



(12) **PATENT**

(19) NO

(11) **335620**

(13) **B1**

NORGE

(51) Int Cl.

C07D 261/04 (2006.01)

C07D 413/04 (2006.01)

C07D 413/12 (2006.01)

C07D 413/14 (2006.01)

A61K 31/42 (2006.01)

A61P 29/00 (2006.01)

Patentstyret

(21)	Søknadsnr	20061362	(86)	Int.inng.dag og søknadsnr	2004.08.26 PCT/KR2004/02139
(22)	Inng.dag	2006.03.24	(85)	Videreføringsdag	2006.03.24
(24)	Løpedag	2004.08.26	(30)	Prioritet	2003.08.27, KR, 10-2003-059451
(41)	Alm.tilgj	2006.03.24			
(45)	Meddelt	2015.01.12			
(73)	Innehaver	LG Life Sciences Ltd, LG Twin Tower, East Tower 20, Yoido-dong, Youngdungpo-gu, KR-150-721 SEOUL, Sør-Korea			
(72)	Oppfinner	Hyun-Ik Shin, Hye-Kyung Chang, Yeong-Soo Oh, Cheol-Won Park, Yong-Jin Jang, Tae-Kyo Park, Sung-Sub Kim, Min-Jung Kim, Mi-Jeong Park, Jung-Gyn Park, Hee-Dong Park, Kyeong-Sik Min, Tae-Soo Lee, Sang-Kyun Lee, Soo-Hyeon Kim, Hee-Kyung Jeong, Sun-Hwa Lee, Hwa-Dong Kim, Ae-Ri Kim, Ki-Sook Park, Hyeong-Wook Choi, Kyu-Woong Lee, Jae-Hoon Lee, Tae-Ho Heo, Ho-Jun Kim, Tae-Sik Kwon, Jeong Hui Seong, alle med adresse c/o R & D Park, LG Life Sciences Ltd, 104-1, Moongi-dong, Yuseong-gu, KR-305-380 DAEJEON, Sør-Korea			
(74)	Fullmektig	Onsagers AS, Postboks 1813 Vika, 0123 OSLO, Norge			
(54)	Benevnelse	Caspaseinhibitorer, samt fremgangsmåte for fremstilling derav, terapeutisk blanding som inneholder nevnte inhibitoranvendelig ved forhindring av inflammasjon og apoptose.			
(56)	Anførte publikasjoner	WO 0121600 A1			
(57)	Sammendrag				

Den foreliggende oppfinnelse vedrører et isoksazolin-derivat som en inhibitor mot forskjellige caspaser, en fremgangsmåte for fremstilling av dette og en terapeutisk blanding for forhindring av inflammasjon og apoptose omfattende dette.

TEKNISK OMRÅDE

Den foreliggende oppfinnelse vedrører et isoksazolinderivat som en inhibitor mot forskjellige caspaser derunder caspase-1[interleukin-1 β -omdannende enzym, ICE] og caspase-3[apopain/CPP-32], en fremgangsmåte for fremstilling av dette, og en terapeutisk blanding for forhindring av inflammasjon og apoptose omfattende dette, samt fremstilling derav.

BAKGRUNN

Caspase er en ny type cysteinprotease i form av $\alpha_2\beta_2$ oppdaget i løpet av de siste 10 år. Omtrent 14 typer derav har blitt kjent inntil nå. Caspase-1(ICE), en av dem, er en type cytokiner og deltar i omdannelse av det inaktive prointerleukin-1 β til det aktive interleukin-1 β . Interleukin-1 består av interleukin-1 α og interleukin-1 β , som begge syntetiseres i monocytter i form av en forløper som har 31kDa. Bare prointerleukin-1 β blir aktivert av ICE. Posisjonene som blir hydrolysert med caspase-1 er Asp²⁷-Gly²⁸ og Asp¹¹⁶-Ala¹¹⁷. Hydrolysen av den siste stillingen gir interleukin-1 β . Interleukin-1 β er blitt rapportert å virke som en viktig mediator ved forårsakelse av inflammasjon (1,3). Caspase-1 ble oppdaget for første gang i 1989, og i to uavhengige studiegrupper ble den tredimensionale struktur derav bestemt ved en Røntgen-krystallografisk metode.

