridazin-4-yl]-butyryl-
ylamino}-4-oxo-5-(2,3,5,6-tetrafluoro-phenoxy)-pentanoic acid



The compound of Preparation 25-1) (75 mg, 0.11 mmol) was reacted according to the same procedure as Example 2) to give the title compound as a mixture of two diastereomers, which was then separated by Prep-TLC (70% EtOAc/Hexane) to give 31 mg (44%) of a diastereomer with lower polarity (Example 25-1) and 33 mg (48%) of a diastereomer with higher polarity (Example 25-2).

Diastereomer with lower polarity: $^1\text{H-NMR}$ (500MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ 8.70(m, 1H), 7.87(d, 1H), 7.50(m, 1H), 7.30(s, 1H), 7.24(d, 2H), 7.18(m, 1H), 6.97(m, 1H), 5.24-5.03(m, 4H), 4.64-4.52(m, 1H), 3.68(m, 1H), 2.68-2.58(m, 2H), 1.73(m, 1H), 1.63(m, 1H), 1.19(s, 9H), 0.82(m, 3H) (Example 25-1)

Diastereomer with higher polarity: $^1\text{H-NMR}$ (500MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ 8.66(m, 1H), 7.87(d, 1H), 7.50(m, 1H), 7.30(s, 1H), 7.25(two d, 2H), 7.16(m, 1H), 6.96(m, 1H), 5.23-4.90(m, 4H), 4.63-4.54(m, 1H), 3.68(m, 1H), 2.68-2.50(m, 2H), 1.73(m, 1H), 1.63(m, 1H), 1.19(s, 9H), 0.82(m, 3H) (Example 25-2)

Preparation 26-1)

(S)-2-Amino-succinic acid 4-tert-butyl ester 1-methyl ester hydrochloride

To Cbz-Asp(O-tert-Bu)-OH.H₂O (5.00 g, 14.6 mmol) and K₂CO₃ (4.05 g, 2.0 eq) were added DMF (100 mL) and MeI (2.74 mL, 3 eq), which was then stirred for 2-3 h at room temperature. The solvent was distilled under reduced pressure. The residue was extracted with ethyl acetate (100 mL x 2), washed with water, aqueous sodium hydrogen carbonate solution and aqueous sodium chloride solution, dried (anhydrous Na₂SO₄), and concentrated under reduced pressure. The residue was purified by column chromatography (30% ethyl acetate/hexane) to give (S)-2-benzyloxycarbonylamino-succinic acid 4-tert-butyl ester 1-methyl ester in a

stoichiometric yield. This compound was dissolved in MeOH (100 mL), c-HCl (1.1 mL, 1.0 eq) was added, and subjected to debenzoyloxycarbonylation (Pd/C) for 40 min under hydrogen balloon, whereby giving 3.28 g (96%) of the title compound.

5 **Preparation 26-2)**

(S)-2-{2-[2-(2-tert-Butyl-benzyl)-3-oxo-2,3-dihydro-pyridazin-4-yl]-butyrylamino}-succinic acid 4-tert-butyl ester 1-methyl ester

The compound of Preparation 6-8) was hydrolyzed according to the same procedure as Preparation 2-3) to give the carboxylic acid derivative. A mixture of this
10 carboxylic acid derivative (938 mg, 2.86 mmol), the compound of Preparation 26-1) (753 mg, 1.1 eq) and HATU (1.41 g, 1.3 eq) was cooled to 0 °C, triethylamine (2.00 mL, 5.0 eq) was added thereto in DMF solvent (18 mL), and the mixture was reacted for 1 h at room temperature. The solvent was distilled under reduced pressure. The residue was extracted with ethyl acetate (50 mL x 2), washed with water, aqueous sodium hydrogen
15 carbonate solution and aqueous sodium chloride solution, dried (anhydrous Na₂SO₄), and concentrated under reduced pressure. The residue was purified by column chromatography (50% ethyl acetate-hexane) to give 1.24 g (84%) of the title compound.

¹H-NMR (400MHz, CDCl₃) δ 7.84(dd, 1H), 7.48(d, 1H), 7.41-7.32(dd, 1H), 7.30(d, 1H), 7.23(m, 1H), 7.14(m, 1H), 6.92-6.83(dd, 1H), 5.76-5.65(m, 2H), 4.82(m, 1H),
20 3.91(m, 1H), 3.76,3.68(two s, 3H), 2.92-2.63(m, 2H), 2.19(m, 1H), 1.76(m, 1H), 1.55(s, 9H), 1.46,1.42(two s, 9H), 1.02(m, 3H).

Preparation 26-3)

(S)-5-Bromo-3-{2-[2-(2-tert-butyl-benzyl)-3-oxo-2,3-dihydro-pyridazin-4-yl]-

91

butyrylamino}-4-oxo-pentanoic acid tert-butyl ester

The compound of Preparation 26-2) (1.24 g, 2.41 mmol) was hydrolyzed according to the same procedure as Preparation 2-3) to give the carboxylic acid derivative (1.15 g, 95%). To this carboxylic acid derivative (1.15 g, 2.30 mmol) and NMM (0.28 mL, 2.53 mmol) was added anhydrous tetrahydrofuran (20 mL) under nitrogen atmosphere, which was maintained at 0°C. Isobutylchloroformate (0.31 mL, 2.42 mmol) was added, and the mixture was stirred for about 30 min. To the reaction mixture maintained at 0°C was added diazomethane-ether solution (synthesized from 4.0 eq of 1-methyl-3-nitro-1-nitroso-guanidine, 40 mL), which was then stirred for 4 h at 0°C to give the diazoketone derivative. 30% HBr/AcOH (1.02 mL, 2.0 eq) was added thereto at 0°C, and stirred for 30 min. The reaction mixture was extracted with ethyl acetate, washed with water, twice with saturated aqueous sodium hydrogen carbonate solution, and aqueous sodium chloride solution, dried (anhydrous Na₂SO₄), and concentrated under reduced pressure to give the bromomethylketone derivative (1.30 g, 98%). This compound was used in the next reaction without further purification.

¹H-NMR (500MHz, CDCl₃) δ 7.84(dd, 1H), 7.63-7.58(dd, 1H), 7.43(d, 1H), 7.25-7.17(m, 2H), 7.09(m, 1H), 6.83-6.75(dd, 1H), 5.74-5.62(m, 2H), 4.91,4.82(two m, 1H), 4.12-3.93(m, 2H), 3.79(m, 1H), 2.91-2.60(m, 2H), 2.17(m, 1H), 1.74(m, 1H), 1.49(s, 9H), 1.40,1.36(two s, 9H), 0.97(m, 3H).

Preparation 26-4)

(S)-3-{2-[2-(2-tert-Butyl-benzyl)-3-oxo-2,3-dihydro-pyridazin-4-yl]-butyrylamino}-4-oxo-5-(2,3,6-trifluoro-phenoxy)-pentanoic acid tert-butyl ester

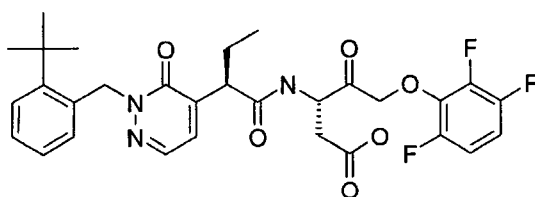
The compound of Preparation 26-3) (100 mg, 0.17 mmol) and 2,3,6-trifluoro-phenol (31 mg, 1.2 eq) were dissolved in dimethylformamide (2 mL), KF (25 mg, 2.5 eq) was added thereto, and the mixture was stirred for 4 h at room temperature. The residue obtained by concentration under reduced pressure was extracted with ethyl acetate, washed with water, twice with saturated aqueous sodium hydrogen carbonate solution, and aqueous sodium chloride solution, dried (anhydrous Na₂SO₄), and concentrated under reduced pressure. The residue was purified by Prep-TLC (70% ethyl acetate/hexane) to give 77 mg (69%) of the title compound.

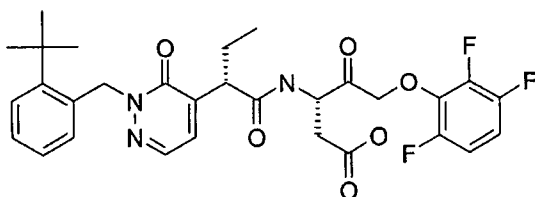
¹H-NMR (500MHz, CDCl₃) δ 7.82(m, 1H), 7.56(m, 1H), 7.42(t, 1H), 7.23(t, 1H), 7.16(m, 1H), 7.06(m, 1H), 6.82-6.73(m, 3H), 5.76-5.55(m, 2H), 5.10-4.78(m, 3H), 3.82(m, 1H), 2.94-2.60(m, 2H), 2.16(m, 1H), 1.73(m, 1H), 1.46(s, 9H), 1.39,1.34(two s, 9H), 0.95(m, 3H).

Example 26-1) and 26-2)

(S)-3-{(R)-2-[2-(2-tert-Butyl-benzyl)-3-oxo-2,3-dihydro-pyridazin-4-yl]-butyrylamino}-4-oxo-5-(2,3,6-trifluoro-phenoxy)-pentanoic acid and

(S)-3-{(S)-2-[2-(2-tert-Butyl-benzyl)-3-oxo-2,3-dihydro-pyridazin-4-yl]-butyrylamino}-4-oxo-5-(2,3,6-trifluoro-phenoxy)-pentanoic acid





The compound of Preparation 26-4) (77 mg, 0.12 mmol) was reacted according to the same procedure as Example 2) to give the title compound as a mixture of two diastereomers, which was then separated by Prep-TLC (50% ethyl acetate/hexane) to give
 5 24 mg (34%) of a diastereomer with lower polarity (Example 26-1) and 17 mg (24%) of a diastereomer with higher polarity (Example 26-2).

Diastereomer with lower polarity: $^1\text{H-NMR}$ (500MHz, CDCl_3) δ 7.89(d, 1H), 7.43(d, 1H), 7.30(m, 1H), 7.18(t, 1H), 7.05(t, 1H), 6.83(m, 2H), 6.71(d, 1H), 5.67-5.63(m, 2H), 4.82-4.10(m, 3H), 3.84(m, 1H), 2.86(m, 1H), 2.52(m, 1H), 2.16(m, 1H), 1.73(m, 1H),
 10 1.48(s, 9H), 0.95(t, 3H).

Diastereomer with higher polarity: $^1\text{H-NMR}$ (500MHz, CDCl_3) δ 7.90(d, 1H), 7.41(d, 1H), 7.32(m, 1H), 7.15(t, 1H), 7.02(t, 1H), 6.79(m, 2H), 6.70(d, 1H), 5.63(m, 2H), 4.89-4.05(m, 3H), 3.90(m, 1H), 3.05(m, 1H), 2.69(m, 1H), 2.12(m, 1H), 1.73(m, 1H),
 15 1.47(s, 9H), 0.96(m, 3H).

Preparation 27)

(S)-3-{2-[2-(2-tert-Butyl-benzyl)-3-oxo-2,3-dihydro-pyridazin-4-yl]-butyrylamino}-5-(2,6-difluoro-phenoxy)-4-oxo-pentanoic acid tert-butyl ester

The compound of Preparation 26-3) (100 mg, 0.17 mmol) and 2,6-difluoro-phenol
 20 (27 mg, 1.2 eq) were dissolved in dimethylformamide (2 mL), KF (25 mg, 2.5 eq) was added thereto, and the mixture was stirred for 4 h at room temperature. The residue

94

obtained by concentration under reduced pressure was extracted with ethyl acetate, washed with water, twice with saturated aqueous sodium hydrogen carbonate solution, and aqueous sodium chloride solution, dried (anhydrous Na₂SO₄), and concentrated under reduced pressure. The residue was purified by Prep-TLC (70% ethyl acetate/hexane) to
5 give 77 mg (71%) of the title compound.

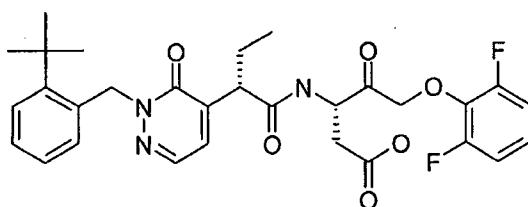
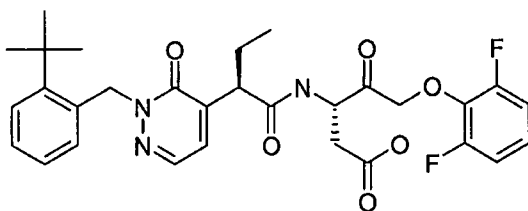
¹H-NMR (500MHz, CDCl₃) δ 7.79(m, 1H), 7.54(m, 1H), 7.41(m, 1H), 7.23(m, 1H), 7.16(m, 1H), 7.05(m, 1H), 6.92-6.72(m, 4H), 5.76-5.52(m, 2H), 5.02-4.73(m, 3H), 3.84(m, 1H), 2.97-2.62(m, 2H), 2.15(m, 1H), 1.71(m, 1H), 1.48(s, 9H), 1.40, 1.34(two s, 9H), 0.96(m, 3H).

10

Example 27-1) and 27-2)

(S)-3-[(R)-2-[2-(2-tert-Butyl-benzyl)-3-oxo-2,3-dihydro-pyridazin-4-yl]-butyrylamino]-5-(2,6-difluoro-phenoxy)-4-oxo-pentanoic acid

(S)-3-[(S)-2-[2-(2-tert-Butyl-benzyl)-3-oxo-2,3-dihydro-pyridazin-4-yl]-butyrylamino]-5-(2,6-difluoro-phenoxy)-4-oxo-pentanoic acid
15



The compound of Preparation 27) (75 mg, 0.11 mmol) was reacted according to

the same procedure as Example 2) to give the title compound as a mixture of two diastereomers, which was then separated by Prep-TLC (50% EtOAc/Hexane) to give 25 mg (36%) of a diastereomer with lower polarity (Example 27-1) and 24 mg (35%) of a diastereomer with higher polarity (Example 27-2).

5 Diastereomer with lower polarity: $^1\text{H-NMR}$ (500MHz, CDCl_3) δ 7.88(d, 1H), 7.43(d, 1H), 7.28(m, 1H), 7.18(t, 1H), 7.05(t, 1H), 6.97(m, 1H), 6.87(t, 2H), 6.71(d, 1H), 5.67-5.63(m, 2H), 4.77-4.10(m, 3H), 3.82(m, 1H), 2.83(m, 1H), 2.51(m, 1H), 2.14(m, 1H), 1.71(m, 1H), 1.48(s, 9H), 0.95(t, 3H)

10 Diastereomer with higher polarity: $^1\text{H-NMR}$ (500MHz, CDCl_3) δ 7.87(d, 1H), 7.41(d, 1H), 7.29(m, 1H), 7.16(t, 1H), 7.03(t, 1H), 6.93(m, 1H), 6.83(t, 2H), 6.72(d, 1H), 5.67-5.62(m, 2H), 4.88-4.10(m, 3H), 3.87(m, 1H), 3.04(m, 1H), 2.67(m, 1H), 2.11(m, 1H), 1.72(m, 1H), 1.46(s, 9H), 0.96(t, 3H).

Preparation 28)

15 (S)-3-{2-[2-(2-tert-Butyl-benzyl)-3-oxo-2,3-dihydro-pyridazin-4-yl]-butyrylamino}-5-(diphenyl-phosphinoyloxy)-4-oxo-pentanoic acid tert-butyl ester

The compound of Preparation 26-3) (100 mg, 0.17 mmol) and diphenylphosphinic acid (45 mg, 1.2 eq) were dissolved in dimethylformamide (2 mL), KF (25 mg, 2.5 eq) was added thereto, and the mixture was stirred for 4 h at room temperature. The residue
20 obtained by concentration under reduced pressure was extracted with ethyl acetate, washed with water, twice with saturated aqueous sodium hydrogen carbonate solution, and aqueous sodium chloride solution, dried (anhydrous Na_2SO_4), and concentrated under reduced pressure. The residue was purified by Prep-TLC (50% ethyl acetate/hexane) to give 80 mg (65%) of the title compound.

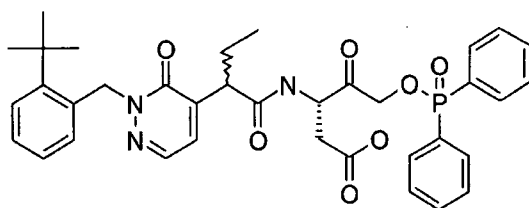
98

¹H-NMR (500MHz, CDCl₃) δ 7.87-7.76(m, 5H), 7.56-7.41(m, 8H), 7.18-7.14(m, 2H), 7.07(m, 1H), 6.83-6.72(dd, 1H), 5.77-5.56(m, 2H), 4.94-4.62(m, 3H), 3.77(m, 1H), 2.79-2.54(m, 2H), 2.09(m, 1H), 1.68(m, 1H), 1.48(s, 9H), 1.36 & 1.31(two s, 9H), 0.89(m, 3H).

5

Example 28)

(S)-3-{2-[2-(2-tert-Butyl-benzyl)-3-oxo-2,3-dihydro-pyridazin-4-yl]-butyryl-amino}-5-(diphenyl-phosphinoyloxy)-4-oxo-pentanoic acid



10 The compound of Preparation 28) (80 mg, 0.11 mmol) was reacted according to the same procedure as Example 2), concentrated under reduced pressure, and separated by Prep-TLC (10% MeOH/CH₂Cl₂) to give 68 mg (91%) of the title compound as a mixture of two diastereomers.

¹H-NMR (500MHz, CDCl₃) δ 7.80-7.71(m, 5H), 7.52-7.40(m, 7H), 7.20(m, 1H), 7.15(m, 1H), 7.04(m, 1H), 6.75(m, 1H), 5.72-5.49(m, 2H), 4.76-4.10(m, 3H), 3.84(m, 1H), 2.93-2.54(m, 2H), 1.98(m, 1H), 1.65(m, 1H), 1.46(s, 9H), 0.87-0.79(m, 3H).

15

Experiment 1**Determination of the caspase inhibitory effect**

20 Caspase-1 and caspase-8 known as cysteine proteases in the form of α₂β₂ were expressed, purified, and activated by modifying a method known in Thornberry, N. A. et

97

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 substrates 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 7.50), 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.

【Equation 1】

$$K_{obs} = -\ln(1 - A_t/A_{oo})/t$$

in which

A_t means cleavage rate (%) at time t, and

A_{oo} means the maximum cleavage rate (%).

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

98

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 Assalian A. (1996) Biochemica 3, 19-25 to observe the amount of alive Jurkat
5 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.

【Table 1】

Example No.	Caspase-8 K _{obs} /[I] (M ⁻¹ min ⁻¹)	Jurkat Cell IC ₅₀ (μ M)
1	5.8 E4	8.0
2	4.4 E5	1.48
3	1.3 E6	0.46
4	4.1 E5	0.39
5	2.3 E5	2.07
6	3.8 E6	0.042
7	1.4 E6	0.035
8	1.2 E6	0.82
9	3.0 E6	0.88
10	1.2 E6	0.55
11	3.4 E6	0.17
12	9.3 E5	0.29
13	6.9 E5	3.76
14	8.4 E5	0.73
15	7.2 E5	0.80
16	7.4 E5	0.09

79

17	1.5 E6	0.13
18	4.4 E6	0.042
19	1.7 E6	0.035
20	1.1 E6	0.043
21	4.0 E6	0.043
22	8.6 E5	0.216
23-1	1.2 E6	0.14
23-2	5.6 E4	2.48
24-1	3.8 E6	0.012
24-2	1.1 E5	4.15
25-1	1.6 E6	0.031
25-2	5.4 E4	1.94
26-1	1.7 E6	0.045
26-2	4.7 E5	-
27-1	7.0 E5	0.090
27-2	1.9 E5	-
28	3.4 E6	0.365

Experiment 2

Therapeutic effect for liver injury induced by antibody against Fas in mouse

Step 1) Preparation of blood sample

5 Male Balb/c mice (6 weeks, Charles River Laboratory, Osaka, Japan) were kept under the conditions of 22℃, 55% of relative humidity, and light-darkness cycle of 12 hours. Food and water were supplied ad libitum. In pyrogen-free phosphate buffer was dissolved the antibody against Fas (Jo2; BD pharmingen, San Diego, California), which

100

was then injected to each mouse in the amount of 0.15 mg/kg through the vein of tail. Immediately after the injection of the Fas antibody, vehicle (a mixture of PEG400: ethanol = 2: 1 was 20-fold diluted with phosphate buffer) wherein the test compound is dissolved or the vehicle alone was orally administered to the mice. After 6 hours from the drug administration, blood samples were obtained from their hearts.

Step 2: Determination of the activity of plasma aminotransferase

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. The results appeared that the injection of the Fas antibody sharply 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 0.001-10mg/kg.

15

INDUSTRIAL APPLICABILITY

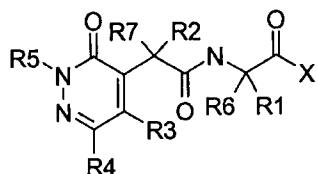
As the above results of Experiments show, the compound of formula (1) of the present invention has an excellent inhibitory activity against caspase, and particularly exhibits a therapeutic effect in the animal model of liver injury induced by the Fas antibody. Therefore, the compound of formula (1) can be advantageously used for the treatment of various diseases and symptoms mediated by caspase.

101

CLAIMS

1. A compound of formula (1):

[Formula 1]



5 in which

I) R^1 represents H, C_1 - C_5 -alkyl, C_3 - C_{10} -cycloalkyl, aryl, or a side chain residue of all the natural amino acids,

II) R^2 represents H, C_1 - C_5 -alkyl, C_3 - C_{10} -cycloalkyl, aryl, or a side chain residue of all the natural amino acids,

10 III) R^3 represents H, C_1 - C_5 -alkyl, hydroxy, C_1 - C_5 -alkoxy, or halogen,

IV) R^4 represents H, C_1 - C_5 -alkyl, C_3 - C_{10} -cycloalkyl, or aryl,

V) R^5 represents H, C_1 - C_5 -alkyl, C_3 - C_{10} -cycloalkyl, or aryl,

VI) R^6 and R^7 independently of one another each represent H, C_1 - C_5 -alkyl, C_3 - C_{10} -cycloalkyl, or aryl,

15 VII) X represents $-CH_2OR^9$ (R^9 is C_1 - C_5 -alkyl, C_3 - C_{10} -cycloalkyl, or aryl), $-CH_2OC(=O)R^{10}$ (R^{10} is C_1 - C_5 -alkyl, C_3 - C_{10} -cycloalkyl, or aryl), $-CH_2-OP(=O)R^{11}_2$ (R^{11} is C_1 - C_5 -alkyl, C_3 - C_{10} -cycloalkyl, or aryl), or $-CH_2-W$ (W is halogen), or pharmaceutically acceptable salt thereof.

20 2. The compound of Claim 1 wherein R^5 represents C_1 - C_5 -alkyl substituted by substituted or unsubstituted C_3 - C_{10} -cycloalkyl or by substituted or unsubstituted aryl; or

represents substituted or unsubstituted aryl, or pharmaceutically acceptable salt thereof.

3. The compound of Claim 2 wherein R⁵ represents C₁-C₅-alkyl substituted by C₃-C₁₀-cycloalkyl which is unsubstituted or substituted by one or more substituents
5 selected from the group consisting of C₁-C₅-alkyl, hydroxy, C₁-C₅-alkoxy and halogen, or by aryl which is unsubstituted or substituted by one or more substituents selected from the group consisting of C₁-C₅-alkyl, hydroxy, C₁-C₅-alkoxy and halogen; or represents aryl which is unsubstituted or substituted by one or more substituents selected from the group consisting of C₁-C₅-alkyl, hydroxy, C₁-C₅-alkoxy and halogen, or pharmaceutically
10 acceptable salt thereof.

4. The compound of Claim 1 wherein

- I) R¹ represents a side chain residue of all the natural amino acids,
II) R² represents C₁-C₅-alkyl,
15 III) R³ represents H, C₁-C₅-alkyl, C₁-C₅-alkoxy, or halogen,
IV) R⁴ represents H,

- V) R⁵ represents C₁-C₅-alkyl substituted by C₃-C₁₀-cycloalkyl which is unsubstituted or substituted by one or more substituents selected from the group consisting of C₁-C₅-alkyl, hydroxy, C₁-C₅-alkoxy and halogen, or by aryl which is unsubstituted or
20 substituted by one or more substituents selected from the group consisting of C₁-C₅-alkyl, hydroxy, C₁-C₅-alkoxy and halogen; or represents aryl which is unsubstituted or substituted by one or more substituents selected from the group consisting of C₁-C₅-alkyl, hydroxy, C₁-C₅-alkoxy and halogen,

VI) R^6 and R^7 independently of one another each represent H,

VII) X represents $-CH_2OR^9$ (R^9 is C_1 - C_5 -alkyl, C_3 - C_{10} -cycloalkyl, or aryl), $-CH_2OC(=O)R^{10}$ (R^{10} is C_1 - C_5 -alkyl, C_3 - C_{10} -cycloalkyl, or aryl), or $-CH_2-W$ (W is halogen), or pharmaceutically acceptable salt thereof.

5

5. The compound of Claim 1 wherein

I) R^1 represents $-CH_2COOH$,

II) R^2 represents C_1 - C_5 -alkyl,

III) R^3 represents H, C_1 - C_5 -alkyl, C_1 - C_5 -alkoxy, or halogen,

10 IV) R^4 represents H,

V) R^5 represents C_1 - C_5 -alkyl substituted by C_3 - C_{10} -cycloalkyl which is unsubstituted or substituted by one or more substituents selected from the group consisting of C_1 - C_5 -alkyl, hydroxy, C_1 - C_5 -alkoxy and halogen, or by aryl which is unsubstituted or substituted by one or more substituents selected from the group consisting of C_1 - C_5 -alkyl, hydroxy, C_1 - C_5 -alkoxy and halogen; or represents aryl which is unsubstituted or substituted by one or more substituents selected from the group consisting of C_1 - C_5 -alkyl, hydroxy, C_1 - C_5 -alkoxy and halogen,

15 VI) R^6 and R^7 independently of one another each represent H,

VII) X represents $-CH_2O-(2,3,5,6\text{-tetrafluorophenyl})$, $-CH_2O-(2,3,6\text{-trifluorophenyl})$, $-CH_2O-(2,6\text{-difluorophenyl})$, $-CH_2O-(2,6\text{-dichlorobenzoyl})$ or $-CH_2-F$, or pharmaceutically acceptable salt thereof.

6. 3-2-[2-(2-Tert-butyl-benzyl)-3-oxo-2,3-dihydro-pyridazin-4-yl]-

104

butyrylamino-5-fluoro-4-oxo-pentanoic acid.

7. 3-2-[2-(3-Tert-butyl-benzyl)-3-oxo-2,3-dihydro-pyridazin-4-yl]-
butyrylamino-5-fluoro-4-oxo-pentanoic acid.

5

8. A pharmaceutical composition for inhibiting caspase, comprising the compound as defined in any one of Claims 1 to 7 or pharmaceutically acceptable salt thereof as an active ingredient together with a pharmaceutically acceptable carrier.

10

9. The composition of Claim 8 for preventing inflammation and apoptosis.

15

10. The composition of Claim 8 for the treatment or prevention of dementia, cerebral stroke, brain impairment due to AIDS, diabetes, gastric ulcer, cerebral injury by hepatitis, hepatitis-induced hepatic diseases, acute hepatitis, fulminant hepatic failure, sepsis, organ transplantation rejection, rheumatic arthritis, cardiac cell apoptosis due to ischemic cardiac diseases, or liver cirrhosis.

20

11. The composition of Claim 8 for the treatment of acute hepatitis or liver cirrhosis.

12. The composition of Claim 8 for the treatment of rheumatic arthritis.

jos

INHIBIDORES DE CASPASA BASADOS EN LA ESTRUCTURA DE

PIRIDAZINONA

CAMPO TÉCNICO

La presente invención se relaciona a un derivado de
5 piridazinona o sal farmacéuticamente aceptable del mismo como
un inhibidor contra varias caspasas que incluyen caspasa-1
[enzima que convierte interleucina-1 β , ICE], caspasa-3
[apopaína/PPP-32], caspasa-8 y caspasa-9, y una composición
farmacéutica para la inhibición de caspasa que comprende el
10 mismo.

TÉCNICA ANTECEDENTE

La caspasa es una nueva clase de cisteína proteasa
en la forma de tetramero $\alpha_2\beta_2$ descubierto durante los últimos
10 años. Alrededor de 14 clases de las mismas se han conocido
15 hasta ahora. La caspasa-1 (ICE), uno de ellas, es una clase
de citoquina y participa en convertir la prointerleucina-1 β
biológicamente inactiva a la interleucina-1 β activa. La
interleucina-1 consiste de interleucina-1 α e interleucina-1 β ,
ambas de las cuales se sintetizan en monocitos en la forma
20 del precursor de 31KDa. Solamente la prointerleucina-1 β es
activada por ICE. Las posiciones hidrolizadas por caspasa-1
son Asp²⁷-Gly²⁸ y Asp¹¹⁶-Ala¹¹⁷. La hidrólisis de la última
posición da la interleucina-1 β . La interleucina-1 β se ha
reportado para actuar como un mediador importante en causar
25 inflamación (1,3). La caspasa-1 ha sido descubierta por

primera vez en 1989, y la estructura tridimensional de la misma se determinó mediante el método cristalográfico de rayos X por dos grupos de estudio independientes.

La caspasa-3(CPP-32) es ampliamente estudiada para su función o mecanismo de acción, y su estructura tridimensional se determinó en 1996(2). La caspasa-3(apopaína) activada de la procaspasa-3 se hidroliza en la posición de la porción (P₄)Asp-X-X-Asp(P₁), y los sustratos conocidos incluyen poli(ADP-ribosa) polimerasa, ribonucleoproteína nuclear pequeña U1 de 70,000 Mr, subunidad catalítica de proteína quinasa dependiente de DNA de 460,000 Mr, etc. La estructura de rayos X de caspasa-7 se ha reportado que es muy similar a aquella de la caspasa-3(4).

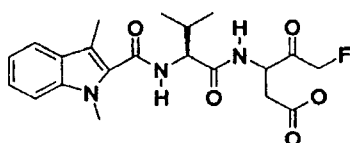
Las caspasas-8 y 9 se presentan en la corriente arriba de caspasa-3,6,7, y todas estas caspasas se conocen por participar en la cascada de apoptosis. La estructura de rayos X de caspasa-8 se determinó en 1999(5), y particularmente los inhibidores de la misma pueden ser ventajosamente utilizados para tratar las enfermedades relacionadas a la apoptosis.

Los inhibidores de caspasa significan aquellos compuestos que inhiben la actividad de caspasa, y para controlar tales síntomas como la inflamación, apoptosis, etc. causados por la actividad de caspasa. Las enfermedades o síntomas que se pueden tratar o atenuar al administrar los

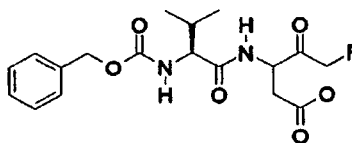
107

inhibidores incluyen lo siguiente: demencia, apoplejía cerebral, deterioro del cerebro debido al SIDA, diabetes, úlcera gástrica, lesión cerebral por virus de hepatitis, enfermedades hepáticas inducidas por hepatitis, hepatitis
5 aguda, falla hepática fulminante, sepsis, rechazo de transplante de órgano, artritis reumática, enfermedades cardíacas isquémicas y cirrosis del hígado (6).

Entre los inhibidores de caspasa conocidos hasta ahora, los inhibidores irreversibles mucho más notados son
10 los siguientes:



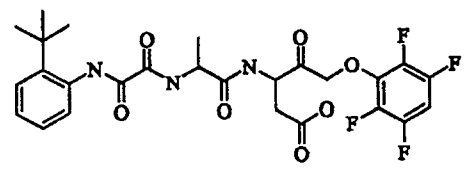
IDN-1965



MX-1013

Ambos de los inhibidores anteriores exhiben su
15 actividad basada en el mecanismo común de que inactivan irreversiblemente la enzima para suprimir la apoptosis celular (inhibidor de amplio espectro, irreversible). Se ha reportado que el inhibidor irreversible tiene mucha más actividad inhibidora efectiva que el inhibidor reversible
20 (7). Tanto IDN-1965 de IDUN Co. como MX-1013 de Maxim Co. se reportan que muestran actividad en el modelo de apoptosis celular para la lesión hepática (8, 9). Estos compuestos ahora están en la etapa de prueba preclínica. El inhibidor irreversible IDN-6556 ahora está en la etapa de ensayo
25 clínico de fase II como un agente terapéutico para la lesión

hepática (10, 11).



IDN-6556

5

Referencias:

(1) *Inflammation: Basic Principles and Clinical Correlates*, 2ª edición, ed por Gallin, Goldstein y Snyderman. Raven Press Ltd., Nueva York. 1992, páginas 211-232; *Blood*, 1996, 87(6), 2095-2147.

10

(2) Wilson, K. P. y colaboradores, *Nature*, 1994, 370. 270; Walker, N. P. C. y colaboradores, *Cell*, 1994, 78, 343; *Nature Structural Biology*, 1996, 3(7), 619.

15

(3) Thomberry, N. A. y colaboradores, *Nature*, 1992, 356. 768; *Nature Biotechnology*, 1996, 14, 297; *Protein Science*, 1995, 4, 3; *Nature*, 1995, 376(6 de Julio), 37; *Protein Science*, 1995, 4, 2149.

(4) Wei, Y. y colaboradores, *Chemistry and Biology*, 2000, 7, 423.

20

(5) Blanchard H. y colaboradores, *Structure*, 1999, 7, 1125; Blanchard H. y colaboradores, *J. of Mol. Biol.*, 2000, 302, 9.

(6) Referencias para enfermedades relacionadas con caspasa

25

Demencia: Arch Neurol 2003 Marzo;60(3):369-76, Caspase gene expression in the brain as a function of the

clinical progression of Alzheimer disease. Pompl PN, Yemul S, Xiang Z, Ho L, Haroutunian V, Purohit D, Mohs R, Pasinetti GM.

Apoplejía Cerebral: Proc Natl Acad Sci EUA 12 de
5 Noviembre del 2002;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.

10 Deterioro del cerebro debido al SIDA: J Neurosci 15 de Mayo del 2002;22(10):4015-24, Caspase cascades in human immunodeficiency virus-associated neurodegeneration. Garden GA, Budd SL, Tsai E, Hanson L, Kaul M, D'Emilia DM, Friedlander RM, Yuan J, Masliah E, Lipton SA.

15 Diabetes: Diabetes Junio del 2002;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.

Úlceras gástricas: J Physiol Pharmacol Diciembre de
20 1998;49(4):489-500, Role of basic fibroblast growth factor in the suppression of apoptotic caspase-3 during chronic gastric ulcer healing. Slomiany BL, Piotrowski J, Slomiany A.

Lesión cerebral por el virus de hepatitis: J Viral Hepat Marzo del 2003;10(2):81-6, Cerebral dysfunction in
25 chronic hepatitis C infection. Forton DM, Taylor-Robinson SD,

Thomas HC.

Falla hepática fulminante: Gastroenterology Agosto del 2000;119(2):446-60, Tumor necrosis factor alpha in the pathogenesis of human and murine fulminant hepatic failure.

5 Streetz K, Leifeld L, Grundmann D, Ramakers J, Eckert K, Spengler U, Brenner D, Manns M, Trautwein C.

Sepsis: Nat Immunol Diciembre del 2000;1(6):496-501, Caspase inhibitors improve survival in sepsis: a critical role of the lymphocyte. Hotchkiss RS, Chang KC,
10 Swanson PE, Tinsley KW, Hui JJ, Klender P, Xanthoudakis S, Roy S, Black C, Grimm E, Aspiotis R, Han Y, Nicholson DW, Karl IE.

Rechazo de transplante de órgano: Xenotransplantation Mayo del 2001;8(2):115-24, In vitro
15 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, Yaginuma H, Mikoshiba K, Guo L, Okuyama T, Enosawa S, Amemiya H, Amano T, Suzuki S.

20 Artritis reumática: Prog Med Chem 2002;39:1-72, Caspase inhibitors as anti-inflammatory and antiapoptotic agents. Graczyk PP. Ischemic cardiac diseases: Am J Physiol Heart Circ Physiol Septiembre del 2002;283(3):H990-5, Hypoxia-induced cleavage of caspase-3 and DFF45/ICAD in human
25 failed cardiomyocytes. Todor A, Sharov VG, Tanhehco EJ,

Silverman N, Bernabei A, Sabbah HN.

Anti-inflamación: J Immunol 15 de Marzo del 2003;170(6):3386-91, A broad-spectrum caspase inhibitor attenuates allergic airway inflammation in murine asthma
5 model. Iwata A, Nishio K, Winn RK, Chi EY, Henderson WR Jr, Harlan JM.

Enfermedades hepáticas inducidas por hepatitis: i) J Viral Hepat. Septiembre del 2003;10(5):335-42. Apoptosis in hepatitis C Kountouras J, Zavos C, Chatzopoulos D.; ii)
10 Apoptosis. Diciembre del 2003;8(6):655-63. Apoptosis participates to liver damage in HSV-induced fulminant hepatitis. Pretet JL, Pelletier L, Bernard B, Coumes-Marquet S, Kantelip B, Mougin C; iii) Proc Natl Acad Sci E U A. 2003 24 de Junio;100(13):7797-802. Caspase 8 small interfering RNA
15 prevents acute liver failure in mice. Zender L, Hutker S, Liedtke C, Tillmann HL, Zender S, Mundt B, Waltemathe M, Gosling T, Flemming P, Malek NP, Trautwein C, Manns MP, Kuhnel F, Kubicka S.

Cirrosis del hígado: i) J Pharmacol Exp Ther. Marzo
20 del 2004;308(3):1191-6, The caspase inhibitor Idn-6556 attenuates hepatic injury and fibrosis in the bile duct ligated mouse. Canbay A., Fledstein A., Baskin-Bey E., Bronk FS. Gores GJ.; ii) Hepatology. Febrero del 2004;39(2):273-8, Apoptosis: the nexus of liver injury and fibrosis. Canbay A,
25 Friedman S, Gores GJ.; iii) Hepatology. Noviembre del

2003;38(5):1188-98, Kupffer cell engulfment of apoptotic bodies stimulates death ligand and cytokine expression. Canbay A, Feldstein AE, Higuchi H, Werneburg N, Grambihler A, Bronk SF, Gores GJ.

5 (7) Wu J. y colaboradores, *Methods: A Companion to Methods in Enzymology*, 1999, 17, 320.

(8) Hoglen N. C. y colaboradores, *J. of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 2001, 297, 811.

(9) Jaeschke H. y colaboradores, *Toxicology and Applied Pharmacology*, 2000, 169, 11.

(10) Hoglen N.C. y colaboradores, *J. Pharmacol Exp. Ther.*, 2004, 309(2):634. Characterization of IDN-6556 (3-[2-(2-ter-butyl-phenylaminooxalyl)-amino]-propionylamino]-4-oxo-5-(2,3,5,6-tetrafluoro-phenoxy)-pentanoic acid): a liver-targeted caspase inhibitor.

(11) Canbay A. y colaboradores, *J. Pharmacol Exp. Ther.*, 2004, 308(3), 1191. The caspase inhibitor IDN-6556 attenuates hepatic injury and fibrosis in the bile duct ligated mouse.

20 **DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCION**

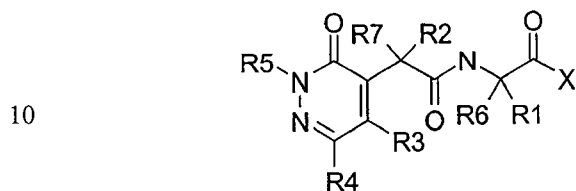
[Objetivo Técnico]

Los presentes inventores han estudiado extensivamente diseñar compuestos novedosos que se pueden utilizar como un inhibidor efectivo y más selectivo contra caspasas.

[Medios para Resolver el Objetivo]

Para lograr tal objetivo, los presentes inventores sintetizaron varios compuestos, y determinaron su habilidad de enlace y actividad inhibidora para caspasas. Como
5 resultado, los inventores han descubierto que un compuesto de la siguiente fórmula (1) cumple con tales requerimientos y completaron la presente invención.

[Fórmula 1]



en la cual

R, R¹, R², R³, R⁴, R⁵, R⁶, R⁷ y X son como se definen
enseguida.

15 Por lo tanto, la presente invención proporciona el derivado de piridazinona novedoso de la fórmula (1) o sal farmacéuticamente aceptable del mismo que tiene actividad inhibidora efectiva contra caspasas.

Es otro objetivo de la presente invención
20 proporcionar una composición farmacéutica para inhibir caspasa, específicamente una composición para prevenir la inflamación y apoptosis, que comprende el compuesto de la fórmula (1) o sal farmacéuticamente aceptable del mismo como un ingrediente activo junto con el portador farmacéuticamente
25 aceptable.

119

[Efecto Ventajoso]

El compuesto de la fórmula (I) de acuerdo con la presente invención tiene una excelente actividad inhibidora contra caspasa, y de esta manera puede ser ventajosamente
5 utilizado para el tratamiento de varias enfermedades y síntomas mediados por caspasa.

[Mejor Modo para Llevar a Cabo la Invención]

Primero que todo, los términos importantes en la presente invención se definen como sigue:

10 a) alquilo de C_1-C_5 : Hidrocarburos de cadena recta o ramificada que tienen 1 a 5 átomos de carbono, que incluyen metilo, etilo, n-propilo, i-propilo, n-butilo, i-butilo, t-butilo, etc., pero no están limitados a los mismos.

b) cicloalquilo de C_3-C_{10} : Hidrocarburos cíclicos
15 que tienen 3 a 10 átomos de carbono, que incluyen ciclopropilo, ciclobutilo, ciclopentilo, ciclohexilo, etc., pero no están limitados a los mismos.

c) Arilo: Grupo arilo incluye todos los aromáticos, heteroaromáticos y sus derivados parcialmente reducidos. El
20 grupo aromático significa un hidrocarburo no saturado de 5 a 15 miembros solo o fusionado. El grupo heteroaromático significa un grupo aromático que contiene 1 a 5 heteroátomos seleccionados del grupo que consiste de oxígeno, azufre y nitrógeno. El grupo arilo incluyen fenilo, naftilo, indolilo,
25 quinolinilo, isoquinolilo, imidazolinilo, isoxazolilo,

oxazolilo, tiazolilo, etc., pero no está limitado al mismo.

Uno o más hidrógenos en el grupo alquilo de C₁-C₅, cicloalquilo de C₃-C₁₀ o arilo se pueden reemplazar con un(os) grupo(s) seleccionado de lo siguiente: grupo acilo, amino, 5 carboalcoxi, carboxi, carboxiamino, ciano, halo, hidroxii, nitro, tio, alquilo, cicloalquilo, alcoxi, arilo, ariloxi, sulfoxi y guanido.

d) Aminoácidos naturales incluyen los siguientes: Glicina, Alanina, Valina, Leucina, Isoleucina, Serina, 10 Treonina, Cisteína, Metionina, Prolina, Ácido aspártico, Asparagina, Ácido glutámico, Glutamina, Lisina, Arginina, Histidina, Fenilalanina, Tirosina y Triptofano.

Además, la presente especificación incluye las siguientes abreviaciones:

15 N-bromosuccinimida: NBS

O-(7-azabenzotriazol-1-il)-N,N,N',N'-tetrametil-uroniohexafluorofosfato]: HATU

N,N-dimetil formamida: DMF

Sulfóxido de dimetilo: DMSO

20 N-metilmorfolina: NMM

2,2'-Azobis(2-metil propionitrilo): AIBN

2,2,6,6-Tetrametil-1-piperidiniloxi, radical libre: TEMPO

bis(trimetilsilil)amida de litio: LiHMDS

25 N-(2-Hidroxietil)piperazin-N'-(ácido 2'-etanosul-

fónico): HEPES

3-[(3-Colamidopropil)dimetilamino]-1-propanosul-
fonato: CHAPS

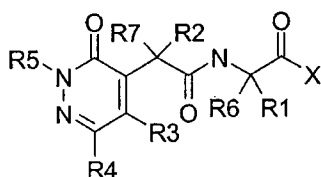
Ácido etilendiaminotetraacético: EDTA

5 Ditiotreitól: DTT

La presente invención será explicada más en detalle
enseguida. Un aspecto de la presente invención se relaciona
al derivado de piridazinona de la siguiente fórmula (1):

[Fórmula 1]

10



en la cual

I) R^1 representa H, alquilo de C_1-C_5 , cicloalquilo
15 de C_3-C_{10} , arilo, o un residuo de cadena lateral de todos los
aminoácidos naturales,

II) R^2 representa H, alquilo de C_1-C_5 , cicloalquilo
de C_3-C_{10} , arilo, o un residuo de cadena lateral de todos los
aminoácidos naturales,

20 III) R^3 representa H, alquilo de C_1-C_5 , hidroxí,
alcoxi de C_1-C_5 o halógeno,

IV) R^4 representa H, alquilo de C_1-C_5 , cicloalquilo
de C_3-C_{10} o arilo,

V) R^5 representa H, alquilo de C_1-C_5 , cicloalquilo
25 de C_3-C_{10} o arilo,

117

VI) R^6 y R^7 independientemente entre sí representan H, alquilo de C_1-C_5 , cicloalquilo de C_3-C_{10} o arilo,

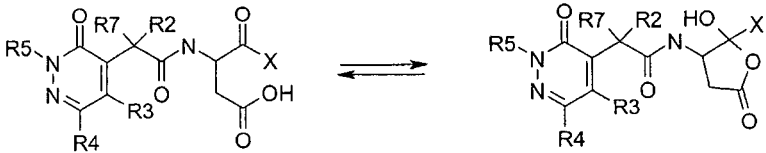
VII) X representa $-CH_2OR^9$ (R^9 es alquilo de C_1-C_5 , cicloalquilo de C_3-C_{10} o arilo), $-CH_2OC(O)R^{10}$ (R^{10} es alquilo de C_1-C_5 , cicloalquilo de C_3-C_{10} o arilo), $-CH_2-OP(=O)R^{11}_2$ (R^{11} es alquilo C_1-C_5 , cicloalquilo de C_3-C_{10} o arilo), o $-CH_2-W$ (W es halógeno), o sal farmacéuticamente aceptable del mismo, el cual es útil como un inhibidor para caspasa.

En el compuesto de la fórmula (1) de acuerdo con la presente invención, R^1 de preferencia representa un residuo de cadena lateral de todos los aminoácidos naturales, más de preferencia $-CH_2COOH$. El compuesto de la fórmula (1) puede incluir las dos clases de estereoisómeros, o mezclas del mismo (mezclas diastereoméricas) cuando el carbono al cual R^1 está unido llega a ser un estereocentro debido al grupo R^1 . El compuesto de la fórmula (1) puede incluir una forma de éster ($-CO_2Y$ en donde Y es alquilo de C_1-C_5), una forma sulfonamida ($-CONHSO_2Z$ en donde Z es alquilo de C_1-C_5), y una forma de sal farmacéuticamente aceptable, cuando R^1 es un residuo de cadena lateral de aminoácido que contiene la porción carboxilo; o el compuesto de la fórmula (1) también puede existir en la forma de una sal farmacéuticamente aceptable cuando R^1 es un residuo de cadena lateral de un aminoácido que contiene una porción base.

El compuesto de la presente invención (fórmula 1a)

puede existir en la forma de un cetel cíclico (fórmula 1b) cuando R^1 es $-\text{CH}_2\text{COOH}$, y así una persona experta puede entender que la forma del cetel cíclico (fórmula 1b) también puede ser convertido por la presente invención.

5



Fórmula 1a

Fórmula 1b

También, las formas de equilibrio de de los
10 compuestos deben ser entendidos para cubrir sus formas tautoméricas.

R^2 de preferencia representa alquilo de C_1-C_5 , más de preferencia metilo, etilo, n-propilo, i-propilo, n-butilo, i-butilo o t-butilo. El compuesto de la fórmula (1) puede
15 incluir dos clases de estereoisómeros, o mezclas de los mismos (mezclas diastereoméricas) cuando el carbono al cual R^2 está unido llega a ser un estereocentro debido al grupo R^2 . El compuesto de la fórmula (1) puede incluir una forma de éster ($-\text{CO}_2\text{Y}$ en donde Y es alquilo de C_1-C_5), una forma
20 sulfonamida ($-\text{CONHSO}_2\text{Z}$ en donde Z es alquilo de C_1-C_5) y una forma de sal farmacéuticamente aceptable, cuando R^2 es un residuo de cadena lateral de un aminoácido que contiene la porción carboxilo; o el compuesto de la fórmula (1) también puede existir en la forma de una sal farmacéuticamente
25 aceptable cuando R^2 es un residuo de cadena lateral de un

aminoácido que contiene una porción de base.

R³ de preferencia representa H, alquilo de C₁-C₅, alcoxi de C₁-C₅, o halógeno, más de preferencia H, metilo, etilo, n-propilo, i-propilo, n-butilo, i-butilo o t-butilo, 5 metoxi, etoxi, fluoro o cloro.

R⁴ de preferencia representa H.

R⁵ de preferencia representa alquilo de C₁-C₅ sustituido por cicloalquilo de C₃-C₁₀ sustituido o no sustituido o por arilo sustituido o no sustituido; o 10 representa arilo sustituido o no sustituido. R⁵ más de preferencia representa alquilo de C₁-C₅ sustituido por cicloalquilo de C₃-C₁₀ el cual es no sustituido o sustituido por o más sustituyentes seleccionados del grupo que consiste de alquilo de C₁-C₅, hidroxil, alcoxi de C₁-C₅ y halógeno, o 15 por arilo el cual es no sustituido o sustituido por uno o más sustituyentes seleccionados del grupo que consiste de alquilo de C₁-C₅, hidroxil, alcoxi de C₁-C₅ y halógeno; o representa arilo el cual es no sustituido o sustituido por uno o más sustituyentes seleccionados del grupo que consiste de alquilo 20 de C₁-C₅, hidroxil, alcoxi de C₁-C₅ y halógeno. Por ejemplo, R⁵ es fenilo, naftilo, indolilo, quinolinilo, isoquinolilo, imidazolinilo, isoxazolilo, oxazolilo o tiazolilo, o es metilo sustituido por fenilo, naftilo, indolilo, quinolinilo, isoquinolilo, imidazolinilo, isoxazolilo, oxazolilo, 25 tiazolilo o ciclohexilo, cada uno de los cuales es no

sustituido o sustituido por uno o más sustituyentes seleccionados del grupo que consiste de metilo, etilo, n-propilo, i-propilo, n-butilo, i-butilo, t-butilo, metoxi, etoxi, trihalometilo y halógeno.

5 R⁶ y R⁷ cada uno de preferencia representa H.

 R⁹ de preferencia representa arilo sustituido por uno o más halógenos, más de preferencia fenilo sustituido por uno o más flúors y mucho más de preferencia 2,3,5,6-tetrafluorofenilo, 2,3,6-trifluorofenilo o 2,6-difluorofenilo.

10

 R¹⁰ de preferencia representa arilo sustituido por uno o más halógenos, más de preferencia fenilo sustituido por uno o más cloros, mucho más de preferencia 2,6-diclorofenilo.

 R¹¹ de preferencia representa arilo, más de preferencia fenilo.

15

 W de preferencia representa F.

 Los compuestos mucho más preferidos son aquellos seleccionados del siguiente grupo:

 Ácido 5-fluoro-3-[2-(5-metil-3-oxo-2-fenil-2,3-dihidro-piridazin-4-il)-butirilamino]-4-oxo-pentanoico (1);

20

 Ácido 3-[2-(2-bencil-5-metil-3-oxo-2,3-dihidro-piridazin-4-il)-butirilamino]-5-fluoro-4-oxo-pentanoico (2);

 Ácido 3-[2-(2-bencil-3-oxo-2,3-dihidro-piridazin-4-il)-butirilamino]-5-fluoro-4-oxo-pentanoico (3);

25 Ácido 3-[2-(2-bencil-5-cloro-3-oxo-2,3-dihidro-

piridazin-4-il)-butirilamino]-5-fluoro-4-oxo-pentanoico (4);

Ácido 3-[2-(2-bencil-5-metoxi-3-oxo-2,3-dihidro-
piridazin-4-il)-butirilamino]-5-fluoro-4-oxo-pentanoico (5);

Ácido 3-2-[2-(2-ter-butil-bencil)-3-oxo-2,3-
5 dihidro-piridazin-4-il]-butirilamino-5-fluoro-4-oxo-
pentanoico (6);

Ácido 3-2-[2-(3-ter-butil-bencil)-3-oxo-2,3-
dihidro-piridazin-4-il]-butirilamino-5-fluoro-4-oxo-
pentanoico (7);

10 Ácido 5-fluoro-3-2-[2-(2-metil-bencil)-3-oxo-2,3-
dihidro-piridazin-4-il]-butirilamino-4-oxo-pentanoico (8);

Ácido 5-fluoro-3-2-[2-(3-metil-bencil)-3-oxo-2,3-
dihidro-piridazin-4-il]-butirilamino-4-oxo-pentanoico (9);

Ácido 5-fluoro-3-2-[2-(3-metoxi-bencil)-3-oxo-2,3-
15 dihidro-piridazin-4-il]-butirilamino-4-oxo-pentanoico (10);

Ácido 5-fluoro-3-[2-(2-naftalen-1-ilmetil-3-oxo-
2,3-dihidro-piridazin-4-il)-butirilamino]-4-oxo-pentanoico
(11);

Ácido 5-fluoro-3-[2-(2-naftalen-2-ilmetil-3-oxo-
20 2,3-dihidro-piridazin-4-il)-butirilamino]-4-oxo-pentanoico
(12);

Ácido 5-fluoro-3-2-[2-(2-metil-oxazol-4-ilmetil)-3-
oxo-2,3-dihidro-piridazin-4-il]-butirilamino-4-oxo-pentanoico
(13);

25 Ácido 5-fluoro-3-2-[2-(2-metil-tiazol-4-ilmetil)-3-

oxo-2,3-dihidro-piridazin-4-il]-butirilamino-4-oxo-pentanoico
(14);

Ácido 3-2-[2-(3,5-dimetil-isoxazol-4-ilmetil)-3-oxo-2,3-dihidro-piridazin-4-il]-butirilamino-5-fluoro-4-oxo-
5 pentanoico (15);

Ácido 3-[2-(2-ciclohexilmetil-3-oxo-2,3-dihidro-piridazin-4-il)-butirilamino]-5-fluoro-4-oxo-pentanoico (16);

Ácido 5-fluoro-3-[2-(2-isoquinolin-1-ilmetil-3-oxo-2,3-dihidro-piridazin-4-il)-butirilamino]-4-oxo-pentanoico
10 (17);

Ácido 3-{2-[2-(2-cloro-bencil)-3-oxo-2,3-dihidro-piridazin-4-il]-butirilamino}-5-fluoro-4-oxo-pentanoico (18);

Ácido 3-{2-[2-(3-cloro-bencil)-3-oxo-2,3-dihidro-piridazin-4-il]-butirilamino}-5-fluoro-4-oxo-pentanoico (19);

15 Ácido 3-{2-[2-(3-bromo-bencil)-3-oxo-2,3-dihidro-piridazin-4-il]-butirilamino}-5-fluoro-4-oxo-pentanoico (20);

Ácido 5-fluoro-4-oxo-3-{2-[3-oxo-2-(2-trifluoro-metil-bencil)-2,3-dihidro-piridazin-4-il]-butirilamino}-
pentanoico (21);

20 Ácido 5-fluoro-4-oxo-3-{2-[3-oxo-2-(3-trifluoro-metil-bencil)-2,3-dihidro-piridazin-4-il]-butirilamino}-
pentanoico (22);

Éster (S)-3-{(R)-2-[2-(2-ter-butil-bencil)-3-oxo-2,3-dihidro-piridazin-4-il]-butirilamino}-4-carboxi-2-oxo-
25 butílico de ácido 2,6-dicloro-benzoico y éster (S)-3-{(S)-2-

[2-(2-ter-butil-bencil)-3-oxo-2,3-dihidro-piridazin-4-il]-
butirilamino}-4-carboxi-2-oxo-butílico de ácido 2,6-dicloro-
benzoico (23-1, 23-2);

Ácido (S)-3-{(R)-2-[2-(2-ter-butil-bencil)-3-oxo-
5 2,3-dihidro-piridazin-4-il]-butirilamino}-4-oxo-5-(2,3,5,6-
tetrafluoro-fenoxi)-pentanoico y ácido (S)-3-{(S)-2-[2-(2-
ter-butil-bencil)-3-oxo-2,3-dihidro-piridazin-4-il]-
butirilamino}-4-oxo-5-(2,3,5,6-tetrafluoro-fenoxi)-pentanoico
(24-1, 24-2);

10 Ácido (S)-3-{(R)-2-[2-(3-ter-butil-bencil)-3-oxo-
2,3-dihidro-piridazin-4-il]-butirilamino}-4-oxo-5-(2,3,5,6-
tetrafluoro-fenoxi)-pentanoico y ácido (S)-3-{(S)-2-[2-(3-
ter-butil-bencil)-3-oxo-2,3-dihidro-piridazin-4-il]-
butirilamino}-4-oxo-5-(2,3,5,6-tetrafluoro-fenoxi)-pentanoico
15 (25-1, 25-2);

Ácido (S)-3-{(R)-2-[2-(2-ter-butil-bencil)-3-oxo-
2,3-dihidro-piridazin-4-il]-butirilamino}-4-oxo-5-(2,3,6-
trifluoro-fenoxi)-pentanoico y

Ácido (S)-3-{(S)-2-[2-(2-ter-butil-bencil)-3-oxo-
20 2,3-dihidro-piridazin-4-il]-butiril-amino}-4-oxo-5-(2,3,6-
trifluoro-fenoxi)-pentanoico (26-1, 26-2);

Ácido (S)-3-{(R)-2-[2-(2-ter-butil-bencil)-3-oxo-
2,3-dihidro-piridazin-4-il]-butirilamino}-5-(2,6-difluoro-
fenoxi)-4-oxo-pentanoico y

25 Ácido (S)-3-{(S)-2-[2-(2-ter-butil-bencil)-3-oxo-

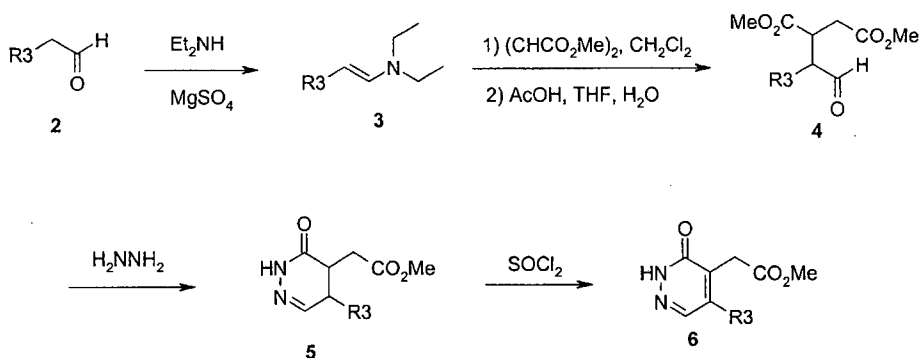
2,3-dihidro-piridazin-4-il]-butirilamino}-5-(2,6-difluoro-fenoxi)-4-oxo-pentanoico (27-1, 27-2); y

Ácido (S)-3-{2-[2-(2-ter-butil-bencil)-3-oxo-2,3-dihidro-piridazin-4-il]-butirilamino}-5-(difenil-fosfino-
5 iloxi)-4-oxo-pentanoico (28).