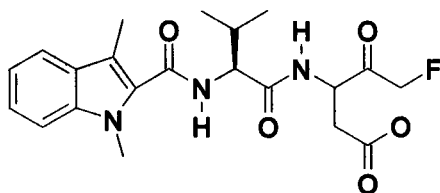
Caspase-3(CPP-32) er omfattende undersøkt med hensyn til sin rolle eller mekanisme for virkning, og dens tre-dimensjonale struktur ble bestemt i 1996(2). Caspase-3(apopain) aktivert fra procaspase-3 hydrolyserer (P4)Asp-X-X-Asp(P1)-mønster, og de kjente substrater innbefatter poly(ADP-ribose)polymerase, U1 70.000 Mr lite nukleært ribonukleoprotein og katalytisk underenhet av 460.000 Mr DNA-avhengig proteinkinase, etc. Røntgenstrukturen av caspase-7 har blitt rapportert å være meget lik den for caspase-3(4).

Caspase-8 og 9 ligger oppstrøms for caspase-3,6,7, og disse caspaser er kjente å delta i apoptosekaskaden. Røntgen-strukturen for caspase-8 ble bestemt i 1999(5), og særlig kan inhibitorene derav med fordel anvendes for behandling av sykdommene relatert til apoptose.

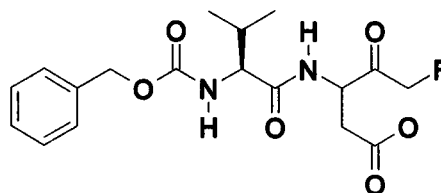
Caspaseinhibitorer betyr slike forbindelser som inhiberer aktiviteten av caspase og kontrollerer således slike symptomer som inflammasjon, apoptose, etc. forårsaket av caspaseaktivitet. Sykdommer eller symptomer som kan behandles eller svekkes ved administrering av inhibitorene innbefatter de følgende: reumatoid artritt, inflammatorisk tarmsykdom, implantat-mot-vert-sykdom, sepsis, osteoartritt, osteoporose, akutt og kronisk myelogen leukemi, meningitt, salpingitt, septisk sjokk, kolangitt, kolitt, encefalitt, endokarditt, glomerulonefritt, hepatitt,

myokarditt, pankreatitt, type I diabetes mellitus, multippel sklerose, Alzheimer's sykdom, Parkinson's sykdom, hepatocirrhose(6).

5 Blant caspaseinhibitorene som er kjent inntil nå er de sterkest identifiserte irreversible inhibitorer de følgende:

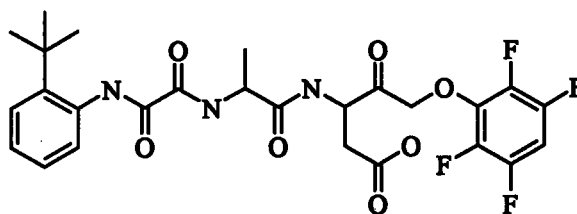


IDN-1965



MX-1013

10 Begge inhibitorene ovenfor utøver sin aktivitet basert på den felles mekanisme at de irreversibelt inaktiverer enzymet ved å undertrykke celle-apoptosen (irreversibelt, bred-spektrum-inhibitor). Det har blitt rapportert at irreversible inhibitorer har mye effektivere inhiberende aktivitet sammenliknet med de irreversible og reversible inhibitorer (7). Både IDN-1965 fra IDUN Co. og MX-1013 fra Maksim Co. er rapportert å vise aktivitet i celle-apoptose-modell for
15 hepatisk skade(8, 9). Disse forbindelser befinner seg nå i trinnet preklinisk testing. Den irreversible inhibitor IDN-6556, hvis struktur er blitt rapportert nylig, er nå i trinnet fase II klinisk test som et terapeutisk middel for hepatisk skade(10, 11).



IDN-6556

20

Referanser:

- (1) *Inflammation: Basic Principles and Clinical Correlates*, 2nd ed., utgitt av Gallin, Goldstein and Snyderman. Raven Press Ltd., New York. **1992**, s. 211-232; *Blood*, **1996**, 87(6), 2095-2147.
- 25 (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.
- 30 (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) Referanser for caspase-relaterte sykdommer

5 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.