Los procesos para la preparación del derivado de piridazinona novedoso de la fórmula (1) que muestra una actividad inhibidora contra caspasas se representan en los siguientes Esquemas de Reacción 1 a 4. Sin embargo, aquellos
10 ilustrados en los siguientes Esquemas de Reacción representan solamente los procesos típicos utilizados en la presente invención. El orden de manipulación, reactivo, condición de reacción, solvente, etc. se pueden cambiar sin límite.

[Esquema de Reacción 1]

15

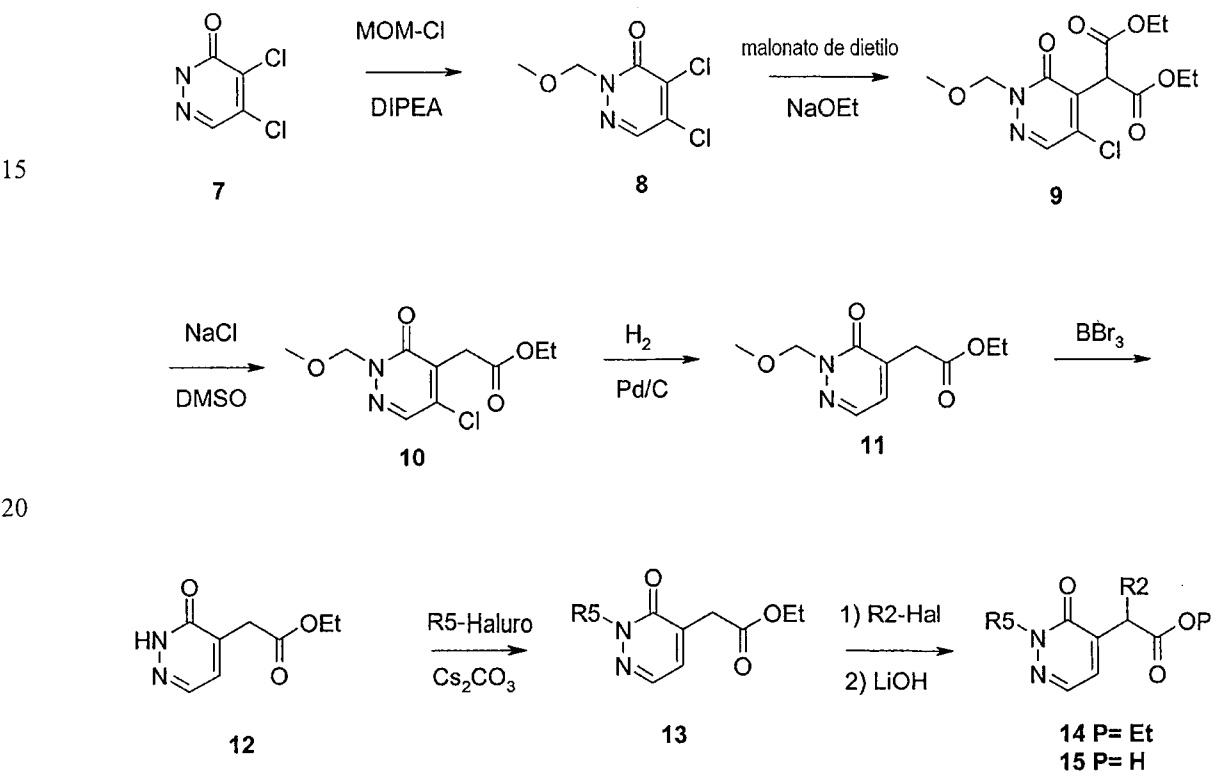


20

En el Esquema de Reacción 1 anterior, un alquilaldehído (2), por ejemplo propionaldehído, y una amina secundaria, por ejemplo dietilamina, son deshidratados en la presencia de sulfato de magnesio para dar un compuesto de
25 enamina (3). Esta enamina (3) se hace reaccionar con un

dialquilmaleato, por ejemplo dimetilmaleato, en un solvente adecuado, por ejemplo cloruro de metileno y se trata con ácido acético para dar un compuesto de aldehído (4). Luego, el compuesto de aldehído (4) e hidrato de hidrazina se hacen reaccionar en un solvente adecuado, por ejemplo etanol, para dar un compuesto de dihidropiridazinona (5). El compuesto de dihidropiridazinona (5) se oxida con un agente oxidante adecuado, por ejemplo cloruro de tionilo, en un solvente adecuado, por ejemplo cloruro de metileno, para dar el compuesto deseado de la estructura de piridazinona (6).

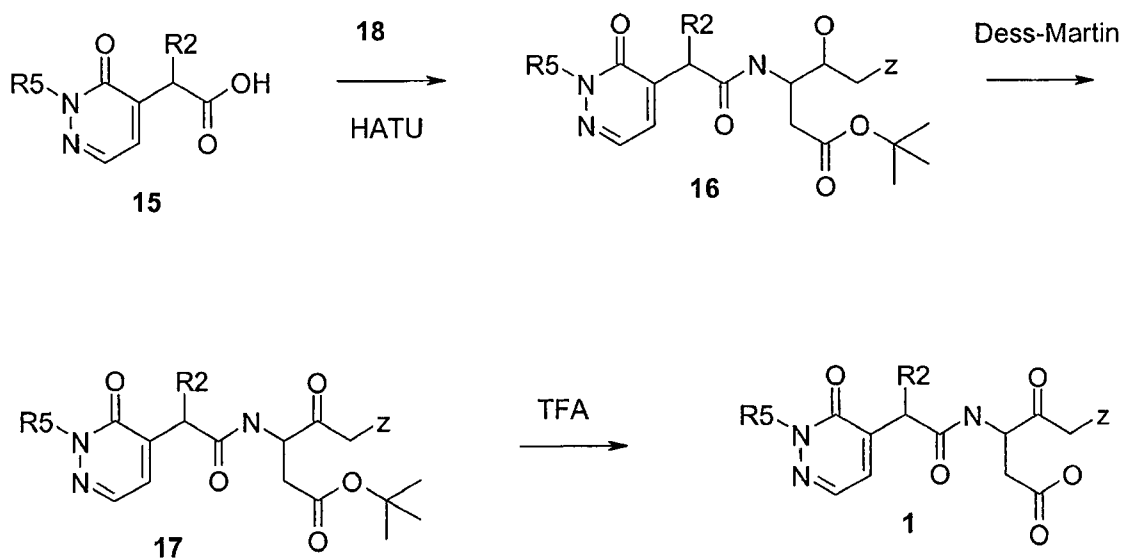
[Esquema de Reacción 2]



25 En el Esquema de Reacción 2 anterior, 4,5-dicloro-

3(2H)-piridazinona (7) se protege por el grupo protector de metoximetilo (8), y se hizo reaccionar con malonato de dietilo y etóxido de sodio para dar un derivado de malonato de dietilo (9). El derivado (9) se calienta con NaCl en DMSO para dar monoacetato (10). El monoacetato así obtenido (10) se trata con Pd/C bajo atmósfera de hidrógeno para sintetizar el derivado (11). Este derivado (11) se desprotege al utilizar BBr₃, y el derivado resultante (12) se hace reaccionar con un haluro de alquilo adecuado para dar el derivado (13). Este derivado (13) se hace reaccionar con LiHMDS y un haluro de alquilo adecuado para dar el derivado (14), el cual es además hidrolizado, si es necesario, para dar el derivado de ácido carboxílico (15) que no tiene el grupo protector.

[Esquema de Reacción 3]



En los Esquemas de Reacción 3 y 4, Z representa

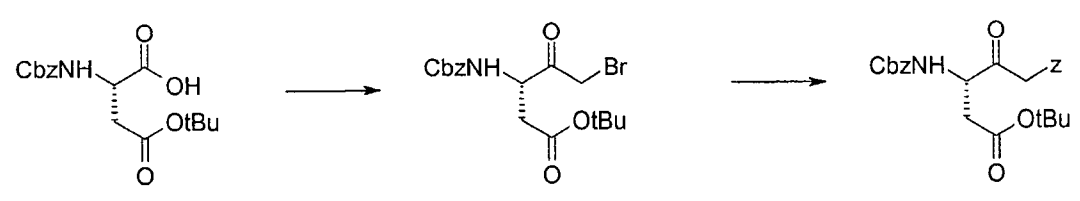
129

-OR⁹ (R⁹ es alquilo de C₁-C₅, cicloalquilo de C₃-C₁₀ o arilo),
-OC(=O)R¹⁰ (R¹⁰ es alquilo de C₁-C₅, cicloalquilo de C₃-C₁₀ o
arilo), o -W (W es halógeno).

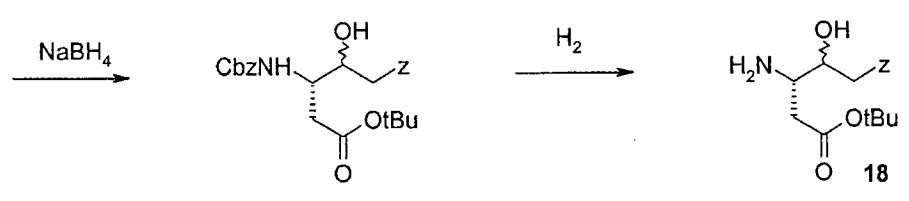
Como es representado en el Esquema de Reacción 3
5 anterior, el derivado de ácido carboxílico (15) se acopla con
el derivado de ácido aspártico (18) (ver el siguiente Esquema
de Reacción 4) para dar el compuesto (16), el cual luego se
somete a la reacción de oxidación de peryodeno de Dess-Martin
y la reacción de desprotección, si es
10 necesario, para dar el compuesto deseado de la
fórmula (1).

El grupo funcional Z en el compuesto (1) del
Esquema de Reacción 3 se puede formar primero al sintetizar
el compuesto (18) ya que tiene el grupo Z deseado de acuerdo
15 con el proceso del Esquema de Reacción 4, y al hacer
reaccionar el compuesto (18) con el compuesto de ácido
carboxílico (15) (ver el documento WO 00/23421). O, el grupo
Z deseado Z se puede introducir después de acuerdo con el
proceso del Esquema de Reacción 4 después el compuesto de
20 ácido carboxílico (15) se combina con el ácido aspártico (β -
t-Bu) éster metílico e hidrolizado. Cuando Z es F,
el compuesto racémico se puede preparar de acuerdo con un
método conocido en *Tetrahedron Letters*, 1994, 35(52),
9693-9696.

25 [Esquema de Reacción 4]



5



El compuesto de la fórmula (1) de acuerdo con la
10 presente invención tiene un amplio espectro de actividad
inhibidora contra caspasas como es demostrado por los
resultados de los siguientes Experimentos, y así tiene un
efecto para prevenir la inflamación y apoptosis. Así, la
presente invención proporciona una composición farmacéutica
15 para inhibir caspasas, específicamente una composición
terapéutica para prevenir la inflamación y apoptosis, que
comprende el compuesto de la fórmula (1) o sal
farmacéuticamente aceptable del mismo como un ingrediente
activo junto con el portador farmacéuticamente aceptable.
20 Específicamente, la composición de la presente invención
tiene un efecto terapéutico o de prevención para la demencia,
apoplejía cerebral, deterioro del cerebro debido al SIDA,
diabetes, úlcera gástrica, lesión cerebral por hepatitis,
enfermedades hepáticas inducidas por hepatitis, hepatitis
25 aguda, falla hepática fulminante, sepsis, rechazo de

transplante de órgano, artritis reumática, apoptosis celular cardiaca debido a enfermedad cardiacas isquémicas o cirrosis de hígado.

El compuesto de la fórmula (1) se puede formular en
5 varias formas farmacéuticas para el propósito de
administración. Para preparar la composición farmacéutica de
acuerdo con la presente invención, una cantidad efectiva del
compuesto de la fórmula (1) o sal farmacéuticamente aceptable
del mismo se mezcla con un portador farmacéuticamente
10 aceptable que puede tomar una amplia variedad de formas
dependiendo de la formulación que es preparada.

El compuesto inhibidor de caspasa se puede formular
como una inyección parenteral, o percutánea o preparación
oral, dependiendo de su propósito de aplicación. Es
15 especialmente ventajoso formular la composición en una forma
de dosificación unitaria para facilitar la administración y
uniformidad de dosificación.

Para la preparación oral, se puede utilizar
cualquier portador farmacéutico usual. Por ejemplo, agua,
20 glicoles, aceites, alcoholes y los similares se pueden
utilizar para tales preparaciones líquidas orales como
suspensiones, jarabes, elixires y soluciones; o almidones,
azúcares, kaolín, lubricantes, aglutinantes, agentes de
desintegración y los similares se pueden utilizar para tales
25 preparaciones sólidas como polvos, píldoras, cápsulas y

tabletas. Debido a su fácil administración, las tabletas y cápsulas son las formas unitarias de dosificación mucho más ventajosas. También es deseable que las tabletas y píldoras sean formuladas en la preparación de recubierta entérica.

5 Para la preparación parenteral, agua estéril es usualmente utilizada como el portador, aunque otros ingredientes tales como auxiliares de solubilidad se pueden utilizar. Las inyecciones, por ejemplo, suspensión acuosa o aceitosa esterilizada para inyección, se pueden preparar de
10 acuerdo con el procedimiento conocido utilizando agente de dispersión, agente de humectación o agente de suspensión. Los solventes que se pueden utilizar para preparar inyecciones incluyen agua, fluido de Ringer y solución de NaCl isotónica y también aceite fijo esterilizado puede ser convenientemente
15 utilizado como el solvente o medio de suspensión. Cualquier aceite fijo no estimulante que incluye mono- o di-glicérido se puede utilizar para este propósito. El ácido graso tal como ácido oleico también se puede utilizar para inyecciones.

 Para la administración percutánea, el portador
20 puede incluir un agente que aumenta la penetración y/o un agente humectante adecuado, opcionalmente combinado con aditivos adecuados que no tienen significativa irritación a la piel. Los aditivos pueden facilitar la administración a través de la piel y/o puede ayudar a la preparación de una
25 composición deseada. Estas preparaciones percutáneas se

administran por la vía de diversas maneras, por ejemplo, como un parche transdérmico, un manchado determinado o un ungüento.

Cuando el inhibidor de caspasa de la presente
5 invención se utiliza para el propósito clínico, éste es preferible para administrar al paciente sujeto en una cantidad que varía de 0.1 a 100 mg por kg de peso del cuerpo un día. La dosificación diaria total se puede administrar una vez o durante varias veces. Sin embargo, la dosificación de
10 administración específica para un paciente individual puede variar con el compuesto específico utilizado, peso del cuerpo, género, condición higiénica, o dieta del paciente sujeto, tiempo o método de administración, proporción de excreción, relación de mezclado del agente, severidad de la
15 enfermedad que es tratada, etc.

[Modalidades para Practicar la Invención]

La presente invención será más específicamente explicada por los siguientes ejemplos. Sin embargo, se debe entender que estos ejemplos se proponen para ilustrar la
20 presente invención pero no en alguna manera para limitar el alcance de la presente invención.

Preparación 1-1)

Éster metílico de ácido (5-metil-3-oxo-2,3,4,5-tetrahidro-piridazin-4-il)-acético

25 Sulfato de magnesio (3.6 kg, 30.0 mol) se introdujo

en dietilamina (6.6 kg, 90.0 mol), al cual se adicionó propionaldehído (1.76 kg, 30.3 mol) con mantenimiento de una temperatura de 0°C. La mezcla se calentó a temperatura ambiente, y se agitó durante 2.5 h. A esta mezcla se
5 introdujo 18 L de cloruro de metileno, la cual luego se enfrió a 0°C. Se adicionó dimetilmaleato (3.04 kg, 21.1 mol), y la mezcla resultante se agitó durante 20 h. La mezcla de reacción se filtró para remover el sólido, y el filtrado se destiló bajo presión reducida para dar el éster dimetílico de
10 ácido 3-dietilamino-4-metil-ciclobutano-1,2-dicarboxílico.

Al éster dimetílico de ácido 3-dietilamino-4-metil-ciclobutano-1,2-dicarboxílico crudo obtenido en lo anterior se adicionaron tetrahidrofurano (10 L) y agua destilada (5 L), ácido acético (2.54 kg, 42.3 mol) se adicionó al mismo y
15 la mezcla se agitó se agitó bajo reflujo durante 1 h. El tetrahidrofurano se removi6 mediante destilación bajo presión reducida. Se adicionó acetato de etilo al residuo, el cual luego se extrajo, se secó, se concentró de acuerdo con una manera convencional para dar el éster dimetílico de ácido 2-
20 (1-metil-2-oxo-etil)succínico crudo (3.44 kg).

A este éster dimetílico de ácido 2-(1-metil-2-oxo-etil)succínico se adicionó etanol (13 L), el cual se enfrió a 0°C . Se adicionó ácido acético (1.2 kg, 20 mol) con mantenimiento de temperatura. A la mezcla de reacción se
25 adicionó hidrato de hidrazina (1.08 kg, 21.6 mol), la cual se

calentó a temperatura ambiente y se agitó durante 16 h. Se
removió etanol mediante destilación bajo presión reducida, se
adicionó cloruro de metileno al residuo, el cual luego se
extrajo, se secó, se concentró de acuerdo con una manera
5 convencional para dar el compuesto del título (2.80 kg,
Rendimiento: 51%).

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , 500 MHz) δ D 8.39 (br s, 1H), 7.17
(d, 0.5H), 6.94 (s, 0.5H), 3.71 (d, 3H), 3.20-3.15 (m, 0.5H),
3.03-2.98 (m, 0.5H), 2.78-2.73 (m, 1H), 2.67-2.61 (m, 1H),
10 2.39-2.34 (m, 0.5H), 1.24 (d, 0.5H), 1.01 (d, 1.5H)

Preparación 1-2)

**Éster metílico de ácido (5-metil-3-oxo-2,3-dihidro-
piridazin-4-il)-acético**

Al compuesto de Preparación 1-1) (2.70 kg, 14.7
15 mol) se adicionó cloruro de metileno (27 L), el cual luego se
enfrió a 0°C. Se adicionó cloruro de tionilo (2.08 kg, 17.6
mol) al mismo durante 40 min. La mezcla se calentó a
temperatura ambiente y se agitó durante 4.5 h. A la mezcla de
reacción se adicionaron 20 kg de solución de cloruro de sodio
20 acuoso al 10% y 16 kg de cloruro de metileno. La capa
orgánica obtenida mediante la separación de fase se secó, se
concentró de acuerdo con una manera convencional para dar el
compuesto del título (1.72 kg, Rendimiento: 64%) como un
sólido amarillo pálido.

25 $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , 500 MHz) δ 12.08 (br s, 1H), 7.66 (s,

1H), 3.70 (s, 3H), 3.68 (s, 2H), 2.19 (s, 3H)

Preparación 1-3)

Éster metílico de ácido (5-metil-3-oxo-2-fenil-2,3-dihidro-piridazin-4-il)-acético

5 A una mezcla del compuesto de la Preparación 1-2) (182 mg, 1.0 mmol), se adicionó ácido fenilborónico (244 mg, 2.0 eq), Cu(OAc)₂·H₂O (40 mg, 0.2 eq), piridina (0.16 mL, 2.0 eq), TEMPO (172 mg, 1.1 eq) y tamiz molecular (120 mg, 4A, polvo, pre-secado) CH₂Cl₂ (10 mL), la cual luego se agitó
10 durante 1 h a temperatura ambiente bajo gas de nitrógeno. La mezcla de reacción se expuso al aire y se agitó durante un día. Se adicionó acetato de amonio saturado (30 mL) al mismo y la mezcla se extrajo dos veces con acetato de etilo (100 mL). El extracto se lavó con solución diluida de hidrógeno
15 carbonato de sodio (NaHCO₃, 100 mL x 2), se secó (Na₂SO₄ anhidro) y se concentró bajo presión reducida. El residuo se separó mediante la cromatografía en columna (acetato de etilo-hexano al 20-35%) para dar 258 mg del compuesto del título en un rendimiento estequiométrico.

20 ¹H-NMR (500MHz, CDCl₃) δ 7.75(s, 1H), 7.58 (d, 2H), 7.44(t, 2H), 7.36(t, 1H), 3.70(s, 3H), 3.68(s, 2H), 2.25(s, 3H)

Preparación 1-4)

Éster metílico de ácido 2-(5-metil-3-oxo-2-fenil-2,3-dihidro-piridazin-4-il)-butírico

25

135

El compuesto de la Preparación 1-3) (258 mg, 1.0 mmol) se disolvió en THF anhidro (10 mL) bajo atmósfera de nitrógeno y se mantuvo a una temperatura de -78°C . Se adicionó LiHMDS 1.0M/THF (1.20 mL, 1.2 eq) al mismo y la
5 mezcla se agitó durante 10 min. Se adicionó yoduro de etilo (0.12 mL, 1.5 eq) y la mezcla se calentó lentamente a temperatura ambiente, con agitación durante la noche. Se adicionó agua (20 mL) y la mezcla se extrajo con acetato de etilo (50 mL x 2), se lavó con solución de cloruro de sodio
10 acuoso (100 mL), se secó (Na_2SO_4 anhidro) y se concentró bajo presión reducida para dar 286 mg del compuesto del título en un rendimiento estequiométrico. Este compuesto se utilizó en la siguiente reacción sin purificación adicional.

^1H -NMR (500MHz, CDCl_3) δ 7.72(s, 1H), 7.60(d, 2H),
15 7.44(t, 2H), 7.35(t, 1H), 3.77(dd, 1H), 3.70(s, 3H), 2.28(m, 1H), 2.26(s, 3H), 1.90(m, 1H), 0.92(t, 3H)

Preparación 1-5)

**Ácido 2-(5-metil-3-oxo-2-fenil-2,3-dihidro-
piridazin-4-il)-butírico**

20 El compuesto de la Preparación 1-4) (286 mg) se disolvió en una mezcla de solvente (6 mL, tetrahidrofurano:MeOH:H₂O = 3:2:1), se adicionó LiOH.H₂O (126 mg, 3.0 eq) al mismo y la mezcla se calentó durante aproximadamente 2 h con agitación. La solución de reacción se
25 neutralizó mediante solución de ácido clorhídrico acuoso 1N y

se destiló bajo presión reducida para remover casi completamente el tetrahidrofurano. El residuo se disolvió en exceso de acetato de etilo (50 mL), se lavó con solución de cloruro de sodio acuoso, se secó (Na_2SO_4 anhidro) y se concentró bajo presión reducida para dar el compuesto del título (272 mg) en un rendimiento estequiométrico. Este compuesto se utilizó en la siguiente reacción sin purificación adicional.

Preparación 1-6)

10 **Éster ter-butílico de ácido 5-fluoro-3-[2-(5-metil-3-oxo-2-fenil-2,3-dihidro-piridazin-4-il)-butirilamino]-4-oxo-pentanoico**

Una mezcla del derivado de ácido carboxílico de la Preparación 1-5) (271 mg, 1.00 mmol), éster ter-butílico de ácido 3-amino-5-fluoro-4-hidroxipentanoico (ver *Tetrahedron Letters*, 1994, 35(52), 9693-9696, 248 mg, 1.2 eq) y HATU (494 mg, 1.3 eq) se enfrió a 0°C, se adicionó trietilamina (0.56 mL, 4.0 eq) a la misma en solvente de DMF (5 mL) y la mezcla se hizo reaccionar durante un día. El solvente se destiló bajo presión reducida. El residuo se extrajo con acetato de etilo (30 mL x 2), se lavó con agua, solución de hidrógeno carbonato de sodio acuoso y solución de cloruro de sodio acuoso, se secó (Na_2SO_4 anhidro) y se concentró bajo presión reducida. A este compuesto y el reactivo Dess-Martin (848 mg, 2.0 eq) se adicionó diclorometano anhidro (4 mL), el cual

15
20
25

2/2
9364

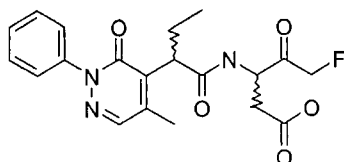
137

luego se agitó durante 1 h a temperatura ambiente. La
reacción se detuvo mediante alcohol isopropílico (1 mL). El
sólido se removió mediante filtración de celite bajo presión
reducida y se extrajo con acetato de etilo (20 mL x 2). El
5 extracto se lavó con agua, solución de hidrógeno carbonato de
sodio acuoso, saturado y solución de cloruro de sodio acuoso,
se secó (Na_2SO_4 anhidro) y se concentró bajo presión reducida.
El residuo se separó mediante la cromatografía en columna
(acetato de etilo-hexano al 30-40%) para dar 330 mg (72%) del
10 compuesto del título.

$^1\text{H-NMR}$ (500MHz, CDCl_3) δ 7.79(br m, 1H), 7.62(m,
1H), 7.50-7.25(m, 5H), 5.20-4.80(m, 2H), 4.80-4.68(m, 1H),
3.75(m, 1H), 2.88-2.57(m, 2H), 2.26(s, 3H), 2.26-1.98(m, 2H),
1.41(m, 9H), 0.87(m, 3H)

15 **Ejemplo 1)**

**Ácido 5-fluoro-3-[2-(5-metil-3-oxo-2-fenil-2,3-
dihidro-piridazin-4-il)-butirilamino]-4-oxo-pentanoico**



20

El compuesto de la Preparación 1-6) (100 mg, 0.218
mmol) se disolvió en diclorometano (4 mL) y se adicionó ácido
trifluoroacético (2 mL) a 0°C. La mezcla se agitó durante 1
h, durante lo cual se calentó lentamente a temperatura
25 ambiente. La mezcla se concentró bajo presión reducida y se

separó mediante la cromatografía en columna (metanol al 10%-diclorometano) para dar 68 mg (78%) del compuesto del título.

$^1\text{H-NMR}$ (500MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 7.93(m, 1H), 7.84(br s, 1H), 7.45-7.37(m, 5H), 5.03(m, 2H), 4.57-4.49(m, 1H), 3.69(m, 1H), 2.68-2.47(m, 2H), 2.19(s, 3H), 2.08-1.68(m, 2H), 0.76(m, 3H)

Masa $\text{M}+\text{H}^+$ 402.74

Preparación 2-1)

Éster metílico de ácido (2-bencil-5-metil-3-oxo-
10 2,3-dihidro-piridazin-4-il)-acético

A una mezcla del compuesto de Preparación 1-2) (364 mg, 2.0 mmol) y Cs_2CO_3 (977 mg, 1.5 eq) se adicionaron DMF (8 mL) y bromuro de bencilo (0.31 mL, 1.3 eq), la cual luego se agitó durante 3 h a 60°C bajo atmósfera de nitrógeno. La
15 mezcla se concentró bajo presión reducida y el residuo se extrajo dos veces con acetato de etilo (100 mL). El extracto se lavó con solución de hidrógeno carbonato de sodio acuoso, saturado (NaHCO_3 , 100 mL x 2) y solución de cloruro de sodio acuoso, se secó (Na_2SO_4 anhidro) y se concentró bajo presión
20 reducida. El residuo se separó mediante la cromatografía en columna (acetato de etilo al 30%-hexano) para dar 484 mg (89%) del compuesto del título.

$^1\text{H-NMR}$ (500MHz, CDCl_3) δ 7.61(s, 1H), 7.39(d, 2H), 7.35-7.26(m, 3H), 5.29(s, 2H), 3.70 (s, 3H), 3.65(s, 2H),
25 2.15(s, 3H)

Preparación 2-2)**Éster metílico de ácido 2-(2-bencil-5-metil-3-oxo-2,3-dihidro-piridazin-4-il)-butírico**

El compuesto de la Preparación 2-1) (471 mg, 1.73 mmol) se disolvió en THF anhidro (6 mL) bajo atmósfera de nitrógeno y se mantuvo a -78°C. LiHMDS 1.0M/THF (2.10 mL, 1.2 eq) se adicionó al mismo y la mezcla se agitó durante 10 min. Se adicionó yoduro de etilo (0.21 mL, 1.5 eq) y la mezcla se calentó lentamente a temperatura ambiente con agitación durante la noche. La reacción se detuvo mediante solución de acetato de amonio saturado. La mezcla de reacción se extrajo con acetato de etilo (50 mL x 2), se lavó con solución de cloruro de sodio acuoso (100 mL), se secó (Na₂SO₄ anhidro) y se concentró bajo presión reducida. El residuo se separó mediante la cromatografía en columna (acetato de etilo al 20%-hexano) para dar 400 mg (77%) del compuesto del título.

¹H-NMR (500MHz, CDCl₃) δ 7.57(s, 1H), 7.37(d, 2H), 7.30-7.25(m, 3H), 5.38 & 5.17(dos d, J = 13.5Hz, 2H), 3.70(s, 3H), 3.69(dd, 1H), 2.25(m, 1H), 2.17(s, 3H), 1.84(m, 1H), 0.87(t, 3H)

Preparación 2-3)**Ácido 2-(2-bencil-5-metil-3-oxo-2,3-dihidro-piridazin-4-il)-butírico**

El compuesto de la Preparación 2-2) (400 mg, 1.31 mmol) se disolvió en una mezcla de solvente (6 mL,

tetrahidrofurano:MeOH:H₂O = 3:2:1), LiOH.H₂O (165 mg, 3.0 eq) se adicionó al mismo y la mezcla se calentó durante aproximadamente 2 h mientras agitación. La mezcla de reacción se neutralize mediante solución de ácido clorhídrico acuoso
 5 1N, se destiló bajo presión reducida para remover casi completamente el tetrahidrofurano. El residuo se disolvió en exceso de acetato de etilo (50 mL), se lavó con solución de cloruro de sodio acuoso, se secó (Na₂SO₄ anhidro) y se concentró bajo presión reducida para dar 356 mg (Rendimiento
 10 al 100%) del compuesto del título. Este compuesto se utilizó en la siguiente reacción sin purificación adicional.

Preparación 2-4)

Éster ter-butílico de ácido 3-[2-(2-bencil-5-metil-
 3-oxo-2,3-dihidro-piridazin-4-il)-butirilamino]-5-fluoro-4-
 15 oxo-pentanoico

Una mezcla del derivado de ácido carboxílico de la Preparación 2-3) (153 mg, 0.535 mmol), éster ter-butílico de ácido 3-amino-5-fluoro-4-hidroxi-pentanoico (ver *Tetrahedron Letters*, 1994, 35(52), 9693-9696, 133 mg, 1.2 eq) y HATU (265
 20 mg, 1.3 eq) se enfrió a 0°C, trietilamina (0.30 mL, 4.0 eq) se adicionó a la misma en solvente de DMF (5 mL) y la mezcla se hizo reaccionar durante un día. El solvente se destiló bajo presión reducida. El residuo se extrajo con acetato de etilo (30 mL x 2), se lavó con agua, solución de hidrógeno
 25 carbonato de sodio acuoso y solución de cloruro de sodio

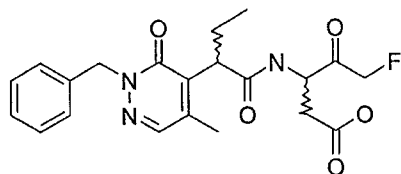
141

acuoso, se secó (Na_2SO_4 anhidro) y se concentró bajo presión reducida. El residuo se separó mediante la cromatografía en columna (acetato de etilo-hexano al 40-60%) para dar 233 mg (92%) del éster ter-butílico de ácido 3-[2-(2-bencil-5-metil-3-oxo-2,3-dihidro-piridazin-4-il)butirilamino]-5-fluoro-4-hidroxi-pentanoico. A este compuesto y el reactivo Dess-Martin (312 mg, 3.0 eq) se adicionó diclorometano anhidro (4 mL), el cual luego se agitó durante 1 h a temperatura ambiente. La reacción se detuvo mediante alcohol isopropílico (1 mL). El sólido se removió mediante filtración de celite bajo presión reducida y se extrajo con acetato de etilo (20 mL x 2). El extracto se lavó con agua, solución de hidrógeno carbonato de sodio acuoso, saturado y solución de cloruro de sodio acuoso, se secó (Na_2SO_4 anhidro) y se concentró bajo presión reducida. El residuo se separó mediante la cromatografía en columna (acetato de etilo-hexano al 30-40%) para dar 201 mg (79%) del compuesto del título.

$^1\text{H-NMR}$ (500MHz, CDCl_3) δ 8.13(br s, 1H), 7.62(s, 1H), 7.38-7.25(m, 5H), 5.38-5.20(m, 2H), 5.20-4.80(m, 2H), 4.80-4.68(m, 1H), 3.76(m, 1H), 2.88-2.57(m, 2H), 2.26(s, 3H), 2.26-1.98(m, 2H), 1.41(m, 9H), 0.87(m, 3H)

Ejemplo 2)

Ácido 3-[2-(2-bencil-5-metil-3-oxo-2,3-dihidro-piridazin-4-il)-butirilamino]-5-fluoro-4-oxo-pentanoico



10

15

2-Bencil-4,5-dicloro-2H-piridazin-3-ona

20

25

acuoso, se secó (Na_2SO_4 anhidro) y se concentró bajo presión reducida. El residuo se separó mediante la cromatografía en columna (acetato de etilo al 10%-hexano) para dar 4.48 g (88%) del compuesto del título.

5 ^1H -NMR (500MHz, CDCl_3) δ 7.77(s, 1H), 7.43(d, 2H), 7.35-7.30(m, 3H), 5.32(s, 2H)

Preparación 3-2)

Éster etílico de ácido (2-bencil-5-cloro-3-oxo-2,3-dihidro-piridazin-4-il)-acético

10 Dietilmalonato (1.73 g, 1.64 mL, 2.5 eq) se disolvió en éter isopropílico (2 mL), se adicionó etóxido de sodio (0.73 g, 2.5 eq) al mismo a temperatura ambiente y la mezcla se agitó durante 30 min. A la mezcla de reacción se adicionó el compuesto de la Preparación 3-1) (1.10 g, 4.31
15 mmol), la cual luego se calentó a reflujo durante un día. La mezcla se extrajo con acetato de etilo (50 mL x 2), se lavó con solución de cloruro de sodio acuoso (100 mL), se secó (Na_2SO_4 anhidro) y se concentró bajo presión reducida. El residuo se separó mediante la cromatografía en columna
20 (acetato de etilo-hexano al 10-20%) para dar 1.34 g (82%) de una mezcla 1:1 de éster dietílico de ácido 2-(2-bencil-5-cloro-3-oxo-2,3-dihidro-piridazin-4-il)-malónico y éster dietílico de ácido 2-(1-bencil-5-cloro-6-oxo-1,6-dihidro-piridazin-4-il)-malónico. Esta mezcla se disolvió en 12 mL de
25 una mezcla de solvente (H_2O :DMSO =1:5), se adicionó NaCl (1.0

g, 5 eq) a la misma y la mezcla se calentó a 120°C durante un día. La mezcla se concentró bajo presión reducida y el residuo se extrajo dos veces con acetato de etilo (200 mL). El extracto se lavó con agua, solución de hidrógeno carbonato de sodio saturado (NaHCO₃, 100 mL x 2) y solución de cloruro de sodio acuoso, se secó (Na₂SO₄ anhidro) y se concentró bajo presión reducida. El residuo se separó mediante la cromatografía en columna (acetato de etilo-hexano al 10-20%) para dar 530 mg (49%) del compuesto del título.

10 ¹H-NMR (500MHz, CDCl₃) δ 7.76(s, 1H), 7.39(d, 2H), 7.33-7.26(m, 3H), 5.29(s, 2H), 4.17(qt, 2H), 3.75(s, 2H), 1.24(t, 3H)

Preparación 3-3)

15 **Éster etílico de ácido (2-bencil-3-oxo-2,3-dihidropiridazin-4-il)-acético**

El compuesto de la Preparación 3-2) (1.15 g, 3.75 mmol) se disolvió en 30 mL de EtOH, se adicionó Pd al 10%/C (200 mg, Aldrich) y la mezcla se agitó durante 3 h bajo atmósfera de nitrógeno. La mezcla de reacción se pasó a través de celite, se lavó dos veces con etanol y el extracto de etanol se concentró bajo presión reducida para dar 1.00 g (98%) del compuesto del título.

20 ¹H-NMR (500MHz, CDCl₃) δ 7.74(d, 1H), 7.42(d, 2H), 7.33-7.26(m, 3H), 7.17(d, 1H), 5.33(s, 2H), 4.18(qt, 2H), 3.59(s, 2H), 1.25(t, 3H)

145

Preparación 3-4)

Éster etílico de ácido 2-(2-bencil-3-oxo-2,3-dihidro-piridazin-4-il)-butírico

El compuesto de la Preparación 3-3) (272 mg, 1.00 mmol) se disolvió en THF anhidro (5 mL) bajo atmósfera de nitrógeno y se mantuvo a una temperatura de -78°C. Se adicionó LiHMDS 1.0M/THF (1.50 mL, 1.5 eq) al mismo y la mezcla se agitó durante 10 min. Se adicionó yoduro de etilo (0.14 mL, 1.8 eq) y la mezcla se calentó lentamente a temperatura ambiente, con agitación durante la noche. La reacción se detuvo mediante solución de acetato de amonio saturado. La mezcla de reacción se extrajo con acetato de etilo (50 mL x 2), se lavó con solución de cloruro de sodio acuoso (100 mL), se secó (Na₂SO₄ anhidro) y se concentró bajo presión reducida. El residuo se separó mediante la cromatografía en columna (acetato de etilo/hexano al 10-20%) para dar 220 mg (73%, aceite) del compuesto del título.

¹H-NMR (500MHz, CDCl₃) δ 7.74(d, 1H), 7.42(d, 2H), 7.33-7.26(m, 3H), 7.17(d, 1H), 5.32(ABq, 2H), 4.18-4.10(m, 2H), 3.87(t, 2H), 2.01-1.77(m, 2H), 1.21(t, 3H), 0.95(t, 3H)

Preparación 3-5)

Éster ter-butílico de ácido 3-[2-(2-bencil-3-oxo-2,3-dihidro-piridazin-4-il)-butirilamino]-5-fluoro-4-oxo-pentanoico

El compuesto de la Preparación 3-4) se hidrolizó de

146

acuerdo con el mismo procedimiento como la Preparación 2-3) para dar el derivado de ácido carboxílico. Una mezcla de este derivado de ácido carboxílico (205 mg, 0.683 mmol), éster ter-butílico de ácido 3-amino-5-fluoro-4-hidroxi-pentanoico
5 (ver *Tetrahedron Letters*, 1994, 35(52), 9693-9696, 170 mg, 1.2 eq) y HATU (337 mg, 1.3 eq) se enfrió a 0°C, se adicionó trietilamina (0.38 mL, 4.0 eq) al mismo en solvente de DMF (5 mL) y la mezcla se hizo reaccionar durante un día. El solvente se destiló bajo presión reducida. El residuo se
10 extrajo con acetato de etilo (30 mL x 2), se lavó con agua, solución de hidrógeno carbonato de sodio acuoso y solución de cloruro de sodio acuoso, se secó (Na₂SO₄ anhidro) y se concentró bajo presión reducida para dar éster ter-butílico de ácido 3-[2-(2-bencil-3-oxo-2,3-dihidro-piridazin-4-
15 il)butirilamino]-5-fluoro-4-hidroxi-pentanoico. A este compuesto y el reactivo Dess-Martin (580 mg, 2.0 eq) se adicionó diclorometano anhidro (4 mL), el cual luego se agitó durante 1 h a temperatura ambiente. La reacción se detuvo mediante alcohol isopropílico (1 mL). El sólido se removi
20 mediante filtración de celite bajo presión reducida y se extrajo con acetato de etilo (20 mL x 2). El extracto se lavó con agua, solución de hidrógeno carbonato de sodio acuoso, saturado y solución de cloruro de sodio acuoso, se secó (Na₂SO₄ anhidro) y se concentró bajo presión reducida. El
25 residuo se separó mediante la cromatografía en columna

147

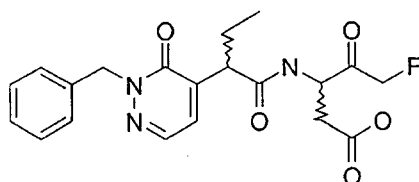
(acetato de etilo-hexano al 20-30%) para dar 242 mg (77%) del compuesto del título.

$^1\text{H-NMR}$ (500MHz, CDCl_3) δ 7.79 (m, 1H), 7.56 (m, 1H), 7.42-7.27 (m, 5H), 7.14 (m, 1H), 5.40-5.27 (m, 2H), 5.22-4.67 (m, 3H), 3.76 (m, 1H), 2.93-2.56 (m, 2H), 2.16 (m, 1H), 1.69 (m, 1H), 1.42 & 1.38 (dos s, 9H), 0.95 (m, 3H)

Ejemplo 3)

Ácido 3-[2-(2-bencil-3-oxo-2,3-dihidro-piridazin-4-il)-butirilamino]-5-fluoro-4-oxo-pentanoico

10



El compuesto de la Preparación 3-5) (242 mg, 0.527 mmol) se hizo reaccionar de acuerdo con el mismo procedimiento como el Ejemplo 2) para dar 195 mg (92%) del compuesto del título.

$^1\text{H-NMR}$ (500MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 12.40 (br s, 1H), 8.70 (m, 1H), 7.87 (m, 1H), 7.27-7.24 (m, 6H), 5.25-5.16 (m, 2H), 5.21 (m, 2H), 4.58-4.47 (m, 1H), 3.64 (m, 1H), 2.69-2.47 (m, 2H), 1.72-1.62 (m, 2H), 0.82 (m, 3H)

Preparación 4-1)

Éster etílico de ácido 2-(2-bencil-5-cloro-3-oxo-2,3-dihidro-piridazin-4-il)-butírico

El compuesto de la Preparación 3-2) (170 mg, 0.554 mmol) se hizo reaccionar de acuerdo con el mismo

25

148

procedimiento como la Preparación 3-4) para dar 137 mg (74%) del compuesto del título.

$^1\text{H-NMR}$ (500MHz, CDCl_3) δ 7.74(s, 1H), 7.38-7.26(m, 5H), 5.37-5.17(ABq, 2H), 4.18-4.02(m, 2H), 3.91
5 (dd, 1H), 2.27(m, 1H), 1.90(m, 1H), 1.08(t, 3H), 0.89
(t, 3H)

Preparación 4-2)

Ácido 2-(2-bencil-5-cloro-3-oxo-2,3-dihidro-
piridazin-4-il)-butírico y

10 Ácido 2-(2-bencil-5-metoxi-3-oxo-2,3-dihidro-
piridazin-4-il)-butírico

El compuesto de la Preparación 4-1) (132 mg, 0.395 mmol) se disolvió en una mezcla de solvente (6 mL, tetrahidrofurano:MeOH:H₂O = 3:2:1), se adicionó LiOH.H₂O (50
15 mg, 3.0 eq) al mismo y la mezcla se agitó durante un día. La mezcla de reacción se neutralizó mediante solución de ácido clorhídrico acuoso 1N y se destiló bajo presión reducida para remover casi completamente el tetrahidrofurano. El residuo se
disolvió en exceso de acetato de etilo (50 mL), se lavó con
20 solución de cloruro de sodio acuoso, se secó (Na_2SO_4 anhidro) y se concentró bajo presión reducida para dar 118 mg del compuesto del título, el cual luego se identificó mediante la NMR que es una mezcla del derivado de cloro y el derivado de metoxi en una reacción de 0.4:1.0. Estos compuestos se
25 utilizaron en la siguiente reacción sin purificación

adicional.

Preparación 4-3).

Éster ter-butílico de ácido 3-[2-(2-bencil-5-cloro-3-oxo-2,3-dihidro-piridazin-4-il)-butirilamino]-5-fluoro-4-oxo-pentanoico y

Éster ter-butílico de ácido 3-[2-(2-bencil-5-metoxi-3-oxo-2,3-dihidro-piridazin-4-il)-butirilamino]-5-fluoro-4-oxo-pentanoico

Los dos compuestos obtenidos en la Preparación 4-2) se hicieron reaccionar de acuerdo con el mismo procedimiento como la Preparación 2-4), y se separaron mediante la cromatografía en columna (acetato de etilo-hexano al 30-50%) para dar el derivado de cloro (45 mg, 23%) y el derivado de metoxi (62 mg, 32%).

Derivado de cloro

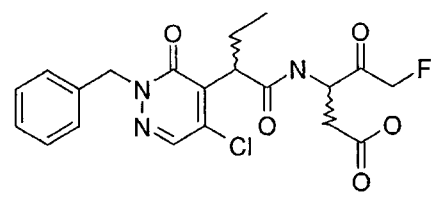
¹H-NMR (500MHz, CDCl₃) δ 7.78(s, 1H), 7.70(m, 1H), 7.42-7.27(m, 5H), 5.35-4.86(m, 4H), 4.78-4.67(m, 1H), 4.01(m, 1H), 2.94-2.62(m, 2H), 2.28-2.06(m, 2H), 1.69(m, 1H), 1.42 & 1.41 (dos s, 9H), 0.89(m, 3H)

Derivado de metoxi

¹H-NMR (500MHz, CDCl₃) δ 8.14-8.03(br m, 1H), 7.84(m, 1H), 7.40-7.26(m, 5H), 5.40-4.70(m, 5H), 3.94(dos s, 3H), 3.94(m, 1H), 2.88-2.58(m, 2H), 2.26-1.90(m, 2H), 1.42 & 1.40(dos s, 9H), 0.86(m, 3H)

Ejemplo 4)

Ácido 3-[2-(2-bencil-5-cloro-3-oxo-2,3-dihidropiridazin-4-il)-butirilamino]-5-fluoro-4-oxo-pentanoico



5

El compuesto de cloro de la Preparación 4-3) (45 mg, 0.091 mmol) se hizo reaccionar de acuerdo con el mismo procedimiento como el Ejemplo 2) para dar 23 mg (58%) del compuesto del título.

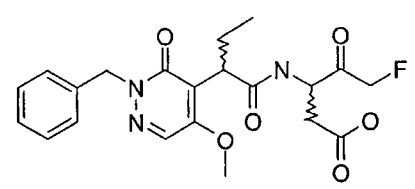
10

¹H-NMR (500MHz, DMSO-d₆) δ 8.17(s, 1H), 7.97(m, 1H), 7.40-7.23(m, 5H), 5.36-5.29(m, 1H), 5.29-4.70(m, 2H), 5.09-5.05(m, 1H), 4.52-4.43(m, 1H), 3.74(m, 1H), 2.67-2.46(m, 2H), 2.10-1.74(m, 2H), 0.73(m, 3H)

Ejemplo 5)

15

Ácido 3-[2-(2-bencil-5-metoxi-3-oxo-2,3-dihidropiridazin-4-il)-butirilamino]-5-fluoro-4-oxo-pentanoico



20

El compuesto de metoxi de la Preparación 4-3) (62 mg, 0.127mmol) se hizo reaccionar de acuerdo con el mismo procedimiento como el Ejemplo 2) para dar 28 mg (51%) del compuesto del título.

25

¹H-NMR (500MHz, DMSO-d₆) δ 8.17(s, 1H), 7.89-7.81(m, 1H), 7.26-7.21(m, 5H), 5.34-5.09(Ab q, 2H), 5.29-4.70(m, 2H),

4.52-4.40 (m, 1H), 3.90 (d, 3H), 3.62 (m, 1H), 2.65-2.46 (m, 2H),
1.97-1.64 (m, 2H), 0.68 (m, 3H)

Preparación 6-1)

4,5-Dicloro-2-metoximetil-2H-piridazin-3-ona

5 4,5-Dicloro-2H-piridazin-3-ona (30 g, 182 mmol),
N,N-diisopropiletilamina (47.5 mL, 258 mmol) y 4-
dimetilaminopiridina (2.20 g, 18.2 mmol) se disolvieron en
200 mL de cloruro de metileno, al cual se adicionó lentamente
gota a gota éter clorometil metílico (16.6 mL, 21.8 mmol)
10 mientras que se mantiene a 0°C. La mezcla se agitó durante 3
h a temperatura ambiente. La solución de reacción se lavó con
solución de hidrógeno carbonato de sodio acuoso, saturado, se
destiló bajo presión reducida y se separó, se purificó
mediante la cromatografía en columna (cloruro de metileno al
15 10%/acetato de etilo) para dar el compuesto del título (26.6
g, Rendimiento: 70%) como un sólido amarillo.

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , 400 MHz) δ 7.81 (s, 1H), 5.45 (s, 2H),
3.48 (s, 3H)

Preparación 6-2)

20 Éster dietílico de ácido 2-(5-cloro-2-metoximetil-
3-oxo-2,3-dihidro-piridazin-4-il)-malónico y éster dietílico
de ácido 2-(5-cloro-1-metoximetil-6-oxo-1,6-dihidro-
piridazin-4-il)-malónico

El compuesto de la Preparación 6-1) (26.6 g, 127
25 mmol) y etóxido de sodio (13 g, 191 mmol) se suspendieron en

éter diisopropílico (100 mL) y se agitó durante 30 min. Se
adicionó malonato de dietilo (29.0 mL, 191 mmol) al mismo y
la mezcla se calentó a reflujo durante un día. Después de la
terminación de la reacción, la mezcla se destiló bajo presión
5 reducida para remover el éter diisopropílico. El residuo se
disolvió nuevamente en cloruro de metileno, se lavó con ácido
clorhídrico 1 N y solución de hidrógeno carbonato de sodio
acuoso, saturado y se destiló bajo presión reducida. El
residuo se separó mediante la cromatografía en columna
10 (acetato de etilo/hexano al 14.3%) para dar la mezcla del
título en una relación de 1:1 (32 g, Rendimiento: 76%) como
un líquido amarillo pálido.

Preparación 6-3)

Éster etílico de ácido (5-cloro-2-metoximetil-3-
15 oxo-2,3-dihidro-piridazin-4-il)-acético

El compuesto de la Preparación 6-2) (32.0 g, 96.2
mmol) y cloruro de sodio (228 g, 481 mmol) se disolvieron en
agua/sulfóxido de dimetilo (120 mL, 1/5) y se agitó durante
16 h a 170°C. El sulfóxido de dimetilo se removió mediante
20 destilación *in vacuo*. El residuo se disolvió en cloruro de
metileno, se lavó con agua, se destiló bajo presión reducida
se separó mediante la cromatografía en columna (acetato de
etilo al 33%/hexano) para dar el compuesto del título (12 g,
Rendimiento: 48%) como un líquido incoloro.

25 $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , 500 MHz) δ 7.78(s, 1H), 5.42(s, 2H),

4.18(t, 2H), 3.77(s, 2H), 3.44(s, 3H), 1.26(q, 3H)

Preparación 6-4)

Éster etílico de ácido (2-metoximetil-3-oxo-2,3-dihidro-piridazin-4-il)-acético

5 El compuesto de la Preparación 6-3) (405 mg, 1.55 mmol) se disolvió en 10 mL de EtOH, se adicionó Pd al 10%/C (100 mg, Aldrich) y la mezcla se agitó durante 1 h bajo atmósfera de hidrógeno. La mezcla de reacción se pasó a través de celite y se lavó dos veces con etanol. El extracto
10 de etanol se concentró bajo presión reducida y se separó mediante la cromatografía en columna (acetato de etilo/hexano al 40-50%) para dar el compuesto del título (240 mg, Rendimiento: 68%) como un líquido incoloro.

$^1\text{H-NMR}$ (500MHz, CDCl_3) δ 7.76(d, 1H), 7.21(d, 1H),
15 5.45(s, 2H), 4.18(qt, 2H), 3.45(s, 3H), 1.27(t, 3H)

Preparación 6-5)

Éster etílico de ácido 2-(2-metoximetil-3-oxo-2,3-dihidro-piridazin-4-il)-butírico

El compuesto de la Preparación 6-4) (240 mg, 1.06
20 mmol) se hizo reaccionar de acuerdo con el mismo procedimiento como la Preparación 2-2) para dar 179 mg (67%) del compuesto del título.

$^1\text{H-NMR}$ (500MHz, CDCl_3) δ 7.77(d, 1H), 7.21(d, 1H),
5.46(m, 2H), 4.22-4.10(m, 2H), 3.88(m, 1H), 3.45(s, 3H),
25 2.00-1.78(dos m, 2H), 1.24(t, 3H), 0.96(t, 3H)

1519

Preparación 6-6)**Éster etílico de ácido 2-(3-oxo-2,3-dihidropiridazin-4-il)-butírico**

El compuesto de la Preparación 6-5) (172 mg, 0.676 mmol) se disolvió en 8 mL de CH_2Cl_2 , BBr_3 (70 μl , o 1.1 eq/solución 1.0M en CH_2Cl_2) se adicionó a -78°C y la mezcla se agitó durante 2 h mientras que se calienta lentamente a temperatura ambiente. La reacción se detuvo mediante acetato de amonio saturado. La mezcla de reacción se extrajo con acetato de etilo y se lavó con solución de cloruro de sodio acuoso. El extracto se concentró bajo presión reducida y se separó mediante Prep-TLC (acetato de etilo al 70%/hexano) para dar el compuesto del título (132 mg, Rendimiento: 91%) como un líquido incoloro.

$^1\text{H-NMR}$ (500MHz, CDCl_3) δ 7.76(d, 1H), 7.26(d, 1H), 4.18-4.10(m, 2H), 3.88(m, 1H), 2.00-1.75(dos m, 2H), 1.23(t, 3H), 0.94(t, 3H)

Preparación 6-7)**1-Bromometil-2-ter-butil-benceno**

A 1-ter-butil-2-metil-benceno (940 mg, 6.34 mmol), NBS (1.24 g, 1.1 eq) y AIBN (20 mg, cantidad catalítica) se adicionó CCl_4 (12 mL), el cual luego se calentó a reflujo durante 1 h. Las partículas suspendidas se removieron mediante filtración y se lavaron con CCl_4 . Las capas orgánicas se combinaron y se concentraron bajo presión

reducida para dar 1.5 g de un líquido amarillo en un rendimiento estequiométrico.

$^1\text{H-NMR}$ (500MHz, CDCl_3) δ 7.46(m, 1H), 7.38(m, 1H), 7.22-7.21(m, 2H), 4.83(s, 2H), 1.46(s, 9H)

5 **Preparación 6-8)**

Éster etílico de ácido 2-[2-(2-ter-butil-bencil)-3-oxo-2,3-dihidro-piridazin-4-il]-butírico

El compuesto de la Preparación 6-6) (58 mg, 0.276 mmol) y el compuesto de la Preparación 6-7) (81 mg, 1.3 eq) se hicieron reaccionar de acuerdo con el mismo procedimiento como la Preparación 2-1) para dar 53 mg (54%) del compuesto del título.

$^1\text{H-NMR}$ (500MHz, CDCl_3) δ 7.78(d, 1H), 7.42(d, 1H), 7.25(m, 1H), 7.18(d, 1H), 7.09(t, 1H), 6.82(d, 1H), 5.66(ABq, 2H), 4.21-4.10(m, 2H), 3.94(t, 1H), 2.03-1.80(dos m, 2H), 1.49(s, 9H), 1.23(t, 3H), 0.97(t, 3H)

Preparación 6-9)

Éster ter-butílico de ácido 3-2-[2-(2-ter-butil-bencil)-3-oxo-2,3-dihidro-piridazin-4-il]-butirilamino-5-fluoro-4-oxo-pentanoico

El compuesto de la Preparación 6-8) (53mg, 0.149mmol) se hizo reaccionar de acuerdo con el mismo procedimiento como la Preparación 3-5) para dar 46 mg (60%) del compuesto del título.

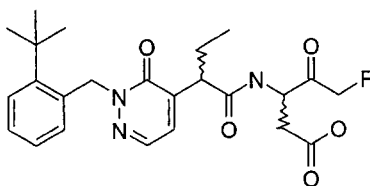
$^1\text{H-NMR}$ (500MHz, CDCl_3) δ 7.84(dos d, 1H), 7.52(m,

1H), 7.43 (dos s, 1H), 7.23-7.09 (m, 2H), 7.08 (dos d, 1H), 5.71 & 5.66 (dos s, 2H), 5.21-4.70 (m, 3H), 3.81 (m, 1H), 2.91-2.58 (m, 2H), 2.17 (m, 1H), 1.72 (m, 1H), 1.50 (s, 9H), 1.40 & 1.36 (dos s, 9H), 0.97 (m, 3H)

5 **Ejemplo 6)**

Ácido 3-2-[2-(2-ter-butil-bencil)-3-oxo-2,3-dihidro-piridazin-4-il]-butirilamino-5-fluoro-4-oxo-pentanoico

10



15

El compuesto de la Preparación 6-9) (46 mg, 0.089 mmol) se hizo reaccionar de acuerdo con el mismo procedimiento como el Ejemplo 2) para dar el compuesto del título (29 mg, 71%).

¹H-NMR (500MHz, DMSO-d₆) δ 8.65-8.61 (m, 1H), 7.93 (q, 1H), 7.39-7.34 (m, 2H), 7.14 (t, 1H), 7.04 (t, 1H), 6.67 (m, 1H), 5.50 (Ab q, 2H), 5.02 (m, 2H), 4.58-4.48 (m, 1H), 3.69 (m, 1H), 2.63 (m, 2H), 1.75-1.64 (m, 2H), 1.40 (s, 9H), 0.83 (m, 3H)

20

Preparación 7-1)

1-Bromometil-3-ter-butil-benceno

A 1-metil-3-ter-butil-benceno (551 mg, 3.72 mmol), NBS (730 mg, 1.1 eq) y AIBN (14 mg, cantidad catalítica) se adicionó CCl₄ (8 mL), el cual luego se calentó a reflujo durante 2 h. Las partículas suspendidas se removieron

25

mediante filtración y se lavaron con CCl_4 . Las capas orgánicas se combinaron y se concentraron bajo presión reducida para dar 860 mg de un líquido amarillo (el cual se identificó mediante la NMR por contener aproximadamente 15% del derivado de dibromo).

$^1\text{H-NMR}$ (500MHz, CDCl_3) δ 7.39-7.19(m, 4H), 4.51(s, 2H), 1.35(s, 9H)

Preparación 7-2)

10 Éster etílico de ácido 2-[2-(3-ter-butil-bencil)-3-oxo-2,3-dihidro-piridazin-4-il]-butírico

A una mezcla del compuesto de la Preparación 6-6) (50 mg, 0.238 mmol) y Cs_2CO_3 (116 mg, 1.5 eq) se adicionaron DMF (3 mL) y 1-bromometil-3-ter-butil-benceno de la Preparación 7-1) (70 mg, 1.3 eq), la cual luego se agitó durante 2 h a 60°C bajo atmósfera de nitrógeno. La mezcla se concentró bajo presión reducida y el residuo se extrajo dos veces con acetato de etilo (50 mL). El extracto se lavó con solución de hidrógeno carbonato de sodio acuoso, saturado (NaHCO_3 , 30 mL x 2) y solución de cloruro de sodio acuoso, se secó (Na_2SO_4 anhidro) y se concentró bajo presión reducida. El residuo se separó mediante la Prep-TLC (acetato de etilo al 30%-hexano) para dar 57 mg (67%) del compuesto del título.