10 Hjerneslag: Proc Natl Acad Sci U S A 2002 Nov 12;99(23):15188-93, Caspase activation and neuroprotection in caspase-3- deficient mice after in vivo cerebral ischemia and in vitro oxygen glucose deprivation. Le DA, Wu Y, Huang Z, Matsushita K, Plesnila N, Augustinack JC, Hyman BT, Yuan J, Kuida K, Flavell RA, Moskowitz MA.

15 Hjernesvekkelse på grunn av 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.

20 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.

25 Magesår: J Physiol Pharmacol 1998 Dec;49(4):489-500, Role of basic fibroblast growth factor in the suppression of apoptotic caspase-3 during chronic mavesår healing. Slomiany BL, Piotrowski J, Slomiany A.

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

35 Fulminant hepatisk svikt: Gastroenterology 2000 Aug;119(2):446-60, Tumor necrosis factor alpha in the pathogenesis of human and murine fulminant hepatic failure. Streetz K, Leifeld L, Grundmann D, Ramakers J, Eckert K, Spengler U, Brenner D, Manns M, Trautwein C.

40 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.

Organtransplantasjonsavvisning: 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.

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

 Iskemiske hjertesykdommer: Am J Physiol Heart Circ Physiol 2002 Sep;283(3):H990-5, Hypoxia-induced cleavage of caspase-3 and DFF45/ICAD in
10 human failed cardiomyocytes. Todor A, Sharov VG, Tanhehco EJ, Silverman N, Bernabei A, Sabbah HN.

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

 Cirrhose: i) 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
 ligert mouse. Canbay A., Fledstein A., Baskin-Bey E., Bronk FS. Gores GJ.; ii)
20 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.

25 (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.

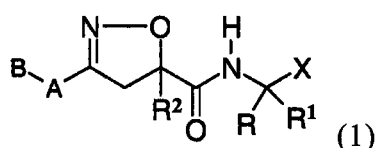
30 (9) Jaeschke H. et al, *Toxicology and Applied Pharmacology*, **2000**, 169, 77.

 (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-
35 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
 ligert mouse.

BESKRIVELSE AV OPPFINNELSEN

De foreliggende oppfinnere konstruerte og syntetiserte nylig noen forbindelser som kan anvendes som en effektiv inhibitor mot caspaser og har en distinkt struktur og høy selektivitet for liknende enzymer og bestemte deres bindingsevne og inhiberende aktivitet for caspaser. Som et resultat har oppfinnerne oppdaget at en forbindelse med den følgende formel (1) oppfyller slike behov og fullførte den foreliggende oppfinnelse.

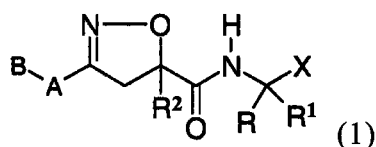


hvor

A, B, R, R¹, R² og X er definert som beskrevet nedenfor.

Derfor tilveiebringer den foreliggende oppfinnelse det nye isoksazolin-derivater med formel (1), salt, eller stereoisomer derav som har effektiv inhiberende aktivitet mot caspaser.

Nærmere bestemt tilveiebringes forbindelser med den formel (1):



hvor

I) R representerer H,

II) R¹ representerer -CH₂COOH or -CH₂COOR³ (R³= C₁-C₈ alkyl),

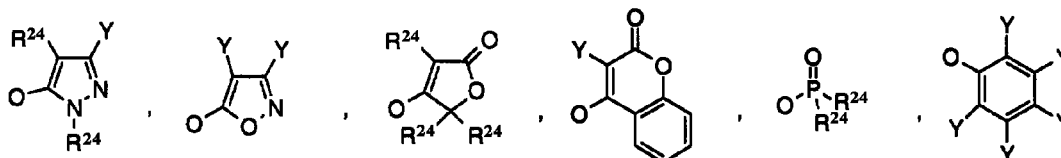
III) R² representerer C₁-C₈ alkyl,

IV) A representerer -(CH₂)_n- (n = 0-4) eller -O-(CH₂)_n- (n = 0-4),

V) B representerer C₆-C₁₄ aryl eller 5-15 leddet heteroaryl, hvor heteroarylen inneholder 1 til 5 heteroatomer valg fra oksygen, svovel og nitrogen, og hvor arylen eller heteroarylen eventuelt er substituert med en eller flere substituerter valg fra gruppen bestående av halogen, C₁-C₈ alkyl, C₁-C₈ alkylcarbonyl, C₃-C₁₀ sykloalkyl and C₆-C₁₄ aryl, eller