$^1\text{H-NMR}$ (500MHz, CDCl_3) δ 7.74(d, 1H), 7.43(s, 1H), 7.30-7.16(m, 4H), 5.32(ABq, 2H), 4.18-4.10(m, 2H), 3.88(t, 1H), 1.99-1.76(dos m, 2H), 1.29(s, 9H), 1.20(t, 3H), 0.95(t,

3H)

Preparación 7-3)

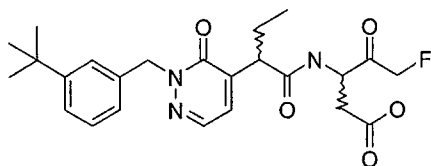
Éster ter-butílico de ácido 3-2-[2-(3-ter-butil-bencil)-3-oxo-2,3-dihidro-piridazin-4-il]-butirilamino-5-fluoro-4-oxo-pentanoico

El compuesto de la Preparación 7-2) (56 mg, 0.157 mmol) se hizo reaccionar de acuerdo con el mismo procedimiento como la Preparación 3-5) para dar el compuesto del título (49 mg, 60%).

¹H-NMR (500MHz, CDCl₃) δ 7.79(two d, 1H), 7.58(m, 1H), 7.42(two s, 1H), 7.32-7.14(m, 4H), 5.35-5.28(m, 2H), 5.21-4.68(m, 3H), 3.75(m, 1H), 2.91-2.58(m, 2H), 2.14(m, 1H), 1.69(m, 1H), 1.43 & 1.41(dos s, 9H), 1.29(s, 9H), 0.95(m, 3H).

Ejemplo 7)

Ácido 3-2-[2-(3-ter-butil-bencil)-3-oxo-2,3-dihidro-piridazin-4-il]-butirilamino-5-fluoro-4-oxo-pentanoico



El compuesto de la Preparación 7-3) (48 mg, 0.0931 mmol) se hizo reaccionar de acuerdo con el mismo procedimiento como el Ejemplo 2) para dar el compuesto del título (31 mg, 72%).

¹H-NMR (500MHz, DMSO-d₆) δ 8.65(m, 1H), 7.89(q, 1H),

7.31(t, 1H), 7.27(s, 1H), 7.26(m, 1H), 7.19(t, 1H), 7.00(m, 1H), 5.21(m, 2H), 5.20-4.67(m, 2H), 4.57-4.48(m, 1H), 3.68(m, 1H), 2.62(m, 2H), 1.73-1.63(m, 2H), 1.20(s, 9H), 0.83(m, 3H)

Preparación 8-1)

5 **Éster etílico de ácido 2-[2-(2-metil-bencil)-3-oxo-2,3-dihidro-piridazin-4-il]-butírico**

El compuesto de la Preparación 6-6) (98 mg, 0.47 mmol) y 1-bromometil-2-metilbenceno (112 mg, 1.3 eq) se hicieron reaccionar de acuerdo con el mismo procedimiento
10 como la Preparación 2-1) para dar el compuesto del título (118 mg, 80%).

¹H-NMR (500MHz, CDCl₃) δ 7.75(d, 1H), 7.20-7.13(m, 5H), 5.40-5.31(ABq, 2H), 4.20-4.10(m, 2H), 3.89(m, 1H), 2.40(s, 3H), 1.97(m, 1H), 1.82(m, 1H), 1.22(t, 3H), 0.96(t,
15 3H)

Preparación 8-2)

Éster ter-butílico de ácido 5-fluoro-3-2-[2-(2-metil-bencil)-3-oxo-2,3-dihidro-piridazin-4-il]-butirilamino-4-oxo-pentanoico

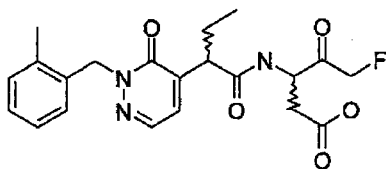
20 El compuesto de la Preparación 8-1) (118 mg, 0.38 mmol) se hizo reaccionar de acuerdo con el mismo procedimiento como la Preparación 3-5) para dar el compuesto del título (145 mg, 82%).

¹H-NMR (500MHz, CDCl₃) δ 7.80(dos d, 1H), 7.57(m, 1H), 7.20-7.13(m, 5H), 5.38-5.35(two s, 2H), 5.21-4.68(m,
25 1H),

3H), 3.77(m, 1H), 2.91-2.57(m, 2H), 2.42 & 2.41(dos s, 3H),
2.15(m, 1H), 1.70(m, 1H), 1.43 & 1.39(dos s, 9H), 0.95(m, 3H)

Ejemplo 8)

Ácido 5-fluoro-3-2-[2-(2-metil-bencil)-3-oxo-2,3-
5 **dihidro-piridazin-4-il]-butirilamino-4-oxo-pentanoico**



El compuesto de la Preparación 8-2) (143 mg, 0.302
10 mmol) se hizo reaccionar de acuerdo con el mismo
procedimiento como el Ejemplo 2) para dar el compuesto del
título (109 mg, 87%).

¹H-NMR (500MHz, DMSO-d₆) δ 12.40(br s, 1H), 8.72-
8.63(m, 1H), 7.88(m, 1H), 7.31(m, 1H), 7.14(m, 2H), 7.07(t,
15 1H), 6.94(t, 1H), 5.28-4.95(m, 4H), 4.58-4.48(m, 1H), 3.65(m,
1H), 2.69-2.47(m, 2H), 2.29(s, 3H), 1.73-1.64(m, 2H), 0.83(m,
3H)

Preparación 9-1)

Éster etílico de ácido 2-[2-(3-metil-bencil)-3-oxo-
20 **2,3-dihidro-piridazin-4-il]-butírico**

El compuesto de la Preparación 6-6) (103 mg, 0.49
mmol) y 1-bromometil-3-metilbenceno (118 mg, 1.3 eq) se
hicieron reaccionar de acuerdo con el mismo procedimiento
como la Preparación 2-1) para dar el compuesto del título
25 (110 mg, 71%).

$^1\text{H-NMR}$ (500MHz, CDCl_3) δ 7.74(d, 1H), 7.22-7.08(m, 4H), 7.08(m, 1H), 5.33-5.24(ABq, 2H), 4.20-4.01(m, 2H), 3.88(m, 1H), 2.32(s, 3H), 1.95(m, 1H), 1.81(m, 1H), 1.21(t, 3H), 0.95(t, 3H)

5 **Preparación 9-2)**

Éster ter-butílico de ácido 5-fluoro-3-2-[2-(3-metil-bencil)-3-oxo-2,3-dihidro-piridazin-4-il]-butirilamino-4-oxo-pentanoico

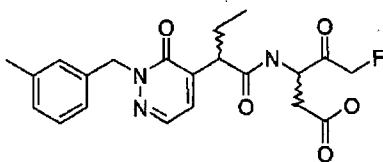
El compuesto de la Preparación 9-1) (110 mg, 0.35 mmol) se hizo reaccionar de acuerdo con el mismo procedimiento como la Preparación 3-5) para dar el compuesto del título (141 mg, 89%).

$^1\text{H-NMR}$ (500MHz, CDCl_3) δ 7.79(dos d, 1H), 7.59(m, 1H), 7.22-7.08(m, 5H), 5.36-4.69(m, 5H), 3.75(m, 1H), 2.92-2.59(m, 2H), 2.32(dos s, 3H), 2.15(m, 1H), 1.70(m, 1H), 1.44 & 1.41(dos s, 9H), 0.95(m, 3H)

Ejemplo 9)

Ácido 5-fluoro-3-2-[2-(3-metil-bencil)-3-oxo-2,3-dihidro-piridazin-4-il]-butirilamino-4-oxo-pentanoico

20



El compuesto de la Preparación 9-2) (137 mg, 0.289 mmol) se hizo reaccionar de acuerdo con el mismo procedimiento como el Ejemplo 2) para dar el compuesto del

25

título (104 mg, 86%).

$^1\text{H-NMR}$ (500MHz, DMSO- d_6) δ 12.41(br s, 1H), 8.72-8.64(m, 1H), 7.87(m, 1H), 7.29(s, 1H), 7.16(t, 1H), 7.05(m, 3H), 5.26-4.92(m, 4H), 4.58-4.47(m, 1H), 3.66(m, 1H), 2.69-
5 2.47(m, 2H), 2.22(s, 3H), 1.73-1.63(m, 2H), 0.83(m, 3H)

Preparación 10-1)

Éster etílico de ácido 2-[2-(3-metoxi-bencil)-3-oxo-2,3-dihidro-piridazin-4-il]-butírico

El compuesto de la Preparación 6-6) (114 mg, 0.54
10 mmol) y 1-bromometil-3-metoxi-benceno (142 mg, 1.3 eq) se hicieron reaccionar de acuerdo con el mismo procedimiento como la Preparación 2-1) para dar el compuesto del título (145 mg, 81%).

$^1\text{H-NMR}$ (400MHz, CDCl_3) δ 7.79(d, 1H), 7.25(t, 1H),
15 7.22(d, 1H), 7.03(d, 1H), 7.00(s, 1H), 6.87(d, 1H), 5.40-5.30(ABq, 2H), 4.21-4.13(m, 2H), 3.93(t, 1H), 3.82(s, 3H), 1.98(m, 1H), 1.85(m, 1H), 1.26(t, 3H), 1.00(t, 3H)

Preparación 10-2)

Éster ter-butílico de ácido 5-fluoro-3-2-[2-(3-metoxi-bencil)-3-oxo-2,3-dihidro-piridazin-4-il]-butiril-amino-4-oxo-pentanoico
20

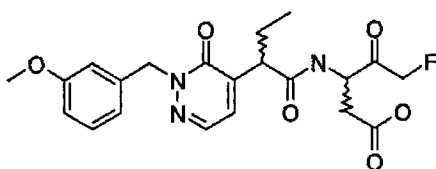
El compuesto de la Preparación 10-1) (145 mg, 0.44 mol) se hizo reaccionar de acuerdo con el mismo procedimiento como la Preparación 3-5) para dar el compuesto del título (70
25 mg, 33%).

$^1\text{H-NMR}$ (500MHz, CDCl_3) δ 7.79(dos d, 1H), 7.58(m, 1H), 7.23(t, 1H), 7.15(dos d, 1H), 7.00-6.90(m, 2H), 6.81(m, 1H), 5.32(m, 2H), 5.30-4.68(m, 3H), 3.77(s, 3H), 3.74(m, 1H), 2.92-2.58(m, 2H), 2.15(m, 1H), 1.68(m, 1H), 1.43 & 1.40(dos s, 9H), 0.95(m, 3H)

Ejemplo 10)

Ácido 5-fluoro-3-2-[2-(3-metoxi-bencil)-3-oxo-2,3-dihidro-piridazin-4-il]-butirilamino-4-oxo-pentanoico

10



El compuesto de la Preparación 10-2) (70 mg, 0.14 mmol) se hizo reaccionar de acuerdo con el mismo procedimiento como el Ejemplo 2) para dar el compuesto del título (56 mg, 90%).

$^1\text{H-NMR}$ (500MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 8.64(br s, 1H), 7.88(m, 1H), 7.30(m, 1H), 7.19(m, 1H), 6.80-6.77(m, 3H), 5.41-4.80(m, 2H), 5.28-5.14(m, 2H), 4.57-4.49(m, 1H), 3.67(m, 3H), 3.65(m, 1H), 2.71-2.32(m, 2H), 1.74-1.63(m, 2H), 0.82(m, 3H)

20

Preparación 11-1)

Éster etílico de ácido 2-(2-naftalen-1-ilmetil-3-oxo-2,3-dihidro-piridazin-4-il)-butírico

El compuesto de la Preparación 6-6) (98 mg, 0.47 mmol) y 1-clorometil-naftaleno (107 mg, 1.3 eq) se hicieron reaccionar de acuerdo con el mismo procedimiento como la

25

164

Preparación 2-1) para dar el compuesto del título (81 mg, 50%).

$^1\text{H-NMR}$ (500MHz, CDCl_3) δ 8.29 (d, 1H), 7.87-7.79(m, 2H), 7.73(d, 1H), 7.56-7.42(m, 4H), 7.16(d, 1H), 5.86-5.73(ABq, 2H), 4.20-4.10(m, 2H), 3.90(m, 1H), 1.97(m, 1H), 1.82(m, 1H), 1.20(t, 3H), 0.95(t, 3H)

Preparación 11-2)

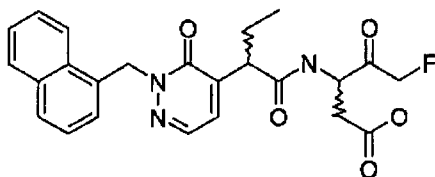
Éster ter-butílico de ácido 5-fluoro-3-[2-(2-naftalen-1-ilmetil-3-oxo-2,3-dihidro-piridazin-4-il)-butiril-amino]-4-oxo-pentanoico

El compuesto de la Preparación 11-1) (81 mg, 0.23 mmol) se hizo reaccionar de acuerdo con el mismo procedimiento como la Preparación 3-5) para dar el compuesto del título (82 mg, 70%).

$^1\text{H-NMR}$ (400MHz, CDCl_3) δ 8.32(dos d, 1H), 7.91-7.81(m, 3H), 7.65-7.46(m, 5H), 7.19(m, 1H), 5.89-5.80(m, 2H), 5.28-4.75(m, 3H), 3.83(m, 1H), 2.96-2.65(m, 2H), 2.18(m, 1H), 1.75(m, 1H), 1.47 & 1.42(dos s, 9H), 0.99(m, 3H)

Ejemplo 11)

Ácido 5-fluoro-3-[2-(2-naftalen-1-ilmetil-3-oxo-2,3-dihidro-piridazin-4-il)-butirilamino]-4-oxo-pentanoico



El compuesto de la Preparación 11-2) (82 mg, 0.16

165

mmol) se hizo reaccionar de acuerdo con el mismo procedimiento como el Ejemplo 2) para dar el compuesto del título (57 mg, 78%).

$^1\text{H-NMR}$ (500MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 8.66(br s, 1H), 8.20(d, 1H), 7.93-7.84(m, 3H), 7.52(m, 2H), 7.42(m, 1H), 7.31(m, 1H), 7.26(m, 1H), 5.70(m, 2H), 5.43-4.80(m, 2H), 4.55-4.48(m, 1H), 3.72(m, 1H), 2.70-2.33(m, 2H), 1.75-1.65(m, 2H), 0.84(m, 3H)

Preparación 12-1)

Éster etílico de ácido 2-(2-naftalen-2-ilmetil-3-oxo-2,3-dihidro-piridazin-4-il)-butírico

El compuesto de la Preparación 6-6) (97 mg, 0.46 mmol) y 2-bromometil-naftaleno (132 mg, 1.3 eq) se hicieron reaccionar de acuerdo con el mismo procedimiento como la Preparación 2-1) para dar el compuesto del título (91 mg, 57%).

$^1\text{H-NMR}$ (500MHz, CDCl_3) δ 7.88 (s, 1H), 7.83-7.78(m, 3H), 7.76(d, 1H), 7.56(d, 1H), 7.47-7.44(m, 2H), 7.18(d, 1H), 5.53-5.43(ABq, 2H), 4.20-4.10(m, 2H), 3.88(m, 1H), 1.95(m, 1H), 1.82(m, 1H), 1.19(t, 3H), 0.95(t, 3H)

Preparación 12-2)

Éster ter-butílico de ácido 5-fluoro-3-[2-(2-naftalen-2-ilmetil-3-oxo-2,3-dihidro-piridazin-4-il)-butiril-amino]-4-oxo-pentanoico

El compuesto de la Preparación 12-1) (91 mg, 0.26 mmol) se hizo reaccionar de acuerdo con el mismo

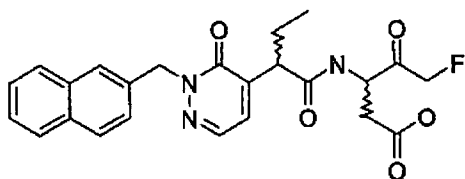
procedimiento como la Preparación 3-5) para dar el compuesto del título (83 mg, 63%).

$^1\text{H-NMR}$ (400MHz, CDCl_3) δ 7.91(d, 1H), 7.87-7.83(m, 4H), 7.66-7.56(m, 2H), 7.53-7.48(m, 2H), 7.20(t, 1H), 5.60-5.52(m, 2H), 5.28-4.75(m, 3H), 3.82(m, 1H), 2.94-2.65(m, 2H), 2.19(m, 1H), 1.74(m, 1H), 1.47 & 1.44(dos s, 9H), 1.00(m, 3H)

Ejemplo 12)

Ácido 5-fluoro-3-[2-(2-naftalen-2-ilmetil-3-oxo-2,3-dihidro-piridazin-4-il)-butirilamino]-4-oxo-pentanoico

10



El compuesto de la Preparación 12-2) (83 mg, 0.16 mmol) se hizo reaccionar de acuerdo con el mismo procedimiento como el Ejemplo 2) para dar el compuesto del título (68 mg, 92%).

$^1\text{H-NMR}$ (500MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 8.64(br s, 1H), 7.90(m, 1H), 7.85-7.83(m, 3H), 7.76(s, 1H), 7.46(m, 2H), 7.42(m, 1H), 7.31(m, 1H), 5.44-5.34(m, 2H), 5.31-4.73(m, 2H), 4.57-4.49(m, 1H), 3.69(m, 1H), 2.63-2.32(m, 2H), 1.75-1.63(m, 2H), 0.82(m, 3H)

Preparación 13-1)

(2-Metil-oxazol-4-il)-metanol

A LiAlH_4 (304mg, 1.5 eq) se adicionó THF anhidro (20 mL). Éster metílico de ácido 2-metil-oxazol-4-carboxílico

(ver *J. of Org. Chem.*, 2003, 68, páginas 4215-4234) disuelto en THF (20 mL) se adicionó al mismo a -78°C y se agitó durante 1 h a la misma temperatura. La reacción se detuvo mediante agua. La mezcla de reacción se pasó a través de celite y se extrajo con acetato de etilo (50 mL x 3). La capa orgánica se lavó con solución de cloruro de sodio acuoso, se destiló bajo presión reducida y se separó mediante la cromatografía en columna (acetato de etilo) para dar el compuesto del título (308 mg, Rendimiento: 51%) como un sólido amarillo pálido.

$^1\text{H-NMR}$ (400MHz, CDCl_3) δ 7.48(s, 1H), 4.56(d, 2H), 2.45(s, 3H), 2.18(t, 1H)

Preparación 13-2)

4-Bromometil-2-metil-oxazol

El compuesto de la Preparación 13-1) (307 mg, 2.71 mmol) se disolvió en CH_2Cl_2 (20 mL), CBr_4 (1.17 g, 1.3 eq) y PPh_3 (1.07 g, 1.5 eq) se adicionaron al mismo y la mezcla se agitó durante 3 h. La mezcla de reacción se secó bajo presión reducida y se separó mediante la cromatografía en columna (acetato de etilo al 25%/hexano) para dar el compuesto del título (139 mg, Rendimiento: 29%) como un líquido incoloro.

$^1\text{H-NMR}$ (400MHz, CDCl_3) δ 7.58(s, 1H), 4.39(s, 2H), 2.50(s, 3H)

Preparación 13-3)

(b7)

Éster etílico de ácido 2-[2-(2-metil-oxazol-4-ilmetil)-3-oxo-2,3-dihidro-piridazin-4-il]-butírico

El compuesto de la Preparación 6-6) (160 mg, 0.761 mmol) y 4-bromometil-2-metil-oxazol (139 mg, 1.3 eq) se
5 hicieron reaccionar de acuerdo con el mismo procedimiento como la Preparación 2-1) para dar el compuesto del título (159 mg, 69%).

¹H-NMR (500MHz, CDCl₃) δ 7.77(d, 1H), 7.56(s, 1H),
7.18(d, 1H), 5.19(ABq, 2H), 4.20-4.10(m, 2H), 3.86(t, 1H),
10 1.98-1.74(dos m, 2H), 1.22(t, 3H), 0.94(t, 3H)

Preparación 13-4)

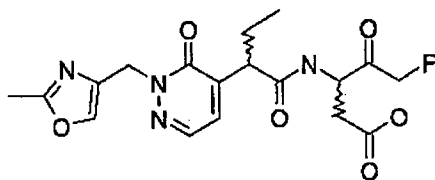
Éster ter-butílico de ácido 5-fluoro-3-2-[2-(2-metil-oxazol-4-ilmetil)-3-oxo-2,3-dihidro-piridazin-4-il]-butirilamino-4-oxo-pentanoico

15 El compuesto de la Preparación 13-3) (155 mg, 0.508 mmol) se hizo reaccionar de acuerdo con el mismo procedimiento como la Preparación 3-5) para dar el compuesto del título (150 mg, 64%).

¹H-NMR (500MHz, CDCl₃) δ 7.80(dos d, 1H), 7.60-
20 7.55(m, 2H), 7.15(m, 1H), 5.30-4.69(m, 5H), 3.75(m, 1H),
2.93-2.62(m, 2H), 2.39 & 2.37(dos s, 3H), 2.12(m, 1H),
1.66(m, 1H), 1.41 & 1.38(dos s, 9H), 0.92(m, 3H)

Ejemplo 13)

Ácido 5-fluoro-3-2-[2-(2-metil-oxazol-4-ilmetil)-3-oxo-2,3-dihidro-piridazin-4-il]-butirilamino-4-oxo-pentanoico
25



El compuesto de la Preparación 13-4) (150 mg, 0.323
 5 mmol) se hizo reaccionar de acuerdo con el mismo
 procedimiento como el Ejemplo 2) para dar el compuesto del
 título (113 mg, 86%).

$^1\text{H-NMR}$ (500MHz, DMSO- d_6) δ 12.41(br s, 1H), 8.70-
 8.63(dd, 1H), 7.85(m, 1H), 7.78(m, 1H), 7.30(m, 1H), 5.24-
 10 4.97(m, 4H), 4.59-4.46(m, 1H), 3.63(m, 1H), 2.82-2.47(m, 2H),
 2.30(s, 3H), 1.73-1.63(m, 2H), 0.83(m, 3H)

Preparación 14-1)

Éster etílico de ácido 2-[2-(2-metil-tiazol-4-
 ilmetil)-3-oxo-2,3-dihidro-piridazin-4-il]-butírico

15 El compuesto de la Preparación 6-6) (98 mg, 0.47
 mmol) y 4-bromometil-2-metil-tiazol (112 mg, 1.3 eq,
 Lancaster) se hicieron reaccionar de acuerdo con el mismo
 procedimiento como la Preparación 2-1) para dar el compuesto
 del título (101 mg, 67%).

20 $^1\text{H-NMR}$ (500MHz, CDCl_3) δ 7.79(d, 1H), 7.20(d, 1H),
 7.05(s, 1H), 5.45-5.37(ABq, 2H), 4.20-4.10(m, 2H), 3.88(t,
 1H), 2.68 (s, 3H), 1.96 & 1.81(dos m, 2H), 1.22(t, 3H),
 0.95(t, 3H)

Preparación 14-2)

25 Éster ter-butílico de ácido 5-fluoro-3-2-[2-(2-

169

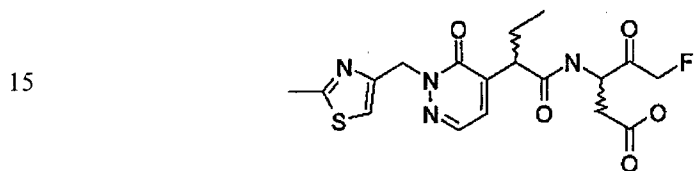
metil-tiazol-4-ilmetil)-3-oxo-2,3-dihidro-piridazin-4-il]-
butirilamino-4-oxo-pentanoico

El compuesto de la Preparación 14-1) (101 mg, 0.31 mmol) se hizo reaccionar de acuerdo con el mismo
5 procedimiento como la Preparación 3-5) para dar el compuesto del título (32 mg, 21%).

$^1\text{H-NMR}$ (500MHz, CDCl_3) δ 7.83 (dos d, 1H), 7.58 (m, 2H), 7.20-7.03 (m, 2H), 5.51-4.69 (m, 5H), 3.75 (m, 1H), 2.93-2.62 (m, 2H), 2.64 (m, 3H), 2.12 (m, 1H), 1.66 (m, 1H), 1.41 &
10 1.38 (m, 9H), 0.94 (m, 3H)

Ejemplo 14)

Ácido 5-fluoro-3-2-[2-(2-metil-tiazol-4-ilmetil)-3-oxo-2,3-dihidro-piridazin-4-il]-butirilamino-4-oxo-pentanoico



El compuesto de la Preparación 14-2) (32 mg, 0.066 mmol) se hizo reaccionar de acuerdo con el mismo
procedimiento como el Ejemplo 2) para dar el compuesto del
20 título (16 mg, 58%).

$^1\text{H-NMR}$ (500MHz, CDCl_3) δ 7.82 (m, 1H), 7.80-7.76 (dd, 1H), 7.25 (s, 1H), 7.12 (m, 1H), 6.07-6.91 (m, 1H), 5.15-4.57 (m, 4H), 3.90 (m, 1H), 2.92-2.75 (m, 2H), 2.67 (s, 3H), 2.22-1.67 (m, 2H), 0.97 (m, 3H)

25 **Preparación 15-1)**

Éster etílico de ácido 2-[2-(3,5-dimetil-isoxazol-4-ilmetil)-3-oxo-2,3-dihidro-piridazin-4-il]-butírico

El compuesto de la Preparación 6-6) (96 mg, 0.46 mmol) y 4-clorometil-3,5-dimetil-isoxazol (86 mg, 1.3 eq, Aldrich) se hicieron reaccionar de acuerdo con el mismo procedimiento como la Preparación 2-1) para dar el compuesto del título (119 mg, 82%).

¹H-NMR (500MHz, CDCl₃) δ 7.71(d, 1H), 7.18(d, 1H), 5.10-5.02(ABq, 2H), 4.20-4.10(m, 2H), 3.85(t, 1H), 2.46(s, 3H), 2.32(s, 3H), 1.98-1.74(dos m, 2H), 1.22(t, 3H), 0.95(t, 3H)

Preparación 15-2)

Éster ter-butílico de ácido 3-2-[2-(3,5-dimetil-isoxazol-4-ilmetil)-3-oxo-2,3-dihidro-piridazin-4-il]-butirilamino-5-fluoro-4-oxo-pentanoico

El compuesto de la Preparación 15-1) (119 mg, 0.37 mmol) se hizo reaccionar de acuerdo con el mismo procedimiento como la Preparación 3-5) para dar el compuesto del título (47 mg, 40%).

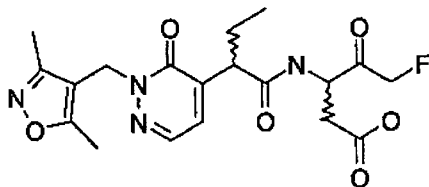
¹H-NMR (400MHz, CDCl₃) δ 7.79(dos d, 1H), 7.48(m, 1H), 7.21(d, 2H), 5.30-4.79(m, 5H), 3.77(m, 1H), 2.97-2.69(m, 2H), 2.54(dos s, 3H), 2.36(s, 1H), 2.16(m, 1H), 1.72(m, 1H), 1.47 & 1.42(dos s, 9H), 0.99(m, 3H)

Ejemplo 15)

Ácido 3-2-[2-(3,5-dimetil-isoxazol-4-ilmetil)-3-

(A)

oxo-2,3-dihidro-piridazin-4-il]-butirilamino-5-fluoro-4-oxo-pentanoico



5

El compuesto de la Preparación 15-2) (47 mg, 0.098 mmol) se hizo reaccionar de acuerdo con el mismo procedimiento como el Ejemplo 2) para dar el compuesto del título (27 mg, 66%).

10

$^1\text{H-NMR}$ (500MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 8.64(br s, 1H), 7.86(dd, 1H), 7.28(m, 1H), 5.32-4.91(m, 2H), 5.08-4.96(m, 2H), 4.56-4.47(m, 1H), 3.66(m, 1H), 2.63-2.32(m, 2H), 2.37(s, 3H), 2.16(s, 3H), 1.72-1.63(m, 2H), 0.82(m, 3H)

Preparación 16-1)

15

Éster etílico de ácido 2-(2-ciclohexilmetil-3-oxo-2,3-dihidro-piridazin-4-il)-butírico

El compuesto de la Preparación 6-6) (101 mg, 0.48 mmol) y bromometil-ciclohexano (111 mg, 1.3 eq, Aldrich) se hicieron reaccionar de acuerdo con el mismo procedimiento como la Preparación 2-1) para dar el compuesto del título (82 mg, 56%).

20

$^1\text{H-NMR}$ (500MHz, CDCl_3) δ 7.71(d, 1H), 7.16(d, 1H), 4.20-4.10(m, 2H), 4.14-3.94(m, 2H), 3.86(t, 1H), 1.98-1.74(dos m, 2H), 1.72-1.60(amplio m, 5H), 1.23(t, 3H), 1.20-1.16(amplio m, 3H), 1.05-1.00(m, 2H), 0.96(t, 3H)

25

Preparación 16-2)

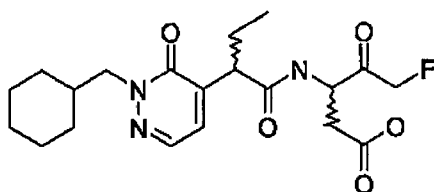
Éster ter-butílico de ácido 3-[2-(2-ciclohexilmetil-3-oxo-2,3-dihidro-piridazin-4-il)-butiril-amino]-5-fluoro-4-oxo-pentanoico

5 El compuesto de la Preparación 16-1) (80 mg, 0.26 mmol) se hizo reaccionar de acuerdo con el mismo procedimiento como la Preparación 3-5) para dar el compuesto del título (106 mg, 88%).