VI) X representerer -C(=O)CH₂OR¹¹ hvor R¹¹ er C₆-C₁₄ aryl eller 5-15 leddet heteroaryl, og hvor heteroarylen inneholder 1 til 5

- heteroatomer valgt fra oksygen, svovel og nitrogen, og arylen eller heteroarylen eventuelt er substituert med halogen eller C₁-C₈ alkyl; - C(=O)CH₂OC(=O)R¹² hvori R¹² er C₁-C₈ alkyl eller C₆-C₁₄ aryl eventuelt er substituert med halogen; -CH=CH-CO₂R¹³ hvori R¹³ er C₁-C₈ alkyl; -CH=CH-SO₂R¹⁴ hvori R¹⁴ er C₁-C₈ alkyl; - C(=O)CH=CH₂; eller -COCH₂-W hvori W er -F, -Cl, -Br, -I, eller er en av de følgende formler:



10

hvor
Y er H,
R²⁴ er H, C₆-C₁₄ aryl.

- Det er et annet formål ved den foreliggende oppfinnelse å tilveiebringe en fremgangsmåte for fremstilling forbindelsen med formel (1), salt, eller stereoisomere derav. Nærmere bestemt tilveiebringes en fremgangsmåte for fremstilling av forbindelsen (Iii-1) i følge oppfinnelsen, som består av trinnet å spalte en blanding av (3*S*)-5-fluor-3-({[(5*R*)-5-isopropyl-3-(1-isokinoliny)]-4,5-dihydro-5-isoksazolyl]karbonyl}amino)-4-oksopentankarboksytsyre og (3*R*)-5-fluor-3-({[(5*R*)-5-isopropyl-3-(1-isokinoliny)]-4,5-dihydro-5-isoksazolyl]karbonyl}amino)-4-oksopentankarboksytsyre i metyl-*t*-butyleter, tilsetning av en liten mengde krystallinsk (3*S*)-5-fluor-3-({[(5*R*)-5-isopropyl-3-(1-isokinoliny)]-4,5-dihydro-5-isoksazolyl]karbonyl}amino)-4-oksopentankarboksytsyre som et podemateriale, hvilket gir en krystall, og omkrystallisering av denne krystall fra et etylacetat/*n*-heksan-løsningsmiddelsystem.

- Det er også et annet formål ved den foreliggende oppfinnelse å tilveiebringe en blanding, fremstilling og anvendelse derav for fremstilling av et medikament for forhindring av inflammasjon og apoptose, omfattende forbindelsen med formel (1), et salt, eller en stereoisomer derav som en aktiv bestanddel sammen med den farmasøytisk akseptable bærer.

- Nærmere bestemt tilveiebringes en terapeutisk blanding for forhindring av inflammasjon og apoptose omfattende caspaseinhibitorforbindelsen med formel (1), et salt, eller en stereoisomer i følge oppfinnelsen som en aktiv bestanddel sammen med en farmasøytisk akseptabel bærer.

Videre tilveiebringes en fremgangsmåte for fremstilling av den terapeutiske blanding for forhindring av inflammasjon og apoptose i følge oppfinnelsen, hvori fremgangsmåten omfatter blanding av caspase-inhibitorforbindelsen med formel (1), et

salt eller en stereoisomer derav som definert i krav 1 med farmasøytisk akseptabel bærer.

Endelig tilveiebringes en anvendelse av caspaseinhibitorforbindelsen med formel (1), et salt, eller en stereoisomer derav i følge oppfinnelsen for fremstillingen av et medikament for forhindring av inflammasjon og apoptose.

5

KORT BESKRIVELSE AV TEGNINGENE

Figure 1 viser den inhiberende aktivitet av Forbindelse (Iii) mot hepatisk fibrose på grunn av galle-stagnasjon: "a)" i Figure 1 representerer tilfellet Sham operasjon, "b)" representerer tilfellet av BDL operasjon hvor bare bæreren ble administrert etter ligeringen av gallerør, "c)" representerer tilfellet hvor Forbindelse (Iii) ble oralt administrert i en dose på 3mg/kg to ganger pr. dag i 1 uke etter 1 uke fra ligeringen av gallerør, og "d)" representerer tilfellet hvor Forbindelse (Iii) ble oralt administrert i en dose på 10 mg/kg to ganger pr. dag i 1 uke etter 1 uke fra ligeringen av gallerør.

Figure 2 viser den inhiberende aktivitet av Forbindelse (Iii) mot hepatisk celle-apoptose på grunn av galle-stagnasjon: "a)" i Figure 2 representerer tilfellet Sham-operasjon, "b)" representerer tilfellet BDL-operasjon hvor bare bæreren ble administrert etter ligeringen av gallerør, "c)" representerer tilfellet hvor Forbindelse (Iii) ble oralt administrert i en dose på 3mg/kg to ganger pr. dag i 1 uke etter 1 uke fra ligeringen av gallerør, "d)" representerer tilfellet hvor Forbindelse (Iii) ble oralt administrert i en dose på 10mg/kg to ganger pr.en dag i 1 uke etter 1 uke fra ligeringen av gallerør, og "e)" er en kurve som viser antallet av hepatiske celler underkastet apoptose i hver behandlingsgruppe.

BESTE UTFØRELSESFORM AV OPPFINNELSEN

Før den foreliggende oppfinnelse illustreres i detalj, blir de følgende viktige betegnelser definert:

a) Enkel alkylkjede ("Simple Alkyl Chain" SAC, nedenfor) betyr et hydrokarbon som har 1 til 8 karbonatomer i enten linear eller forgrenet isomer form.

35

b) Enkel sykloalkylkjede ("Simple Cyclo Alkyl Chain" SCAC, nedenfor) betyr en syklisk rest som har 3 til 10 karbonatomer.

c) Aryl-gruppe (Ar, nedenfor) innbefatter både de aromatiske og heteroaromatiske grupper. Den aromatiske gruppe betyr en 5- til 15-leddet enkel eller kondensert umettet syklus. Ett eller flere hydrogen kan være erstattet med grupper valgt fra de følgende: acyl-, amino-, karboalkoksy-, karboksy-,

40

karboksyamino-, cyano-, halogen-, hydroksy-, nitro-, tiol-, alkyl-, sykloalkyl-, alkoksy-, aryloksy-, sulfoksy-, og guanidogrupper. Den heteroaromatiske gruppe betyr at den aromatiske gruppe inneholder 1 til 5 heteroatomer valgt fra en gruppe bestående av oksygen, svovel, og nitrogen. Likeledes kan ett eller flere hydrogen-
 5 være erstattet med grupper valgt fra de følgende: acyl-, amino-, karboalkoksy-, karboksy-, karboksyamino-, cyano-, halogen-, hydroksy-, nitro-, tiol-, alkyl-, sykloalkyl-, alkoksy-, aryloksy-, sulfoksy-, og guanidogrupper. Eller for eksempel i tilfellet pyridyl kan en alkyl-gruppe adderes til nitrogenatomet for å omdanne pyridyl-gruppen til en pyridiniumgruppe som har (+)-ladning på nitrogenatomet.