¹H-NMR (500MHz, CDCl₃) δ 7.77(m, 1H), 7.64(m, 1H),
 10 7.14(m, 1H), 5.29-4.72(m, 3H), 4.10-3.98(m, 2H), 3.76(m, 1H),
 2.94-2.62(m, 2H), 2.15(m, 1H), 1.94(m, 1H), 1.72-1.60(amplio
 m, 5H), 1.43 & 1.41 (dos s, 9H), 1.23-1.00(m, 5H), 0.96(m,
 3H)

Ejemplo 16)

15 Ácido 3-[2-(2-ciclohexilmetil-3-oxo-2,3-dihidro-piridazin-4-il)-butirilamino]-5 -fluoro-4-oxo-pentanoico



20 El compuesto de la Preparación 16-2) (106 mg, 0.23 mmol) se hizo reaccionar de acuerdo con el mismo procedimiento como el Ejemplo 2) para dar el compuesto del título (71 mg, 76%).

¹H-NMR (500MHz, DMSO-d₆) δ 8.65(br s, 1H), 7.83(m,
 25 1H), 7.26(m, 1H), 5.35-4.88(m, 2H), 4.57-4.48(m, 1H), 3.97-

3.82(m, 2H), 3.63(m, 1H), 2.66-2.47(m, 2H), 1.79(m, 1H),
1.73(m, 1H), 1.61(m, 3H), 1.55(m, 1H), 1.49(m, 2H), 1.10(m,
3H), 0.95(m, 2H), 0.82(m, 3H)

Preparación 17-1)

5 1-Bromometil-isoquinolina

A 1-metilisoquinolina (0.99 g, 6.91 mmol), NBS
(1.35 g, 1.1 eq) y AIBN (10 mg, cantidad catalítica) se
adicionó CCl₄ (15 mL), la cual se calentó a reflujo durante 2
h. Las partículas suspendidas se removieron mediante
10 filtración y se lavaron con CCl₄. Las capas orgánicas se
combinaron, se concentraron bajo presión reducida y se
separaron mediante la cromatografía en columna (acetato de
etilo al 30%/hexano) para dar el compuesto del título (270
mg, Rendimiento: 18%) como un sólido violeta.

15 ¹H-NMR (500MHz, CDCl₃) δ 8.48(d, 1H), 8.25(d, 1H),
7.87(d, 1H), 7.75-7.67(dos t, 2H), 7.65(d, 1H)

Preparación 17-2)

Éster etílico de ácido 2-(2-isoquinolin-1-ilmetil- 3-oxo-2,3-dihidro-piridazin-4-il)-butírico

20 El compuesto de la Preparación 6-6) (110 mg, 0.52
mmol) y 1-bromometil-isoquinolina (151 mg, 1.3 eq) obtenido
en la Preparación 17-1) se hicieron reaccionar de acuerdo con
el mismo procedimiento como la Preparación 2-1) para dar el
compuesto del título (135 mg, 73%).

25 ¹H-NMR (500MHz, CDCl₃) δ 8.42(d, 1H), 8.26(d, 1H),

174

7.82(d, 1H), 7.77(d, 1H), 7.60(t, 1H), 7.57(d, 1H), 7.22(d, 1H), 6.06-5.91(ABq, 2H), 4.21-4.10(m, 2H), 3.91(t, 1H), 2.01-1.78(dos m, 2H), 1.21(t, 3H), 0.96(t, 3H)

Preparación 17-3)

5 **Éster ter-butílico de ácido 5-fluoro-3-[2-(2-isoquinolin-1-ilmetil-3-oxo-2,3-dihidro-piridazin-4-il)-butirilamino]-4-oxo-pentanoico**

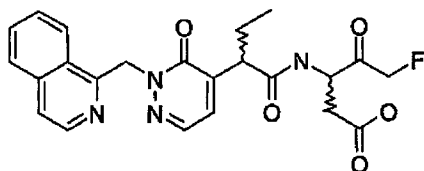
El compuesto de la Preparación 17-2) (130 mg, 0.37 mmol) se hizo reaccionar de acuerdo con el mismo
10 procedimiento como la Preparación 3-5) para dar el compuesto del título (150 mg, 79%).

¹H-NMR (500MHz, CDCl₃) δ 8.39(d, 1H), 8.27(d, 1H), 7.88-7.80(m, 2H), 7.73-7.56(m, 3H), 7.22(m, 1H), 6.12-5.95(m, 2H), 5.23-4.68(m, 3H), 3.80(m, 1H), 2.92-2.58(m, 2H), 2.19(m,
15 1H), 1.75(m, 1H), 1.34(m, 9H), 0.96(m, 3H)

Ejemplo 17)

Ácido 5-fluoro-3-[2-(2-isoquinolin-1-ilmetil-3-oxo-2,3-dihidro-piridazin-4-il)-butirilamino]-4-oxo-pentanoico

20



El compuesto de la Preparación 17-3) (150 mg, 0.29 mmol) se hizo reaccionar de acuerdo con el mismo procedimiento como el Ejemplo 2) para dar el compuesto del
25 título (123 mg, 92%).

¹H-NMR (500MHz, DMSO-d₆) δ 12.42 (br s, 1H), 8.74-8.64 (dd, 1H), 8.28 (m, 2H), 7.98 (d, 1H), 7.87 (m, 1H), 7.79 (m, 1H), 7.72-7.65 (m, 2H), 7.37 (m, 1H), 5.92 (m, 2H), 5.22-5.00 (m, 2H), 4.60-4.48 (m, 1H), 3.67 (m, 1H), 2.74-2.54 (m, 2H), 1.77-1.65 (m, 2H), 0.84 (m, 3H)

Preparación 18-1)

Éster etílico de ácido 2-[2-(2-cloro-bencil)-3-oxo-2,3-dihidro-piridazin-4-il]-butírico

El compuesto de la Preparación 6-6) (100 mg, 0.476mmol) y 1-bromometil-2-clorobenceno (127 mg, 1.3 eq, Aldrich) se hicieron reaccionar de acuerdo con el mismo procedimiento como la Preparación 2-1) para dar el compuesto del título (92 mg, 58%).

¹H-NMR (500MHz, CDCl₃) δ 7.77 (d, 1H), 7.37 (d, 1H), 7.23-7.16 (m, 3H), 7.07 (d, 1H), 5.51-5.43 (ABq, 2H), 4.21-4.10 (m, 2H), 3.90 (t, 1H), 2.02-1.79 (dos m, 2H), 1.22 (t, 3H), 0.96 (t, 3H)

Preparación 18-2)

Éster ter-butílico de ácido 3-{2-[2-(2-cloro-bencil)-3-oxo-2,3-dihidro-piridazin-4-il]-butirilamino}-5-fluoro-4-oxo-pentanoico

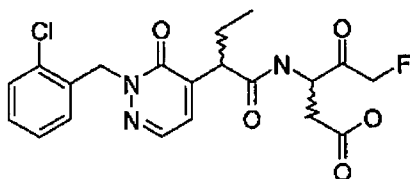
El compuesto de la Preparación 18-1) (92 mg, 0.275 mmol) se hizo reaccionar de acuerdo con el mismo procedimiento como la Preparación 3-5) para dar el compuesto del título (113 mg, 83%).

176

$^1\text{H-NMR}$ (500MHz, CDCl_3) δ 7.82 (dos d, 1H), 7.54 (m, 1H), 7.38 (m, 1H), 7.24-7.18 (m, 3H), 7.09-7.02 (m, 1H), 5.54-5.44 (m, 2H), 5.21-4.71 (m, 3H), 3.79 (m, 1H), 2.90-2.56 (m, 2H), 2.16 (m, 1H), 1.73 (m, 1H), 1.41 & 1.38 (dos d, 9H), 0.96 (m, 3H)

5 **Ejemplo 18)**

Ácido 3-{2-[2-(2-cloro-bencil)-3-oxo-2,3-dihidro-piridazin-4-il]-butirilamino}-5-fluoro-4-oxo-pentanoico



10

El compuesto de la Preparación 18-2) (103 mg, 0.29 mmol) se hizo reaccionar de acuerdo con el mismo procedimiento como el Ejemplo 2) para dar el compuesto del título (74 mg, 81%).

15

$^1\text{H-NMR}$ (500MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 8.63 (br, 1H), 7.91 (m, 1H), 7.45-7.25 (m, 4H), 7.00 (m, 1H), 5.32 (m, 2H), 5.30-4.60 (br, 2H), 4.57 & 4.50 (dos br m, 1H), 3.69 (m, 1H), 2.70-2.50 (br, 2H), 1.77-1.65 (m, 2H), 0.84 (m, 3H)

Preparación 19-1)

20

Éster etílico de ácido 2-[2-(3-cloro-bencil)-3-oxo-2,3-dihidro-piridazin-4-il]-butírico

El compuesto de la Preparación 6-6) (98 mg, 0.466 mmol) y 1-bromometil-3-clorobenceno (127 mg, 1.3 eq, Aldrich) se hicieron reaccionar de acuerdo con el mismo procedimiento como la Preparación 2-1) para dar el compuesto del título

25

(115 mg, 74%).

$^1\text{H-NMR}$ (500MHz, CDCl_3) δ 7.74(d, 1H), 7.38(s, 1H),
7.28-7.21(m, 3H), 7.18(d, 1H), 5.32-5.22(ABq, 2H), 4.21-
4.10(m, 2H), 3.84(t, 1H), 1.99-1.75(dos m, 2H), 1.20(t, 3H),
5 0.94(t, 3H)

Preparación 19-2)

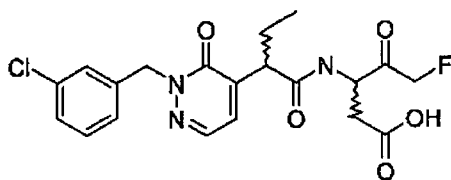
Éster ter-butílico de ácido 3-{2-[2-(3-cloro-bencil)-3-oxo-2,3-dihidro-piridazin-4-il]-butirilamino}-5-fluoro-4-oxo-pentanoico

10 El compuesto de la Preparación 19-1) (115 mg, 0.343 mmol) se hizo reaccionar de acuerdo con el mismo procedimiento como la Preparación 3-5) para dar el compuesto del título (130 mg, 77%).

$^1\text{H-NMR}$ (500MHz, CDCl_3) δ 7.80(m, 1H), 7.54(d, 1H),
15 7.38(d, 1H), 7.30-7.23 (m, 3H), 7.18(m, 1H), 5.31-5.25 (m, 2H), 5.21-4.71(m, 3H), 3.76(m, 1H), 2.91-2.62 (m, 2H), 2.14(m, 1H), 1.69(m, 1H), 1.43 & 1.39(dos d, 9H), 0.96(m, 3H)

Ejemplo 19)

20 Ácido 3-{2-[2-(3-cloro-bencil)-3-oxo-2,3-dihidro-piridazin-4-il]-butirilamino}-5-fluoro-4-oxo-pentanoico



25 El compuesto de la Preparación 19-2) (120 mg, 0.243

mmol) se hizo reaccionar de acuerdo con el mismo procedimiento como el Ejemplo 2) para dar el compuesto del título (87 mg, 82%).

$^1\text{H-NMR}$ (500MHz, DMSO- d_6) δ 8.62(br, 1H), 7.89(m, 1H), 7.32-7.30(m, 4H), 7.20(m, 1H), 5.28-5.18(m, 2H), 5.20-4.60(br, 2H), 4.58 & 4.50(dos br m, 1H), 3.66(m, 1H), 2.70-2.50(br, 2H), 1.77-1.58(m, 2H), 0.84(m, 3H)

Preparación 20-1)

Éster etílico de ácido 2-[2-(3-bromo-bencil)-3-oxo-2,3-dihidro-piridazin-4-il]-butírico

El compuesto de la Preparación 6-6) (100 mg, 0.48 mmol) y 1-bromo-3-bromometilbenceno (154 mg, 1.3 eq, Aldrich) se hicieron reaccionar de acuerdo con el mismo procedimiento como la Preparación 2-1) para dar el compuesto del título (102 mg, 54%).

$^1\text{H NMR}$ (500MHz, CDCl_3); δ 0.95(t, 3H), 0.96(t, 3H), 1.78-1.95(m, 2H), 3.85(t, 1H), 4.15(m, 2H), 5.27(q, 2H), 7.17-7.45(m, 5H), 7.54(s, 1H), 7.75(d, 1H)

Preparación 20-2)

Éster ter-butílico de ácido 3-{2-[2-(3-bromo-bencil)-3-oxo-2,3-dihidro-piridazin-4-il]-butirilamino}-5-fluoro-4-oxo-pentanoico

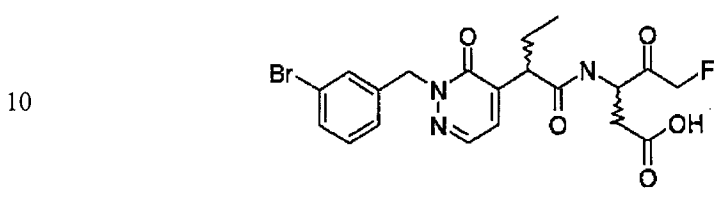
El compuesto de la Preparación 20-1) (100 mg, 0.254 mmol) se hizo reaccionar de acuerdo con el mismo procedimiento como la Preparación 3-5) para dar el compuesto

del título (120 mg, 88%).

¹H NMR (500MHz, CDCl₃); δ 0.96(m, 3H), 1.41(d, 9H),
1.69(m, 1H), 2.13(m, 1H), 2.60-2.91(m, 2H), 3.76(m, 1H),
4.77(m, 1H), 5.01(m, 2H), 5.29(m, 2H), 7.18(m, 2H), 7.30-
5 7.45(m, 2H), 7.52(m, 2H), 7.80(m, 1H)

Ejemplo 20)

**Ácido 3-{2-[2-(3-bromo-bencil)-3-oxo-2,3-dihidro-
piridazin-4-il]-butirilamino}-5-fluoro-4-oxo-pentanoico**



El compuesto de la Preparación 20-2) (80 mg, 0.15
mmol) se hizo reaccionar de acuerdo con el mismo
procedimiento como el Ejemplo 2) para dar el compuesto del
15 título (59 mg, 81%).

¹H NMR (500MHz, CDCl₃); δ 0.96(m, 3H), 1.68(m, 1H),
2.06(m, 1H), 2.50-3.16(m, 2H), 3.84(m, 1H), 4.77(m, 3H),
5.29(m, 2H), 7.19-7.52(m, 6H), 7.91(m, 1H)

Preparación 21-1)

20 **Éster etílico de ácido 2-[3-oxo-2-(2-
trifluorometil-bencil)-2,3-dihidro-piridazin-4-il]-butírico**

El compuesto de la Preparación 6-6) (104 mg, 0.50
mmol), DIAD(azodicarboxilato de diisopropilo, 151 mg, 1.5
eq), (2-trifluorometil-fenil)-metanol (131 mg, 1.5 eq) y
25 trifenilfosfina (261 mg, 2.0 eq) se disolvieron en THF (6 mL)

y se agitaron durante 2 h a temperatura ambiente. La mezcla se concentró bajo presión reducida y se separó mediante la cromatografía en columna (EA al 30%/Hexano) para dar el compuesto del título (125 mg, 68%).

5 $^1\text{H-NMR}$ (500MHz, CDCl_3) δ 7.79(d, 1H), 7.67(d, 1H), 7.44(t, 1H), 7.36(t, 1H), 7.26(d, 1H), 6.97(d, 1H), 5.62-5.54(ABq, 2H), 4.21-4.12(m, 2H), 3.90(t, 1H), 2.03-1.81(dos m, 2H), 1.22(t, 3H), 0.97(t, 3H)

Preparación 21-2)

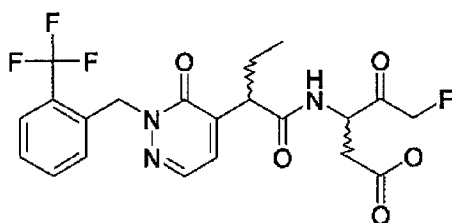
10 Éster ter-butílico de ácido 5-fluoro-4-oxo-3-{2-[3-oxo-2-(2-trifluorometil-bencil)-2,3-dihidro-piridazin-4-il]-butirilamino}-pentanoico

El compuesto de la Preparación 21-1) (125 mg, 0.34 mmol) se hizo reaccionar de acuerdo con el mismo
15 procedimiento como la Preparación 3-5) para dar el compuesto del título (48 mg, 27%).

$^1\text{H-NMR}$ (500MHz, CDCl_3) δ 7.83(dos d, 1H), 7.68(m, 1H), 7.51-7.44(m, 2H), 7.36(d, 1H), 7.23(d, 1H), 7.00-6.92(dos d, 1H), 5.69-5.51(m, 2H), 5.21-4.73(m, 3H), 3.78(m,
20 1H), 2.90-2.58(m, 2H), 2.16(m, 1H), 1.75(m, 1H), 1.37(m, 9H), 0.96(m, 3H)

Ejemplo 21)

Ácido 5-fluoro-4-oxo-3-{2-[3-oxo-2-(2-trifluorometil-bencil)-2,3-dihidro-piridazin-4-il]-butirilamino}-
25 pentanoico



5 El compuesto de la Preparación 21-2) (48 mg, 0.092 mmol) se hizo reaccionar de acuerdo con el mismo procedimiento como el Ejemplo 2) para dar el compuesto del título (37 mg, 86%).

¹H-NMR (500MHz, CDCl₃) δ 7.92(dd, 1H), 7.70(d, 1H),
 10 7.60(bs, 1H), 7.45(t, 1H), 7.39(t, 1H), 7.35(m, 1H), 6.95(d, 1H), 5.64-5.51(m, 2H), 4.77-4.35(m, 3H), 3.84(m, 1H), 3.06-2.90(m, 1H), 2.68-2.58(m, 1H), 2.12(m, 1H), 1.74(m, 1H), 0.97(t, 3H)

Preparación 22-1)

15 Éster etílico de ácido 2-[3-oxo-2-(3-trifluorometil-bencil)-2,3-dihidro-piridazin-4-il]-butírico

El compuesto de la Preparación 6-6) (100 mg, 0.48 mmol), DIAD(azodicarboxilato de diisopropilo, 192 mg, 2.0 eq), (3-trifluorometil-fenil)-metanol (168 mg, 2.0 eq) y
 20 trifenilfosfina (312 mg, 2.5 eq) se disolvieron en THF (6 mL) y se agitaron durante 2 h a temperatura ambiente. La mezcla se concentró bajo presión reducida y se separó mediante la cromatografía en columna (EA al 30%/Hexano) para dar el compuesto del título (158 mg, 90%).

25 ¹H-NMR (500MHz, CDCl₃) δ 7.76(d, 1H), 7.65(s, 1H),

7.60(d, 1H), 7.53(d, 1H), 7.43(t, 1H), 7.20(d, 1H), 5.40-5.30(ABq, 2H), 4.20-4.08(m, 2H), 3.85(t, 1H), 2.01-1.76(dos m, 2H), 1.19(t, 3H), 0.94(t, 3H)

Preparación 22-2)

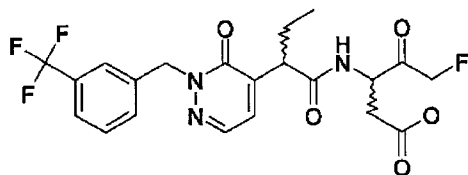
5 Éster ter-butílico de ácido 5-fluoro-4-oxo-3-{2-[3-oxo-2-(3-trifluorometil-bencil)-2,3-dihidro-piridazin-4-il]-butirilamino}-pentanoico

El compuesto de la Preparación 22-1) (157 mg, 0.43 mmol) se hizo reaccionar de acuerdo con el mismo
10 procedimiento como la Preparación 3-5) para dar el compuesto del título (93 mg, 41%).

¹H-NMR (500MHz, CDCl₃) δ 7.80(two d, 1H), 7.65(dos s, 1H), 7.60(m, 1H), 7.52(m, 2H), 7.44(m, 1H), 7.18(dos d, 1H), 5.42-5.33(m, 2H), 5.18-4.71(m, 3H), 3.74(m, 1H), 2.90-
15 2.60(m, 2H), 2.12(m, 1H), 1.68(m, 1H), 1.42 & 1.38(dos s, 9H), 0.94(m, 3H)

Ejemplo 22)

Ácido 5-fluoro-4-oxo-3-{2-[3-oxo-2-(3-trifluorometil-bencil)-2,3-dihidro-piridazin-4-il]-butirilamino}-
20 pentanoico



El compuesto de la Preparación 22-2) (93 mg, 0.18
25 mmol) se hizo reaccionar de acuerdo con el mismo

procedimiento como el Ejemplo 2) para dar el compuesto del título (75 mg, 90%).

$^1\text{H-NMR}$ (500MHz, CDCl_3) δ 7.90(dd, 1H), 7.65(s, 1H), 7.57(m, 2H), 7.45(t, 1H), 7.32(m, 1H), 5.37(m, 2H), 4.86-
5 4.35(m, 3H), 3.84-3.96(m, 1H), 3.13-2.92(m, 1H), 2.70-2.59(m, 1H), 2.08(m, 1H), 1.69(m, 1H), 0.96(t, 3H)

Preparación 23-1)

2,6-Diclorobenzoato de (3S)-3-[[benciloxi]-carbonil]amino}-5-(ter-butoxi)-2-hidroxi-5-oxopentilo

10 Un ácido N-benciloxicarbonil- β -t-butil-aspartico (5.03 g, 15.6 mmol) y NMM (1.90 mL, 17.1 mmol) se adicionó tetrahidrofurano anhidro (60 mL) bajo atmósfera de nitrógeno, el cual se mantuvo a -15°C . Se adicionó formiato de isobutilcloro (2.12 mL, 16.3 mmol) y la mezcla se agitó
15 durante aproximadamente 20 min. A la mezcla de reacción mantenida a 0°C se adicionó solución de diazometano-éter (sintetizado de 2.0 eq de 1-metil-3-nitro-1-nitroso-guanidina, 60 mL), la cual luego se agitó durante 30 min a 0°C para dar el derivado de diazocetona. HBr al 30%/AcOH
20 (6.42 mL, 2.0 eq) se adicionó al mismo a 0°C y se agitó durante 30 min. La mezcla de reacción se extrajo con acetato de etilo, se lavó con agua, dos veces con solución de hidrógeno carbonato de sodio acuoso, saturado y solución de cloruro de sodio acuoso, se secó (Na_2SO_4 anhidro) y se
25 concentró bajo presión reducida para dar el derivado de

bromometilcetona (6.4 g).

El derivado de bromometilcetona (4.36 g) y ácido 2,6-diclorobenzoico (2.28 g, 1.1 eq) se disolvieron en dimetilformamida (18 mL), KF (1.58 g, 2.5 eq) se adicionó al mismo y la mezcla se agitó durante 2 h a temperatura ambiente. El residuo obtenido mediante concentración bajo presión reducida se extrajo con acetato de etilo, se lavó con agua, dos veces con solución de hidrógeno carbonato de sodio acuoso, saturado y solución de cloruro de sodio acuoso, se secó (Na_2SO_4 anhidro) y se concentró bajo presión reducida para dar el derivado de 2,6-diclorobenzoximetilcetona. Este compuesto se disolvió en metanol (20 mL) y se hizo reaccionar al adicionar solución NaBH_4 (412 mg)-metanol (40 mL). La mezcla de reacción se calentó lentamente a temperatura ambiente durante 2 h. La reacción se detuvo mediante ácido acético. La mezcla de reacción se destiló bajo presión reducida para remover metanol, se extrajo con acetato de etilo (50 mL x 2), se lavó con agua y solución de cloruro de sodio acuoso, se secó (Na_2SO_4 anhidro), se concentró bajo presión reducida y se separó mediante la cromatografía en columna (acetato de etilo-hexano, 1:5) para dar 4.80 g (86%) del compuesto del título.

^1H -NMR (400 MHz, CDCl_3) 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)

185

Preparación 23-2)

2,6-Diclorobenzoato de (3S)-3-amino-5-(ter-butoxi)-2-hidroxi-5-oxopentilo

El compuesto de la Preparación 23-1) (4.80 g, 9.37 mmol) se disolvió en EtOH y se sometió a la desbenciloxicarbonilación (Pd/C) bajo balón de hidrógeno durante 40 min para dar 3.47 g (98%) del compuesto del título.

$^1\text{H-NMR}$ (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)

Preparación 23-3)

Éster (S)-4-ter-butoxicarbonil-3-{2-[2-(2-ter-butil-bencil)-3-oxo-2,3-dihidro-piridazin-4-il]-butirilamino}-2-oxo-butílico de ácido 2,6-dicloro-benzoico

El compuesto de la Preparación 6-8) se hidrolizó de acuerdo con el mismo procedimiento como la Preparación 2-3) para dar el derivado de ácido carboxílico. Una mezcla de este derivado de ácido carboxílico (100 mg, 0.304 mmol), el compuesto de la Preparación 23-2) (151 mg, 1.2 eq) y HATU (337 mg, 1.3 eq) se enfrió a 0°C, se adicionó trietilamina (0.17 mL, 4.0 eq) al mismo en solvente de DMF (4 mL) y la mezcla se hizo reaccionar durante 1 h. El solvente se destiló bajo presión reducida. El residuo se extrajo con acetato de etilo (30 mL x 2), se lavó con agua, solución de hidrógeno carbonato de sodio acuoso y solución de cloruro de sodio

acuoso, se secó (Na_2SO_4 anhidro) y se concentró bajo presión reducida para dar éster (S)-4-ter-butoxicarbonil-3-{2-[2-(2-ter-butil-bencil)-3-oxo-2,3-dihidro-piridazin-4-il]-butiril-amino}-2-hidroxi-butílico de ácido 2,6-dicloro-benzoico. A este compuesto y el reactivo Dess-Martin (260 mg, 2.0 eq) se adicionó diclorometano anhidro (4 mL), el cual luego se agitó durante 0.5 h a temperatura ambiente. La reacción se detuvo mediante alcohol isopropílico (1 mL). El sólido se removió mediante filtración de celite bajo presión reducida y se extrajo con acetato de etilo (20 mL x 2). El extracto se lavó con agua, solución de hidrógeno carbonato de sodio acuoso, saturado y solución de cloruro de sodio acuoso, se secó (Na_2SO_4 anhidro) y se concentró bajo presión reducida. El residuo se separó mediante la cromatografía en columna (acetato de etilo-hexano al 20-25%) para dar 163 mg (78%) del compuesto del título.

$^1\text{H-NMR}$ (500MHz, CDCl_3) δ 7.84 (m, 1H), 7.62 (m, 1H), 7.43 (t, 1H), 7.34-7.25 (m, 4H), 7.16 (m, 1H), 7.06 (t, 1H), 6.83-6.74 (dos d, 1H), 5.86-5.52 (m, 2H), 5.22-4.81 (m, 3H), 3.86 (m, 1H), 2.89-2.62 (m, 2H), 2.02 (m, 1H), 1.75 (m, 1H), 1.49 & 1.48 (dos s, 9H), 1.41 & 1.37 (dos s, 9H), 0.99 (m, 3H)

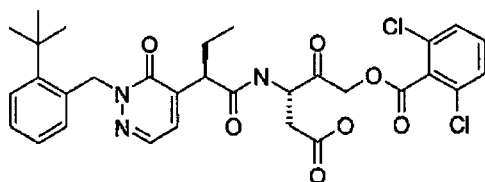
Ejemplo 23-1) y 23-2)

Éster (S)-3-{(R)-2-[2-(2-ter-butil-bencil)-3-oxo-2,3-dihidro-piridazin-4-il]-butirilamino}-4-carboxi-2-oxo-

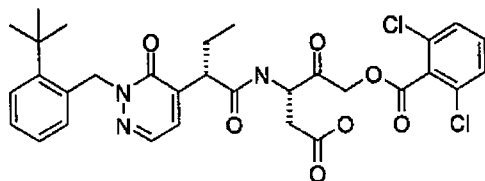
butílico de ácido 2,6-dicloro-benzoico y

Éster (S)-3-{(S)-2-[2-(2-ter-butil-bencil)-3-oxo-2,3-dihidro-piridazin-4-il]-butirilamino}-4-carboxi-2-oxo-butílico de ácido 2,6-dicloro-benzoico

5



10



El compuesto de la Preparación 23-3) (159 mg, 0.29 mmol) se hizo reaccionar de acuerdo con el mismo procedimiento como el Ejemplo 2) para dar el compuesto del título como una mezcla de dos diastereómeros, el cual luego se separó mediante la Prep-TLC (EtOAc al 70%/Hexano) para dar 62 mg (42%) y 50 mg (34%) de cada diastereómero. El compuesto con más baja polaridad sobre la TLC se asignó como el Ejemplo 23-1 y el compuesto con más alta polaridad como el Ejemplo 23-2, pero sus formas de diastereómero específicas no se identificaron.