10

Arylgruppen innbefatter fenyl, bifenyl, 1-naftyl, 2-naftyl, pyridinyl, N-alkyl-pyridinium, pyrimidinyl, kinolinyl, bensotienyl, indolyl, pyrazinyl, isoindolyl, isokinolyl, kinazolinyl, kinoksalinyl, ftalazinyl, imidazolinyl, isoksazolyl, pyrazolyl, oksazolyl, tiazolyl, indolizinyl, indazolyl, bensotiazolyl, bensimidazolyl,
 15 bensofuranyl, tienyl, pyrrolyl, oksadiazolyl, tiadiazolyl, triazolyl, tetrazolyl, oksazolopyridinyl, imidazopyridinyl, isotiazolyl, cinnolinyl, karbazolyl, isokromanyl, kromanyl, tetrahydroisokinolinyl, isoindolinyl, isobensotetrahydrofuranyl, isobensotetrahydrotienyl, isobensotienyl, bensoksazolyl, pyridopyridinyl, bensotetrahydrofuranyl, bensotetrahydrotienyl, purinyl, bensodioksolyl, triazinyl,
 20 fenoksazinyl, fenotiazinyl, pteridinyl, bensotiazolyl, imidazopyridinyl, imidazotiazolyl, dihydrobenzisoksazinyl, bensisoksazinyl, bensoksazinyl, dihydrobenzisotio-
 pyranyl, bensopyranyl, bensotiopyranyl, kumarinyl, isokumarinyl, kromonyl, kromanonyl, pyridinyl-N-oksid, tetrahydro-kinolinyl-N-oksid, dihydrokinolinyl, dihydrokinolinonyl, dihydroisokin-
 25 olinonyl, dihydrokumarinyl, dihydroisokumarinyl, isoindolinonyl, bensodioksanyl), bensoksazolinonyl, N-alkyl-pyridium, pyrrolyl-N-oksid, pyrimidinyl-N-oksid, pyrazinyl-N-oksid, kinolinyl-N-oksid, indolyl-N-oksid, indolinyl-N-oksid, isokinolyl-N-oksid, kinazolinyl-N-oksid, kinoksalinyl-N-oksid, ftalazinyl-N-oksid, imidazolinyl-N-oksid, isoksazolyl-N-
 oksid, oksazolyl-N-oksid, tiazolyl-N-oksid, indolizinyl-N-oksid, indazolyl-N-oksid,
 30 bensotiazolyl-N-oksid, bensimidazolyl-N-oksid, pyrrolyl-N-oksid, oksadiazolyl-N-
 oksid, tiadiazolyl-N-oksid, triazolyl-N-oksid, tetrazolyl-N-oksid, etc.

35

d) Enkel alkylkjede substituert med Aryl (SAC-Ar, nedenfor) betyr en rettkjedet eller forgrenet alkyl som har 1 til 8 karbonatomer og er substituert med den ovenfor nevnte aryl-gruppe.

40

e) Naturlig aminosyre innbefatter de følgende: Glycin, Alanin, Valin, Leucin, Isoleucin, Serin, Threonin, Cystein, Metionin, Prolin, Aspartinsyre, Asparagin, Glutaminsyre, Glutamin, Lysin, Arginin, Histidin, Fenylalanin, Tyrosin, og Tryptofan

f) Beskyttelsesgruppen av enkel ester er et hydrokarbon som har 1 til 8 karbonatomer i enten linear eller forgrenet isomer form.

Videre inneholder den foreliggende beskrivelse de følgende forkortelser:

5

N-klorsuksinimid: NCS

N-metylmorfolin: NMM

O-(7-azabensotriazol-1-yl)-N,N,N',N'-tetrametyluroniumheksafluorofosfat:

HATU

N,N-dimetylformamid: DMF

10

1-(3-dimetylaminopropyl)-3-etylkarbodiimid: EDC

1-hydroksybensotriazol-hydrat: HOBt

trifluoreddiksyre: TFA

t-butoksykarbonyl: Boc

bensyloksykarbonyl: Cbz

15

metyl: Me

etyl: Et

ekvivalent: Ekv.

20

Substituentene som inngår i formelen (1) ovenfor er spesifikt definert som følger.

I) R representerer H,

25

II) R^1 representerer $-\text{CH}_2\text{COOH}$ or $-\text{CH}_2\text{COOR}_3$ ($R^3 = \text{C}_1\text{-C}_8$ alkyl),

III) R^2 representerer $\text{C}_1\text{-C}_8$ alkyl,

30

IV) A representerer $-(\text{CH}_2)_n-$ ($n = 0\text{-}4$) eller $-\text{O}-(\text{CH}_2)_n-$ ($n = 0\text{-}4$),

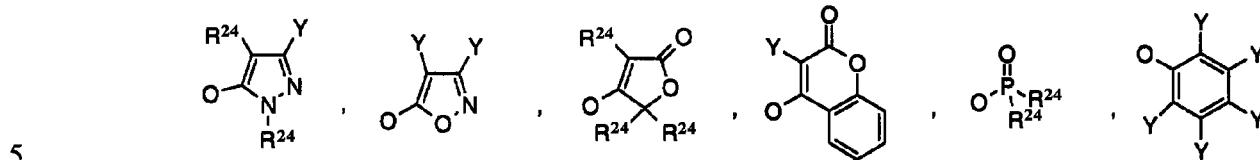
35

V) B representerer $\text{C}_6\text{-C}_{14}$ -aryl eller 5-15 leddet heteroaryl, hvori heteroarylen inneholder 1 til 5 heteroatomer valg fra oksygen, svovel og nitrogen, og hvori arylen eller heteroarylen eventuelt er substituert med en eller flere substituerter valg fra gruppen bestående av halogen, $\text{C}_1\text{-C}_8$ -alkyl, $\text{C}_1\text{-C}_8$ alkylcarbonyl, $\text{C}_3\text{-C}_{10}$ -sykloalkyl and $\text{C}_6\text{-C}_{14}$ -aryl, eller