Compuesto con más baja polaridad: $^1\text{H-NMR}$ (500MHz, DMSO- d_6) δ 8.78(br, 1H), 7.93(m, 1H), 7.56-7.52(m, 3H), 7.40(m, 1H), 7.34(t, 1H), 7.11(m, 1H), 7.05(m, 1H), 6.67(d, 1H), 5.58-5.42(ABq, 2H), 5.30-4.60(br m, 3H), 4.58 & 4.50(dos br m, 1H), 3.72(m, 1H), 2.70-2.50(br, 2H), 1.82-1.63(m, 2H),

25

187

1.40 (m, 9H), 0.85 (m, 3H) (Ejemplo 23-1)

Compuesto con más alta polaridad: ^1H -NMR (500MHz, DMSO- d_6) δ 8.74 (br, 1H), 7.93 (m, 1H), 7.57-7.51 (m, 3H), 7.40 (d, 1H), 7.34 (d, 1H), 7.11 (m, 1H), 7.02 (m, 1H), 6.67 (d, 1H), 5.56-5.43 (ABq, 2H), 5.26-5.00 (br m, 2H), 4.72 (m, 1H), 3.70 (m, 1H), 2.76-2.50 (br, 2H), 1.82-1.63 (m, 2H), 1.38 (s, 9H), 0.85 (t, 3H) (Ejemplo 23-2)

Preparación 24-1)

(3S)-3-Amino-4-hidroxi-5-(2,3,5,6-tetrafluoro-fenoxi)pentanoato de ter-butilo

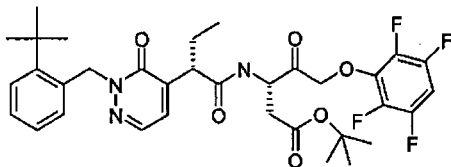
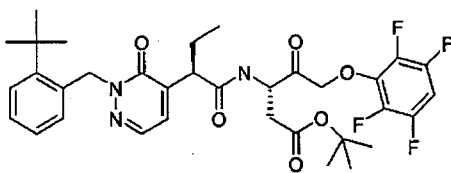
Ácido N-benciloxycarbonil- β -t-butil-aspartico (17.9 g, 55.5 mmol) y 2,3,5,6-tetrafluorofenol se hicieron reaccionar de acuerdo con el mismo procedimiento como la Preparación 23-1) y 23-2) para dar 13.2 g (68%) del compuesto del título.

^1H -NMR (400 MHz, 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)

Preparación 24-2)

Éster ter-butílico de ácido (S)-3-{(R)-2-[2-(2-ter-butil-bencil)-3-oxo-2,3-dihidro-piridazin-4-il]-butiril-amino}-4-oxo-5-(2,3,5,6-tetrafluoro-fenoxi)-pentanoico y;

Éster ter-butílico de ácido (S)-3-{(S)-2-[2-(2-ter-butil-bencil)-3-oxo-2,3-dihidro-piridazin-4-il]-butiril-amino}-4-oxo-5-(2,3,5,6-tetrafluoro-fenoxi)-pentanoico



5

El compuesto de la Preparación 6-8) (104 mg, 0.29 mol) se hidrolizó de acuerdo con el mismo procedimiento como la Preparación 2-3) para dar el derivado de ácido carboxílico. Una mezcla de este derivado de ácido carboxílico (95 mg, 0.29 mmol), el compuesto de la Preparación 24-1) (113 mg, 1.2 eq) y HATU (143 mg, 1.3 eq) se enfrió a 0°C, se adicionó trietilamina (0.16 mL, 4.0 eq) al mismo en solvente de DMF (5 mL) y la mezcla se hizo reaccionar durante 2 h. El solvente se destiló bajo presión reducida. El residuo se extrajo con acetato de etilo (30 mL x 2), se lavó con agua, solución de hidrógeno carbonato de sodio acuoso y solución de cloruro de sodio acuoso, se secó (Na₂SO₄ anhidro), se concentró bajo presión reducida y se purificó preliminarmente mediante la Prep-TLC (EA al 500%/Hexano) para dar 172 mg (89%) de éster ter-butílico de ácido (S)-3-{2-[2-(2-ter-butyl-bencil)-3-oxo-2,3-dihidro-piridazin-4-il]-butiril-amino}-4-hidroxi-5-(2,3,5,6-tetrafluoro-fenoxy)-pentanoico. A este compuesto y el reactivo de Dess-Martin (220 mg, 2.0 eq) se adicionó diclorometano anhidro (4 mL), el cual luego se

10

15

20

25

agitó durante 1 h a temperatura ambiente. La reacción se
detuvo mediante alcohol isopropílico (1 mL). El sólido se
removió mediante filtración de celite bajo presión reducida y
se extrajo con acetato de etilo (20 mL x 2). El extracto se
5 lavó con agua, solución de hidrógeno carbonato de sodio
acuoso, saturado y solución de cloruro de sodio acuoso, se
secó (Na_2SO_4 anhidro) y se concentró bajo presión reducida. El
residuo se purificó mediante la Prep-TLC (EA al 30%/Hexano)
para dar 74 mg (38%) del diastereómero del título con más
10 baja polaridad y 67 mg (35%) con más alta polaridad.

Diastereómero con más baja polaridad: ^1H -NMR
(500MHz, CDCl_3) δ 7.83(d, 1H), 7.59(d, 1H), 7.42(d, 1H),
7.22(d, 1H), 7.17(t, 1H), 7.06(t, 1H), 6.76(m, 1H), 6.73(d,
1H), 5.65(Abq, 2H), 5.19-5.02(Abq, 2H), 4.75(m, 1H), 3.81(dd,
15 1H), 2.76(dd, 1H), 2.59(dd, 1H), 2.19(m, 1H), 1.73(m, 1H),
1.48(s, 9H), 1.34(s, 9H), 0.98(t, 3H)

Diastereómero con más alta polaridad: ^1H -NMR
(500MHz, CDCl_3) δ 7.83(d, 1H), 7.61(d, 1H), 7.39(d, 1H),
7.23(d, 1H), 7.14(t, 1H), 7.05(t, 1H), 6.78(d, 1H), 6.72(m,
20 1H), 5.74-5.58(Abq, 2H), 5.07-4.83(Abq, 2H), 4.82(m, 1H),
3.80(dd, 1H), 2.89(dd, 1H), 2.68(dd, 1H), 2.16(m, 1H),
1.75(m, 1H), 1.48(s, 9H), 1.39(s, 9H), 0.96(t, 3H)

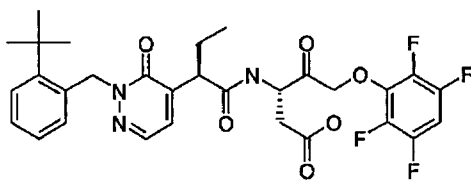
Ejemplo 24-1) y 24-2)

Ácido (S)-3-{(R)-2-[2-(2-ter-butyl-bencil)-3-oxo-
25 2,3-dihidro-piridazin-4-il]-butirilamino}-4-oxo-5-(2,3,5,6-

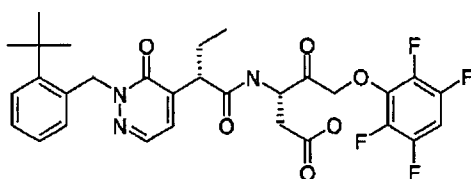
tetrafluoro-fenoxi)-pentanoico y

Ácido (S)-3-{(S)-2-[2-(2-ter-butil-bencil)-3-oxo-2,3-dihidro-piridazin-4-il]-butiril-amino}-4-oxo-5-(2,3,5,6-tetrafluoro-fenoxi)-pentanoico

5



10



El compuesto con más baja polaridad preparado en la Preparación 24-2) (74 mg, 0.11 mmol) se hizo reaccionar de acuerdo con el mismo procedimiento como el Ejemplo 2) para dar uno de los compuestos del título (58 mg, 87%) el cual se
15 asignó como el Ejemplo 24-1).

$^1\text{H-NMR}$ (500MHz, CDCl_3) δ 7.91(d, 1H), 7.43(d, 1H), 7.39(bs, 1H), 7.18(t, 1H), 7.05(t, 1H), 6.75(m, 1H), 6.70(d, 1H), 5.65(s, 2H), 5.40-4.50(m, 3H), 3.95(m, 1H), 3.01(m, 1H), 2.55(m, 1H), 2.13(m, 1H), 1.73(m, 1H), 1.47(s, 9H), 0.97(t, 3H) (Ejemplo 24-1)
20

El compuesto con más alta polaridad preparado en la Preparación 24-2) (67 mg, 0.10 mmol) se hizo reaccionar de acuerdo con el mismo procedimiento como el Ejemplo 2) para dar el otro de los compuestos del título (60 mg, 98%) el cual
25 se asignó como el Ejemplo 24-2).

$^1\text{H-NMR}$ (500MHz, CDCl_3) δ 7.91(d, 1H), 7.42(d, 1H), 7.31(bs, 1H), 7.16(t, 1H), 7.03(t, 1H), 6.75(m, 1H), 6.70(d, 1H), 5.65(s, 2H), 4.89-4.03(m, 3H), 3.76(m, 1H), 2.99(m, 1H), 2.70(m, 1H), 2.12(m, 1H), 1.75(m, 1H), 1.48(s, 9H), 0.97(t, 3H) (Ejemplo 24-2)

Preparación 25-1)

Éster ter-butílico de ácido (S)-3-{2-[2-(3-ter-butyl-bencil)-3-oxo-2,3-dihidro-piridazin-4-il]-butiril-amino}-4-oxo-5-(2,3,5,6-tetrafluoro-fenoxi)-pentanoico

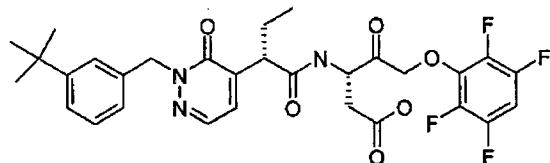
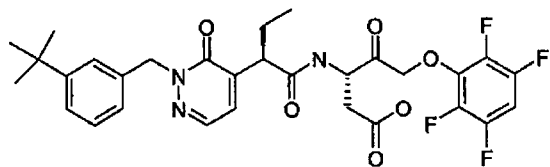
El compuesto de la Preparación 7-2) (135 mg, 0.38 mmol) se hizo reaccionar de acuerdo con el mismo procedimiento como la Preparación 24-2) para dar el compuesto del título (198 mg, 79%).

$^1\text{H-NMR}$ (500MHz, CDCl_3) δ 7.79(dos d, 1H), 7.63(m, 1H), 7.42(dos s, 1H), 7.32-7.14(m, 4H), 6.73(m, 1H), 5.43-5.21(m, 2H), 5.20-4.71(m, 3H), 3.77(m, 1H), 2.93-2.59(m, 2H), 2.15(m, 1H), 1.69(m, 1H), 1.43 & 1.40(dos s, 9H), 1.29(s, 9H), 0.95(m, 3H)

Ejemplo 25-1) y 25-2)

Ácido (S)-3-{(R)-2-[2-(3-ter-butyl-bencil)-3-oxo-2,3-dihidro-piridazin-4-il]-butirilamino}-4-oxo-5-(2,3,5,6-tetrafluoro-fenoxi)-pentanoico y

Ácido (S)-3-{(S)-2-[2-(3-ter-butyl-bencil)-3-oxo-2,3-dihidro-piridazin-4-il]-butirilamino}-4-oxo-5-(2,3,5,6-tetrafluoro-fenoxi)-pentanoico



5

10

15

20

25

El compuesto de la Preparación 25-1) (75 mg, 0.11 mmol) se hizo reaccionar de acuerdo con el mismo procedimiento como el Ejemplo 2) para dar el compuesto del título como una mezcla de dos diastereómeros, el cual luego se separó mediante la Prep-TLC (EtOAc al 70%/Hexano) para dar 31 mg (44%) de un diastereómero con más baja polaridad (Ejemplo 25-1) y 33 mg (48%) de un diastereómero con más alta polaridad (Ejemplo 25-2).

Diastereómero con más baja polaridad: $^1\text{H-NMR}$ (500MHz, DMSO- d_6) δ 8.70(m, 1H), 7.87(d, 1H), 7.50(m, 1H), 7.30(s, 1H), 7.24(d, 2H), 7.18(m, 1H), 6.97(m, 1H), 5.24-5.03(m, 4H), 4.64-4.52(m, 1H), 3.68(m, 1H), 2.68-2.58(m, 2H), 1.73(m, 1H), 1.63(m, 1H), 1.19(s, 9H), 0.82(m, 3H) (Ejemplo 25-1)

Diastereómero con más alta polaridad: $^1\text{H-NMR}$ (500MHz, DMSO- d_6) δ 8.66(m, 1H), 7.87(d, 1H), 7.50(m, 1H), 7.30(s, 1H), 7.25(dos d, 2H), 7.16(m, 1H), 6.96(m, 1H), 5.23-4.90(m, 4H), 4.63-4.54(m, 1H), 3.68(m, 1H), 2.68-2.50(m, 2H), 1.73(m, 1H), 1.63(m, 1H), 1.19(s, 9H), 0.82(m, 3H) (Ejemplo 25-2)

194

25-2)

Preparación 26-1)

Clorhidrato de éster 1-metílico de éster 4-ter-butílico de ácido (S)-2-amino-succínico

5 A Cbz-Asp(O-ter-Bu)-OH.H₂O (5.00 g, 14.6 mmol) y K₂CO₃ (4.05 g, 2.0 eq) se adicionaron DMF (100 mL) y MeI (2.74 mL, 3 eq), el cual luego se agitó durante 2-3 h a temperatura ambiente. El solvente se destiló bajo presión reducida. El residuo se extrajo con acetato de etilo (100 mL x 2), se lavó
10 con agua, solución de hidrógeno carbonato de sodio acuoso y solución de cloruro de sodio acuoso, se secó (Na₂SO₄ anhidro) y se concentró bajo presión reducida. El residuo se purificó mediante la cromatografía en columna (acetato de etilo al 30%/hexano) para dar éster 1-metílico de éster 4-ter-butílico
15 de ácido (S)-2-benciloxicarbonilamino-succínico en un rendimiento estequiométrico. Este compuesto se disolvió en MeOH (100 mL), se adicionó c-HCl (1.1 mL, 1.0 eq) y se sometió a la desbenciloxicarbonilación (Pd/C) durante 40 min bajo balón de hidrógeno, mediante lo cual dieron 3.28 g (96%)
20 del compuesto del título.

Preparación 26-2)

Éster 1-metílico de éster 4-ter-butílico de ácido (S)-2-{2-[2-(2-ter-buril-bencil)-3-oxo-2,3-dihidro-piridazin-4-il]-butirilamino}-succínico

25 El compuesto de la Preparación 6-8) se hidrolizó de

acuerdo con el mismo procedimiento como la Preparación 2-3) para dar el derivado de ácido carboxílico. Una mezcla de este ácido carboxílico (938 mg, 2.86 mmol), el compuesto de la Preparación 26-1) (753 mg, 1.1 eq) y HATU (1.41 g, 1.3 eq) se enfrió a 0°C, se adicionó trietilamina (2.00 mL, 5.0 eq) al mismo en solvente de DMF (18 mL) y la mezcla se hizo reaccionar durante 1 h a temperatura ambiente. El solvente se destiló bajo presión reducida. El residuo se extrajo con acetato de etilo (50 mL x 2), se lavó con agua, solución de hidrógeno carbonato de sodio acuoso y solución de cloruro de sodio acuoso, se secó (Na₂SO₄ anhidro) y se concentró bajo presión reducida. El residuo se purificó mediante la cromatografía en columna (acetato de etilo al 50%-hexano) para dar 1.24 g (84%) del compuesto del título.

¹H-NMR (400MHz, CDCl₃) δ 7.84(dd, 1H), 7.48(d, 1H), 7.41-7.32(dd, 1H), 7.30(d, 1H), 7.23(m, 1H), 7.14(m, 1H), 6.92-6.83(dd, 1H), 5.76-5.65(m, 2H), 4.82(m, 1H), 3.91(m, 1H), 3.76,3.68(dos s, 3H), 2.92-2.63(m, 2H), 2.19(m, 1H), 1.76(m, 1H), 1.55(s, 9H), 1.46,1.42(dos s, 9H), 1.02(m, 3H).

Preparación 26-3)

Éster ter-butílico de ácido (S)-5-bromo-3-{2-[2-(2-ter-butil-bencil)-3-oxo-2,3-dihidro-piridazin-4-il]-butirilamino}-4-oxo-pentanoico

El compuesto de la Preparación 26-2) (1.24 g, 2.41 mmol) se hidrolizó de acuerdo con el mismo procedimiento como

la Preparación 2-3) para dar el derivado de ácido carboxílico (1.15 g, 95%). A este derivado de ácido carboxílico (1.15 g, 2.30 mmol) y NMM (0.28 mL, 2.53 mmol) se adicionó tetrahidrofurano anhidro (20 mL) bajo atmósfera de nitrógeno, el cual se mantuvo a 0°C. Se adicionó formiato de isobutilcloro (0.31 mL, 2.42 mmol) y la mezcla se agitó durante aproximadamente 30 min. A la mezcla de reacción mantenida a 0°C se adicionó solución de diazometano-éter (sintetizado de 4.0 eq de 1-metil-3-nitro-1-nitroso-guanidina, 40 mL), la cual luego se agitó durante 4 h a 0°C para dar el derivado de diazocetona. HBr al 30%/AcOH (1.02 mL, 2.0 eq) se adicionó al mismo a 0°C y se agitó durante 30 min. La mezcla de reacción se extrajo con acetato de etilo, se lavó con agua, dos veces con solución de hidrógeno carbonato de sodio acuoso, saturado y solución de cloruro de sodio acuoso, se secó (Na₂SO₄ anhidro) y se concentró bajo presión reducida para dar el derivado de bromometilcetona (1.30 g, 98%). Este compuesto se utilizó en la siguiente reacción sin purificación adicional.

¹H-NMR (500MHz, CDCl₃) δ 7.84(dd, 1H), 7.63-7.58(dd, 1H), 7.43(d, 1H), 7.25-7.17(m, 2H), 7.09(m, 1H), 6.83-6.75(dd, 1H), 5.74-5.62(m, 2H), 4.91,4.82(dos m, 1H), 4.12-3.93(m, 2H), 3.79(m, 1H), 2.91-2.60(m, 2H), 2.17(m, 1H), 1.74(m, 1H), 1.49(s, 9H), 1.40,1.36(dos s, 9H), 0.97(m, 3H).

25

Preparación 26-4)

Éster ter-butílico de ácido (S)-3-{2-[2-(2-ter-butyl-bencil)-3-oxo-2,3-dihidro-piridazin-4-il]-butiril-amino}-4-oxo-5-(2,3,6-trifluoro-fenoxi)-pentanoico

El compuesto de la Preparación 26-3) (100 mg, 0.17 mmol) y 2,3,6-trifluoro-fenol (31 mg, 1.2 eq) se disolvieron en dimetilformamida (2 mL), KF (25 mg, 2.5 eq) se adicionó al mismo y la mezcla se agitó durante 4 h a temperatura ambiente. El residuo obtenido mediante concentración bajo presión reducida se extrajo con acetato de etilo, se lavó con agua, dos veces con solución de hidrógeno carbonato de sodio acuoso, saturado y solución de cloruro de sodio acuoso, se secó (Na₂SO₄ anhidro) y se concentró bajo presión reducida. El residuo se purificó mediante la Prep-TLC (acetato de etilo al 70%/hexano) para dar 77 mg (69%) del compuesto del título.

¹H-NMR (500MHz, CDCl₃) δ 7.82(m, 1H), 7.56(m, 1H), 7.42(t, 1H), 7.23(t, 1H), 7.16(m, 1H), 7.06(m, 1H), 6.82-6.73(m, 3H), 5.76-5.55(m, 2H), 5.10-4.78(m, 3H), 3.82(m, 1H), 2.94-2.60(m, 2H), 2.16(m, 1H), 1.73(m, 1H), 1.46(s, 9H), 1.39,1.34(dos s, 9H), 0.95(m, 3H).

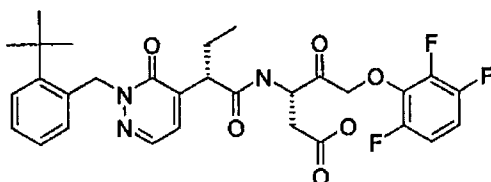
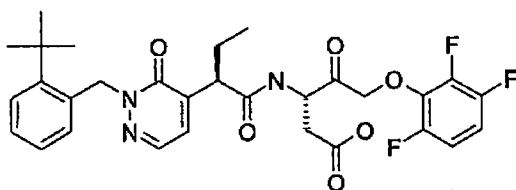
Ejemplo 26-1) y 26-2)

Ácido (S)-3-{(R)-2-[2-(2-ter-butyl-bencil)-3-oxo-2,3-dihidro-piridazin-4-il]-butirilamino}-4-oxo-5-(2,3,6-trifluoro-fenoxi)-pentanoico y

Ácido (S)-3-{(S)-2-[2-(2-ter-butyl-bencil)-3-oxo-

2,3-dihidro-piridazin-4-il]-butirilammonio}-4-oxo-5-(2,3,6-trifluoro-fenoxi)-pentanoico

5



10

El compuesto de la Preparación 26-4) (77 mg, 0.12 mmol) se hizo reaccionar de acuerdo con el mismo procedimiento como el Ejemplo 2) para dar el compuesto del título como una mezcla de dos diastereómeros, el cual luego se separó mediante la Prep-TLC (acetato de etilo al 15 50%/hexano) para dar 24 mg (34%) de un diastereómero con más baja polaridad (Ejemplo 26-1) y 17 mg (24%) de un diastereómero con más alta polaridad (Ejemplo 26-2).

Diastereómero con más baja polaridad: $^1\text{H-NMR}$ (500MHz, CDCl_3) δ 7.89(d, 1H), 7.43(d, 1H), 7.30(m, 1H), 20 7.18(t, 1H), 7.05(t, 1H), 6.83(m, 2H), 6.71(d, 1H), 5.67-5.63(m, 2H), 4.82-4.10(m, 3H), 3.84(m, 1H), 2.86(m, 1H), 2.52(m, 1H), 2.16(m, 1H), 1.73(m, 1H), 1.48(s, 9H), 0.95(t, 3H).

Diastereómero con más alta polaridad: $^1\text{H-NMR}$ (500MHz, CDCl_3) δ 7.90(d, 1H), 7.41(d, 1H), 7.32(m, 1H), 25

7.15(t, 1H), 7.02(t, 1H), 6.79(m, 2H), 6.70(d, 1H), 5.63(m, 2H), 4.89-4.05(m, 3H), 3.90(m, 1H), 3.05(m, 1H), 2.69(m, 1H), 2.12(m, 1H), 1.73(m, 1H), 1.47(s, 9H), 0.96(m, 3H).

Preparación 27)

5 **Éster ter-butílico de ácido (S)-3-{2-[2-(2-ter-butyl-bencil)-3-oxo-2,3-dihidro-piridazin-4-il]-butiril-amino}-5-(2,6-difluoro-fenoxi)-4-oxo-pentanoico**

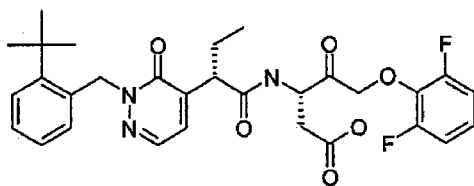
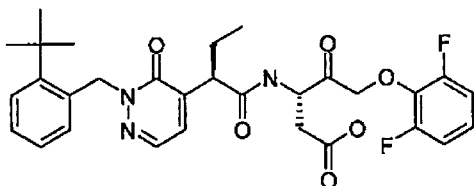
El compuesto de la Preparación 26-3) (100 mg, 0.17 mmol) y 2,6-difluoro-fenol (27 mg, 1.2 eq) se disolvieron en
10 dimetilformamida (2 mL), se adicionó KF (25 mg, 2.5 eq) al mismo y la mezcla se agitó durante 4 h a temperatura ambiente. El residuo obtenido mediante concentración bajo presión reducida se extrajo con acetato de etilo, se lavó con agua, dos veces con solución de hidrógeno carbonato de sodio
15 acuoso, saturado y solución de cloruro de sodio acuoso, se secó (Na₂SO₄ anhidro) y se concentró bajo presión reducida. El residuo se purificó mediante la Prep-TLC (acetato de etilo al 70%/hexano) para dar 77 mg (71%) del compuesto del título.

20 ¹H-NMR (500MHz, CDCl₃) δ 7.79(m, 1H), 7.54(m, 1H), 7.41(m, 1H), 7.23(m, 1H), 7.16(m, 1H), 7.05(m, 1H), 6.92-6.72(m, 4H), 5.76-5.52(m, 2H), 5.02-4.73(m, 3H), 3.84(m, 1H), 2.97-2.62(m, 2H), 2.15(m, 1H), 1.71(m, 1H), 1.48(s, 9H), 1.40, 1.34(dos s, 9H), 0.96(m, 3H).

25 **Ejemplo 27-1) y 27-2)**

Ácido (S)-3-{(R)-2-[2-(2-ter-butil-bencil)-3-oxo-2,3-dihidro-piridazin-4-il]-butirilamino}-5-(2,6-difluorofenoxi)-4-oxo-pentanoico

Ácido (S)-3-{(S)-2-[2-(2-ter-butil-bencil)-3-oxo-2,3-dihidro-piridazin-4-il]-butirilamino}-5-(2,6-difluorofenoxi)-4-oxo-pentanoico



El compuesto de la Preparación 27) (75 mg, 0.11 mmol) se hizo reaccionar de acuerdo con el mismo procedimiento como el Ejemplo 2) para dar el compuesto del título como una mezcla de dos diastereómeros, el cual luego se separó mediante la Prep-TLC (EtOAc al 50%/Hexano) para dar 25 mg (36%) de un diastereómero con más baja polaridad (Ejemplo 27-1) y 24 mg (35%) de un diastereómero con más alta polaridad (Ejemplo 27-2).

Diastereómero con más baja polaridad: $^1\text{H-NMR}$ (500MHz, CDCl_3) δ 7.88(d, 1H), 7.43(d, 1H), 7.28(m, 1H), 7.18(t, 1H), 7.05(t, 1H), 6.97(m, 1H), 6.87(t, 2H), 6.71(d, 1H), 5.67-5.63(m, 2H), 4.77-4.10(m, 3H), 3.82(m, 1H), 2.83(m,

1H), 2.51(m, 1H), 2.14(m, 1H), 1.71(m, 1H), 1.48(s, 9H),
0.95(t, 3H)

Diastereómero con más alta polaridad: $^1\text{H-NMR}$
(500MHz, CDCl_3) δ 7.87(d, 1H), 7.41(d, 1H), 7.29(m, 1H),
5 7.16(t, 1H), 7.03(t, 1H), 6.93(m, 1H), 6.83(t, 2H), 6.72(d,
1H), 5.67-5.62(m, 2H), 4.88-4.10(m, 3H), 3.87(m, 1H), 3.04(m,
1H), 2.67(m, 1H), 2.11(m, 1H), 1.72(m, 1H), 1.46(s, 9H),
0.96(t, 3H).

Preparación 28)

10 Éster ter-butílico de ácido (S)-3-{2-[2-(2-ter-
butil-bencil)-3-oxo-2,3-dihidro-piridazin-4-il]-butiril-
amino}-5-(difenil-fosfinoiloxi)-4-oxo-pentanoico

El compuesto de la Preparación 26-3) (100 mg, 0.17
mmol) y ácido difenilfosfínico (45 mg, 1.2 eq) se disolvieron
15 en dimetilformamida (2 mL), se adicionó KF (25 mg, 2.5 eq) al
mismo y la mezcla se agitó durante 4 h a temperatura
ambiente. El residuo obtenido mediante concentración bajo
presión reducida se extrajo con acetato de etilo, se lavó con
agua, dos veces con solución de hidrógeno carbonato de sodio
20 acuoso, saturado y solución de cloruro de sodio acuoso, se
secó (Na_2SO_4 anhidro) y se concentró bajo presión reducida.
El residuo se purificó mediante la Prep-TLC (acetato de
etilo al 50%/hexano) para dar 80 mg (65%) del compuesto del
título.

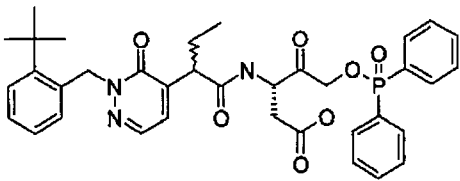
25 $^1\text{H-NMR}$ (500MHz, CDCl_3) δ 7.87-7.76(m, 5H), 7.56-7.41

(m, 8H), 7.18-7.14(m, 2H), 7.07(m, 1H), 6.83-6.72(dd, 1H), 5.77-5.56(m, 2H), 4.94-4.62(m, 3H), 3.77(m, 1H), 2.79-2.54(m, 2H), 2.09(m, 1H), 1.68(m, 1H), 1.48(s, 9H), 1.36 & 1.31(dos s, 9H), 0.89(m, 3H).

5 **Ejemplo 28)**

Ácido (S)-3-{2-[2-(2-ter-butil-bencil)-3-oxo-2,3-dihidro-piridazin-4-il]-butirilamino}-5-(difenil-fosfinoil-oxi)-4-oxo-pentanoico

10



El compuesto de la Preparación 28) (80 mg, 0.11 mmol) se hizo reaccionar de acuerdo con el mismo
15 procedimiento como el Ejemplo 2), se concentró bajo presión reducida y se separó mediante la Prep-TLC (MeOH al 10%/CH₂Cl₂) para dar 68 mg (91%) del compuesto del título como una mezcla de dos diastereómeros.

¹H-NMR (500MHz, CDCl₃) δ 7.80-7.71(m, 5H), 7.52-
20 7.40(m, 7H), 7.20(m, 1H), 7.15(m, 1H), 7.04(m, 1H), 6.75(m, 1H), 5.72-5.49(m, 2H), 4.76-4.10(m, 3H), 3.84(m, 1H), 2.93-2.54(m, 2H), 1.98(m, 1H), 1.65(m, 1H), 1.46(s, 9H), 0.87-0.79(m, 3H).

Experimento 1
25 **Determinación del efecto inhibidor de caspasa**

La caspasa-1 y caspasa-8 conocidas como cisteína proteasas en la forma de $\alpha_2\beta_2$ se expresaron, se purificaron y se activaron al modificar un método conocido en Thornberry, N. A. y colaboradores, *Nature*, 1992, 356, 768. Thornberry, N. A. *Methods in Enzymology*, 1994, 244, 615. Walker, N. P. C. y colaboradores, *Cell*, 1994, 78, 343 y caspasa-9 también se purificó por un método similar, y la actividad inhibidora contra estas se probó. Brevemente describiendo, las subunidades p10 y p20 (Thornberry, N. A. y colaboradores, *Nature*, 1992, 356, 768) se expresaron en *E.coli* y se purificaron mediante la columna de níquel y la cromatografía de intercambio aniónico para dar la caspasa-1, caspasa-8 y caspasa-9. Los sustratos fluorescentes AcYVAD-AFC para la caspasa-1 así obtenida, AcDEVd-AFC para caspasa-8 y AcLEHD-AFC para caspasa-9, se utilizaron para determinar la actividad específica de los inhibidores sintetizados. La reacción de enzima se llevó a cabo a 25°C con varias concentraciones de los inhibidores en solución reguladora que contiene HEPES 50 mM (pH 7.50), sacarosa al 10%(p/v), CHAPS al 0.1%(p/v), NaCl 100 mM, EDTA 1mM y DTT 10 mM en la presencia de AcYVAD-AFC 50 μ M para caspasa-1 10 nM, AcDEVd-AFC 50 μ M para caspasa-8 2.1 nM y AcLEHD-AFC 150 μ M para caspasa-9 200 nM. Las constantes inhibidoras K_i y K_{obs} de los inhibidores se determinaron al medir la velocidad de reacción con el lapso de tiempo utilizando un espectrómetro

fluorescente y al obtener la constante de proporción inicial. K_i se calculó de la gráfica Lineweaver Burk y K_{obs} de la siguiente Ecuación 1.

[Ecuación 1]

5
$$K_{obs} = -\ln (1 - A_t / A_{00}) / t$$

en la cual

A_t significa proporción de segmentación (%) en tiempo t , y

A_{00} significa la proporción de segmentación máxima (%) .

Se utilizó el Espectrómetro Fluorescente Spectra MAX GeminiXS de Molecular Device Co. en la longitud de onda de excitación de 405 nm y la longitud de onda de emisión de 505 nm.

15 La actividad inhibidora *in vivo* de los inhibidores se determinó al someter las células Jurkat (ATCC TIB-152) a apoptosis utilizando el anticuerpo Fas (Upstate Biotech 05-201) y al detector el cambio de color de acuerdo con el método WST-I conocido en Francoeur A.M. y Assalian A. (1996)

20 Biochemica 3, 19-25 para observar la cantidad de células Jurkat vivas cuando las células se trataron mediante el inhibidor. Se utilizó el Espectrómetro Spectra MAX 340 de Molecular Device Co. en la longitud de onda de absorbencia de 440 nm.

25 [Tabla 1]

5

10

15

20

25

Ejemplo No.	Caspasa-8 K _{obs} /[I] (M ⁻¹ min ⁻¹)	Célula Jurkat IC ₅₀ (μ M)
1	5.8 E4	8.0
2	4.4 E5	1.48
3	1.3 E6	0.46
4	4.1 E5	0.39
5	2.3 E5	2.07
6	3.8 E6	0.042
7	1.4 E6	0.035
8	1.2 E6	0.82
9	3.0 E6	0.88
10	1.2 E6	0.55
11	3.4 E6	0.17
12	9.3 E5	0.29
13	6.9 E5	3.76
14	8.4 E5	0.73
15	7.2 E5	0.80
16	7.4 E5	0.09
17	1.5 E6	0.13
18	4.4 E6	0.042
19	1.7 E6	0.035
20	1.1 E6	0.043
21	4.0 E6	0.043
22	8.6 E5	0.216
23-1	1.2 E6	0.14
23-2	5.6 E4	2.48
24-1	3.8 E6	0.012
24-2	1.1 E5	4.15
25-1	1.6 E6	0.031
25-2	5.4 E4	1.94
26-1	1.7 E6	0.045
26-2	4.7 E5	-
27-1	7.0 E5	0.090
27-2	1.9 E5	-
28	3.4 E6	0.365

Experimento 2

Efecto terapéutico para lesión del hígado inducido por anticuerpo contra Fas en ratón

Etapas 1) Preparación de muestra sanguínea

5 Ratones Balb/c machos (6 semanas, Charles River Laboratory, Osaka, Japón) se conservaron bajo las condiciones de 22°C, 55% de humedad relativa y ciclo de luz-oscuridad de 12 horas. Se suministraron alimento y agua *ad libitum*. En solución reguladora de fosfato libre de pirógeno se disolvió
10 el anticuerpo contra Fas (Jo2; BD pharmlingen, San Diego, California), el cual luego se inyectó a cada ratón en la cantidad de 0.15 mg/kg a través de la vena de la cola. Inmediatamente después de la inyección del anticuerpo Fas, el vehículo (una mezcla de PEG400:etanol = 2:1 fue 20 veces
15 diluida con solución reguladora de fosfato) en donde el compuesto de prueba se disuelve o el vehículo solo fue oralmente administrado a los ratones. Después de 6 horas de la administración del fármaco, las muestras sanguíneas se obtuvieron de sus corazones.

20 Etapas 2: Determinación de la actividad de la aminotransferasa en el plasma

 La actividad de ALT en el plasma se determinó para las muestras sanguíneas obtenidas en la Etapa 1 utilizando el equipo de ensayo ALT (Asan Pharm. Co., Seúl, Korea) de
25 acuerdo con la instrucción del fabricante. Los resultados

mostraron que la inyección del anticuerpo Fas fuertemente incrementa la actividad de ALT en el plasma y los compuestos de prueba inhiben la actividad de enzima incrementada de una manera dependiente de dosis. Basado en estos resultados, los
5 valores ED_{50} de los compuestos de prueba se calcularon utilizando el software Prism de GraphPad Co. para dar 0.001-10 mg/kg.

CAMPO DE APLICACIÓN INDUSTRIAL

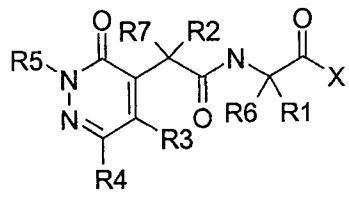
Como muestran los resultados anteriores de los
10 Experimentos, el compuesto de la fórmula (1) de la presente invención tiene una excelente actividad inhibidora contra caspasa, y particularmente exhibe un efecto terapéutico en el modelo animal de la lesión de hígado inducida por el anticuerpo Fas. Por lo tanto, el compuesto de la fórmula (1)
15 puede ser ventajosamente utilizado para el tratamiento de varias enfermedades y síntomas mediados por caspasa.

REIVINDICACIONES

1. Un compuesto de la fórmula (1):

[Fórmula 1]

5



caracterizado porque

I) R¹ representa H, alquilo de C₁-C₅, cicloalquilo de C₃-C₁₀, arilo o un residuo de cadena lateral de todos los aminoácidos naturales,

II) R² representa H, alquilo de C₁-C₅, cicloalquilo de C₃-C₁₀, arilo o un residuo de cadena lateral de todos los aminoácidos naturales,

III) R³ representa H, alquilo de C₁-C₅, hidroxilo, alcoxi de C₁-C₅ o halógeno,

IV) R⁴ representa H, alquilo de C₁-C₅, cicloalquilo de C₃-C₁₀ o arilo,

V) R⁵ representa H, alquilo de C₁-C₅, cicloalquilo de C₃-C₁₀ o arilo,

VI) R⁶ y R⁷ independientemente entre sí cada uno representa H, alquilo de C₁-C₅, cicloalquilo de C₃-C₁₀ o arilo,

VII) X representa -CH₂OR⁹ (R⁹ es alquilo de C₁-C₅, cicloalquilo de C₃-C₁₀ o arilo), -CH₂OC(=O)R¹⁰ (R¹⁰ es alquilo de C₁-C₅, cicloalquilo de C₃-C₁₀ o arilo), -CH₂-OP(=O)R¹¹₂ (R¹¹ es alquilo de C₁-C₅, cicloalquilo de C₃-C₁₀ o arilo), o -CH₂-W (W

25

es halógeno) o sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

2. El compuesto de conformidad con la reivindicación 1, caracterizado porque R^5 representa alquilo de C_1-C_5 sustituido por cicloalquilo de C_3-C_{10} sustituido o no sustituido o por arilo sustituido o no sustituido; o representa arilo sustituido o no sustituido, o sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

3. El compuesto de conformidad con la reivindicación 2, caracterizado porque R^5 representa alquilo de C_1-C_5 sustituido por cicloalquilo de C_3-C_{10} que es no sustituido o sustituido por uno o más sustituyentes seleccionados del grupo que consiste de alquilo de C_1-C_5 , hidroxilo, alcoxi de C_1-C_5 y halógeno, o por arilo que es no sustituido o sustituido por uno o más sustituyentes seleccionados del grupo que consiste de alquilo de C_1-C_5 , hidroxilo, alcoxi de C_1-C_5 y halógeno; o representa arilo que es no sustituido o sustituido por uno o más sustituyentes seleccionados del grupo que consiste de alquilo de C_1-C_5 , hidroxilo, alcoxi de C_1-C_5 y halógeno, o sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

4. El compuesto de conformidad con la reivindicación 1, caracterizado porque

I) R^1 representa un residuo de cadena lateral de todos los aminoácidos naturales,

II) R^2 representa alquilo de C_1-C_5 ,

III) R^3 representa H, alquilo de C_1-C_5 , alcoxi de C_1-C_5 o halógeno,

IV) R^4 representa H,

V) R^5 representa alquilo de C_1-C_5 sustituido por
5 cicloalquilo de C_3-C_{10} que es no sustituido o sustituido por
uno o más sustituyentes seleccionados del grupo que consiste
de alquilo de C_1-C_5 , hidroxí, alcoxi de C_1-C_5 y halógeno, o
por arilo que es no sustituido o sustituido por uno o más
sustituyentes seleccionados del grupo que consiste de alquilo
10 de C_1-C_5 , hidroxí, alcoxi de C_1-C_5 y halógeno; o representa
arilo que es no sustituido o sustituido por uno o más
sustituyentes seleccionados del grupo que consiste de alquilo
de C_1-C_5 , hidroxí, alcoxi de C_1-C_5 y halógeno,

VI) R^6 y R^7 independientemente entre sí representan
15 H,

VII) X representa $-CH_2OR^9$ (R^9 es alquilo de C_1-C_5 ,
cicloalquilo de C_3-C_{10} o arilo), $-CH_2OC(=O)R^{10}$ (R^{10} es alquilo
de C_1-C_5 , cicloalquilo de C_3-C_{10} o arilo), o $-CH_2-W$ (W es
halógeno), o sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

20 5. El compuesto de conformidad con la
reivindicación 1, caracterizado porque

I) R^1 representa $-CH_2COOH$,

II) R^2 representa alquilo de C_1-C_5 ,

III) R^3 representa H, alquilo de C_1-C_5 , alcoxi de
25 C_1-C_5 o halógeno,

IV) R^4 representa H,

V) R^5 representa alquilo de C_1-C_5 sustituido por cicloalquilo de C_3-C_{10} que es no sustituido o sustituido por uno o más sustituyentes seleccionados del grupo que consiste de alquilo de C_1-C_5 , hidroxí, alcoxi de C_1-C_5 y halógeno, o por arilo que es no sustituido o sustituido por uno o más sustituyentes seleccionados del grupo que consiste de alquilo de C_1-C_5 , hidroxí, alcoxi de C_1-C_5 y halógeno; o representa arilo que es no sustituido o sustituido por uno o más sustituyentes seleccionados del grupo que consiste de alquilo de C_1-C_5 , hidroxí, alcoxi de C_1-C_5 y halógeno,

VI) R^6 y R^7 independientemente entre sí cada uno representa H,

VII) X representa $-CH_2O-(2,3,5,6-$ tetrafluorofenilo), $-CH_2O-(2,3,6-$ trifluorofenilo), $-CH_2O-(2,6-$ difluorofenilo), $-CH_2O-(2,6-$ diclorobenzoilo) o $-CH_2-$ F, o sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

6. Ácido 3-2-[2-(2-ter-butí-bencil)-3-oxo-2,3-dihidro-piridazin-4-il]-butirilamino-5-fluoro-4-oxo-pentanoico.

7. Ácido 3-2-[2-(3-ter-butí-bencil)-3-oxo-2,3-dihidro-piridazin-4-il]-butirilamino-5-fluoro-4-oxo-pentanoico.

8. Una composición farmacéutica para inhibir caspasa, caracterizada porque comprende el compuesto como se

definió en cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7 o sal
farmacéuticamente aceptable del mismo como un ingrediente
activo junto con un portador farmacéuticamente aceptable.

9. La composición de conformidad con la
5 reivindicación 8, caracterizada porque es para prevenir la
inflamación y apoptosis.

10. La composición de conformidad con la
reivindicación 8, caracterizada porque es para el tratamiento
o prevención de demencia, apoplejía cerebral, deterioro del
10 cerebro debido al SIDA, diabetes, úlcera gástrica, lesión
cerebral por hepatitis, enfermedades hepáticas inducidas por
hepatitis, hepatitis aguda, falla hepática fulminante,
sepsis, rechazo al transplante de órgano, artritis reumática,
apoptosis celular cardíaca debido a las enfermedades
15 cardíacas isquémicas o cirrosis del hígado.

11. La composición de conformidad con la
reivindicación 8, caracterizada porque es para el tratamiento
de hepatitis aguda o cirrosis del hígado.

12. La composición de conformidad con la
20 reivindicación 8, caracterizada porque es para el tratamiento
de artritis reumática.

RESUMEN DE LA INVENCION

La presente invención se relaciona a un derivado de piridazinona que se puede usar como un inhibidor de caspasa, proceso para la preparación del mismo y composición
5 farmacéutica para inhibir caspasa que comprende el mismo.

PATENT COOPERATION TREATY

PCT

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

(PCT Article 18 and Rules 43 and 44)

214

Applicant's or agent's file reference PC07019-LG	FOR FURTHER ACTION see Form PCT/ISA/220 as well as, where applicable, item 5 below.	
International application No. PCT/KR2007/003617	International filing date (day/month/year) 27 JULY 2007 (27.07.2007)	(Earliest) Priority Date (day/month/year) 02 AUGUST 2006 (02.08.2006)
Applicant LG LIFE SCIENCES LTD. et al		

This International search report has been prepared by this International Searching Authority and is transmitted to the applicant according to Article 18. A copy is being transmitted to the International Bureau.

This international search report consists of a total of 3 sheets.

☐ It is also accompanied by a copy of each prior art document cited in this report.

1. Basis of the report

a. With regard to the **language**, the international search was carried out on the basis of:

- ☒ the international application in the language in which it was filed
- ☐ a translation of the international application into _____, which is the language of a translation furnished for the purposes of international search (Rules 12.3(a) and 23.1(b))

b. ☐ This international search report has been established taking into account the **rectification of an obvious mistake** authorized by or notified to this Authority under Rule 91 (Rule 43.6bis(a)).

c. ☐ With regard to any **nucleotide and/or amino acid sequence** disclosed in the international application, see Box No. I.

2. ☐ **Certain claims were found unsearchable** (See Box No. II)

3. ☐ **Unity of invention is lacking** (See Box No. III)

4. With regard to the **title**,

- ☒ the text is approved as submitted by the applicant.
- ☐ the text has been established by this Authority to read as follows:

5. With regard to the **abstract**,

- ☒ the text is approved as submitted by the applicant.
- ☐ the text has been established, according to Rule 38.2, by this Authority as it appears in Box No. IV. The applicant may, within one month from the date of mailing of this international search report, submit comments to this Authority.

6. With regard to the **drawings**,

- a. the figure of the **drawings** to be published with the abstract is Figure No. _____
- ☐ as suggested by the applicant.
- ☐ because the applicant failed to suggest a figure.
- ☐ because this figure better characterizes the invention.
- b. ☐ none of the figure is to be published with the abstract.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/KR2007/003617

215

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

C07D 237/14(2006.01)i

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)

IPC 8 C07C, C07D, C07K

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

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

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	US 6,225,288 B1 (MERCK FROSST CANADA & CO.) 1 May 2001 See abstract and table I	1 - 12
A	WO 2004/069773 A1 (MERCK FROSST CANADA & CO.) 19 Aug. 2004 See abstract and claims	1 - 12
A	THORNBERRY NA et al., Inactivation of interleukin-1 beta converting enzyme by peptide (acyloxy)methyl ketones, Biochemistry, April 1994, Vol.33(13), pp3934-3940. See the whole document	1 - 12

☐ Further documents are listed in the continuation of Box C.☒ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

06 NOVEMBER 2007 (06.11.2007)

Date of mailing of the international search report

06 NOVEMBER 2007 (06.11.2007)

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

KIM, KYOUNG MI

Telephone No. 82-42-481-8161



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No.

PCT/KR2007/003617

216

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
US6225288B1	01.05.2001	AU200032665A1	04.10.2000
		AU200032665B2	04.10.2000
		AU200032665A5	04.10.2000
		AU765462B2	18.09.2003
		CA2367862AA	21.09.2000
		EP1163214A1	19.12.2001
		JP2002539193T2	19.11.2002
		W0200055127A1	21.09.2000
W02004069773A1	08.19.2004	CA2514441AA	19.10.2004
		EP1594819A1	16.11.2005
		JP2006519777T2	31.08.2006
		US20060069038A1	30.03.2006

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 PC07019-LG		FOR FURTHER ACTION See Form PCT/IPEA/416	
International application No. PCT/KR2007/003617	International filing date(day/month/year) 27 JULY 2007 (27.07.2007)	Priority date (day/month/year) 02 AUGUST 2006 (02.08.2006)	
International Patent Classification (IPC) or national classification and IPC C07D 237/14(2006.01)i			
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 <u>3</u> 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. ☐ (sent to the International Bureau only) a total of (indicate type and number of electronic carrier(s)) _____, containing a sequence listing and/or tables related thereto, in electronic 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 28 NOVEMBER 2007 (28.11.2007)	Date of completion of this report 16 OCTOBER 2008 (16.10.2008)
Name and mailing address of the IPEA/KR  Korean Intellectual Property Office Government Complex-Daejeon, 139 Seonsa-ro, Seo- gu, Daejeon 302-701, Republic of Korea Facsimile No. 82-42-472-7140	Authorized officer YEO, Kyeong Sook Telephone No. 82-42-481-5612 

INTERNATIONAL PRELIMINARY REPORT ON PATENTABILITY

International application No.
PCT/KR2007/003617

Box No. I 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.
- ☒ a translation of the international application into English which is the language of a translation furnished for the purposes of:
- ☐ international search (under Rules 12.3(a) and 23.1(b)).
- ☒ publication of the international application (under Rule 12.4(a)).
- ☐ international preliminary examination (under Rules 55.2(a) and/or 55.3(a)).

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*): _____

5. ☐ This report has been established taking into account the **rectification of an obvious mistake** authorized by or notified to this Authority under Rule 91 (Rule 70.2(e)).

* If item 4 applies, some or all of those sheets may be marked "superseded."

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	1-12	YES
	Claims	None	NO
Inventive step (IS)	Claims	1-12	YES
	Claims	None	NO
Industrial applicability (IA)	Claims	1-12	YES
	Claims	None	NO

2. Citations and explanations (Rule 70.7)

Reference is made to the following documents:

D1: US 6,225,288 B1 (1 May 2001)

D2: WO 2004/069773 A1 (19 Aug. 2004)

D3: THORNBERRY N.A. et al., Biochemistry, April 1994, Vol.33(13), pp.3934-3940.

1. Novelty and Inventive Step**1.1 Claims 1-7**

The subject matter of claim 1 differs from these prior art documents in that 3-oxo-pyridazine ring. Claim 6-7 relate to a single pyridazinone derivative. And these are not obvious to a skilled person in the art by the documents, take alone or in combination. Therefore, claim 1, 6 and 7 meet the requirements of PCT Article 33(2) and (3) with respect to novelty and inventive step.

Claims 2-5 are dependant on claim 1 and as such also meet the requirements of PCT Article 33(2) and (3).

1.2 Claims 8-12

Claim 8 relates to a pharmaceutical composition for inhibiting caspases, comprising the compound as defined in claims 1-7. Claim 8 is considered to be novel and to involve an inventive step under PCT Article 33(2)-(3), because D1-D3 are no implication or teaching that a person skilled in the art would introduce 3-oxo-pyridazine group into peptide substrate structure of caspases for providing caspase inhibitors and the compound of the present invention has an excellent inhibitory activity against caspase, and exhibits *in vivo* therapeutic effect on liver injury.

Claims 9-12 depend on claim 8 and consequently they are also considered to be novel and to involve an inventive step under PCT Article 33(2)-(3).

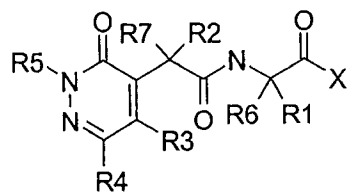
2. Industrial Applicability

Claims 1-12 are industrially applicable under PCT Article 33(4)

Industria y Comercio SUPERINTENDENCIA		SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO DIVISION DE NUEVAS CREACIONES EXTRACTO PARA PUBLICACIÓN SOLICITUD DE PATENTE DE INVENCION PCT	
(21) N° de solicitud:		(51) Int Cl: C07D 237/014	
22) Fecha de solicitud:		(71) Solicitante(s) LG LIFE SCIENCES LTD.	
(30) Prioridad	(31) Prioridad 10-2006-0073029	(32) Fecha 02/08/2006	(33) País KR
		(72) Inventor(es) HYE KYUNG CHANG Y OTROS	
		(74) Apoderado: EMILIO FERRERO	
(85) Fecha limite inicio fase nacional: 02/03/2009		(87) Publicación internacional	
(86) Datos relativos a la presentación de la solicitud PCT		Fecha: 07/02/2008	
Fecha de presentación de la solicitud: 27/07/2007		N° publicación: WO 2008/016239 A1	
No. de solicitud PCT/KR2007/003617			
Titulo: INHIBIDORES DE CASPASA BASADOS EN LA ESTRUCTURA DE PIRIDAZINONA			

Reivindicación(es):

1. Un compuesto de la fórmula (1):
[Fórmula 1]



caracterizado porque

- I) R¹ representa H, alquilo de C₁-C₅, cicloalquilo de C₃-C₁₀, arilo o un residuo de cadena lateral de todos los aminoácidos naturales,
- II) R² representa H, alquilo de C₁-C₅, cicloalquilo de C₃-C₁₀, arilo o un residuo de cadena lateral de todos los aminoácidos naturales,
- III) R³ representa H, alquilo de C₁-C₅, hidroxi, alcoxi de C₁-C₅ o halógeno,
- IV) R⁴ representa H, alquilo de C₁-C₅, cicloalquilo de C₃-C₁₀ o arilo,
- V) R⁵ representa H, alquilo de C₁-C₅, cicloalquilo de C₃-C₁₀ o arilo,
- VI) R⁶ y R⁷ independientemente entre sí cada uno representa H, alquilo de C₁-C₅, cicloalquilo de C₃-C₁₀ o arilo,
- VII) X representa -CH₂OR⁹ (R⁹ es alquilo de C₁-C₅, cicloalquilo de C₃-C₁₀ o arilo), -CH₂OC(=O)R¹⁰ (R¹⁰ es alquilo de C₁-C₅, cicloalquilo de C₃-C₁₀ o arilo), -CH₂OP(=O)R¹¹ (R¹¹ es alquilo de C₁-C₅, cicloalquilo de C₃-C₁₀ o arilo), o -CH₂-W (W es halógeno) o sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

2. El compuesto de conformidad con la reivindicación 1, caracterizado porque R⁵ representa alquilo de C₁-C₅ sustituido por cicloalquilo de C₃-C₁₀ sustituido o no sustituido o por arilo sustituido o no sustituido; o representa arilo sustituido o no sustituido, o sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

3. El compuesto de conformidad con la reivindicación 2, caracterizado porque R⁵ representa alquilo de C₁-C₅ sustituido por cicloalquilo de C₃-C₁₀ que es no sustituido o sustituido por uno o más sustituyentes seleccionados del grupo que consiste de alquilo de C₁-C₅, hidroxi, alcoxi de C₁-C₅ y halógeno, o por arilo que es no sustituido o sustituido por uno o más

sustituyentes seleccionados del grupo que consiste de alquilo de C₁-C₅, hidroxi, alcoxi de C₁-C₅ y halógeno; o representa arilo que es no sustituido o sustituido por uno o más sustituyentes seleccionados del grupo que consiste de alquilo de C₁-C₅, hidroxi, alcoxi de C₁-C₅ y halógeno, o sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

4. El compuesto de conformidad con la reivindicación 1, caracterizado porque

- I) R¹ representa un residuo de cadena lateral de todos los aminoácidos naturales,
- II) R² representa alquilo de C₁-C₅,
- III) R³ representa H, alquilo de C₁-C₅, alcoxi de C₁-C₅ o halógeno,
- IV) R⁴ representa H,
- V) R⁵ representa alquilo de C₁-C₅ sustituido por cicloalquilo de C₃-C₁₀ que es no sustituido o sustituido por uno o más sustituyentes seleccionados del grupo que consiste de alquilo de C₁-C₅, hidroxi, alcoxi de C₁-C₅ y halógeno, o por arilo que es no sustituido o sustituido por uno o más sustituyentes seleccionados del grupo que consiste de alquilo de C₁-C₅, hidroxi, alcoxi de C₁-C₅ y halógeno; o representa arilo que es no sustituido o sustituido por uno o más sustituyentes seleccionados del grupo que consiste de alquilo de C₁-C₅, hidroxi, alcoxi de C₁-C₅ y halógeno,
- VI) R⁶ y R⁷ independientemente entre si representan H,
- VII) X representa -CH₂OR⁹ (R⁹ es alquilo de C₁-C₅, cicloalquilo de C₃-C₁₀ o arilo), -CH₂OC(=O)R¹⁰ (R¹⁰ es alquilo de C₁-C₅, cicloalquilo de C₃-C₁₀ o arilo), o -CH₂-W (W es halógeno), o sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

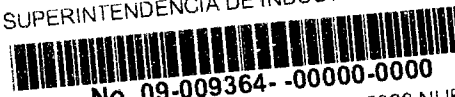
220

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

NIT : 800176089-2

RECIBO OFICIAL DE CAJA : 09 - 3,089
FECHA : ENERO 14 DE 2009

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO



No. 09-009364- -00000-0000

Fecha: 2009-02-02 16:36:00 Dep. 2020 NUECREACION
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 379 FASENACIONALII
Act. 411 PRESENTACION Folios: 221

***** CONSIGNACION *****

DEPOSITANTE	TIPO PAGO	BANCO	CUENTA	No. PAGO	FECHA PAGO	Vr. PAGO
CAVELIER ABOGADOS	CONSIGNACION	BANCO DE BOGOTA	062754387	102218922	13/01/2009	61,689,000.00

***** CONCEPTO *****

CANT.	RENTISTICO	CONCEPTO	TOTAL CONCEPTO
1	50005-01-01 SOLICITUDES	1 TRAMITES DE SOL. DE PATENTE DE IN	540,000.00
TOTAL :			\$ 540,000.00

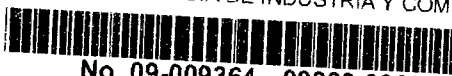
SON: QUINIENTOS CUARENTA MIL PESOS

RESPONSABLE :

RECIBO DE CAJA APLICADO AL EXPEDIENTE No.

Colo 13548-841-005-5

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO



No. 09-009364- -00000-0000

Fecha: 2009-02-02 16:36:00
Tra. 11 PATENTEIYII
Act. 411 PRESENTACION

Dep. 2020 NUECREACIONE
Eve: 379 FASENACIONALI
Folios: 221



Industria y Comercio
SUPERINTENDENCIA

REQUISITOS MINIMOS PARA ADMISION A TRAMITE PCT

PATENTE DE INVENCION

☒

MODELO DE UTILIDAD

☐

- ◆ Indicación de que se solicita la concesión de una patente ☒
- ◆ Datos de identificación del solicitante o de la persona que 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 presenta la solicitud ☐
- ◆ Representación gráfica 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 un Esquema de Trazado ☐
- ◆ Datos de identificación del solicitante o de la persona que presenta la solicitud ☐
- ◆ Representación gráfica del esquema trazado ☐
- ◆ Comprobante de pago de las tasas establecidas ☐

COMPLETA ☐

INCOMPLETA ☐

Firma Responsable

Fecha Feb. 2/09.

Carrera 13 No. 27-00 Piso 5, 7 y 10
Conmutador: 3 82 08 40
Fax: 350 52 20
E-mail: info@sic.gov.co
www.sic.gov.co
Bogotá, D.C., Colombia

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.	9 9364
	Solicitud internacional	PCT/KR2007/003617
	Fecha inicio fase nacional	02/03/2009
	Trámite	11
	Evento	379
	Actuación	430
	Oficio No.	3777

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, conforme a lo establecido por el artículo 26 literal k) de la Decisión 486 de la Comisión de la Comunidad Andina. Cuando se trate de documentos otorgados en el extranjero, estos deberán legalizarse de conformidad con lo dispuesto por los artículos 259 y 260 del Código de Procedimiento Civil. Cuando se trate de las declaraciones a que hace referencia la Regla 4.17 ii) del Tratado de Cooperación en Materia de Patentes PCT., el alcance de las tales declaraciones se determinará según indiquen claramente una cesión de derechos del inventor al solicitante o su causante, de conformidad con lo dispuesto en el numeral 5.2.15 del Capítulo Quinto, Título X de la Circular Única de Superintendencia de Industria y Comercio.

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 Única No.10 de 2001.


ALIX CARMENZA CESPÉDES DE VERGEL
Jefe de la división de Nuevas Creaciones

El anterior requerimiento fue notificado por fijación en lista de
fecha 12 7 MAR. 2009
adpall