40

VI) X representerer $-\text{C}(=\text{O})\text{CH}_2\text{OR}^{11}$ hvori R^{11} er $\text{C}_6\text{-C}_{14}$ aryl eller 5-15 leddet heteroaryl, og hvori heteroarylen inneholder 1 til 5 heteroatomer valgt fra oksygen, svovel og nitrogen, og arylen eller heteroarylen eventuelt er substituert med halogen eller $\text{C}_1\text{-C}_8$ alkyl; $-\text{C}(=\text{O})\text{CH}_2\text{OC}(=\text{O})\text{R}^{12}$ hvori R^{12} er $\text{C}_1\text{-C}_8$ alkyl eller $\text{C}_6\text{-C}_{14}$ aryl eventuelt er substituert med halogen; $-\text{CH}=\text{CH}-\text{CO}_2\text{R}^{13}$ hvori R^{13} er

C₁-C₈ alkyl; -CH=CH-SO₂R¹⁴ hvori R¹⁴ er C₁-C₈ alkyl ; -
C(=O)CH=CH₂; eller -COCH₂-W hvori W er -F, -Cl, -Br, -I, eller
er en av de følgende formler:



hvor

Y er H,

R²⁴ er H, C₆-C₁₄ aryl.

10

Særlig foretrukne forbindelser er slike som er valgt fra den følgende gruppe:

- (1) (3*S*)-5-[(2,6-diklorbensoyl)oksy]-3-([5-metyl-3-fenyl-4,5-dihydro-5-isoksazoly]karbonyl)amino)-4-okso-5-fenoksy-pentankarboksylsyre (Iaa);
- (2) (3*S*)-3-([5-metyl-3-fenyl-4,5-dihydro-5-isoksazoly]karbonyl)amino)-4-okso-5-fenoksy-pentankarboksylsyre (Ibb);
- 15 (3) (3*S*)-3-([5-etyl-3-fenyl-4,5-dihydro-5-isoksazoly]karbonyl)amino)-4-okso-5-(2,3,5,6-tetrafluorfenoksy)-pentankarboksylsyre (Icc);
- (4) (3*S*)-3-([5-etyl-3-(1-naftyl)-4,5-dihydro-5-isoksazoly]karbonyl)amino)-4-okso-5-(2,3,5,6-tetrafluorfenoksy)-pentankarboksylsyre (Idd);
- 20 (5) (3*S*)-3-([5-etyl-3-(2-naftyl)-4,5-dihydro-5-isoksazoly]karbonyl)amino)-4-okso-5-(2,3,5,6-tetrafluorfenoksy)-pentankarboksylsyre (Iee);
- (6) (3*S*)-3-([5-etyl-3-(1-isokinoliny)l)-4,5-dihydro-5-isoksazoly]karbonyl)amino)-4-okso-5-(2,3,5,6-tetrafluorfenoksy)-pentankarboksylsyre (Iff);
- 25 (7) 3-([5-etyl-3-(1-isokinoliny)l)-4,5-dihydro-5-isoksazoly]karbonyl)amino)-5-fluor-4-okso-pentankarboksylsyre (Igg);
- (8) etyl-3-([5-etyl-3-(1-isokinoliny)l)-4,5-dihydro-5-isoksazoly]karbonyl)amino)-5-fluor-4-okso-pentanoat (Ihh);
- 30 (9) 5-fluor-3-([(5*R*)-5-isopropyl-3-(1-isokinoliny)l)-4,5-dihydro-5-isoksazoly]karbonyl)amino)-4-okso-pentankarboksylsyre (Iii);
- (10) 3-([5-etyl-3-(4-kinoliny)l)-4,5-dihydro-5-isoksazoly]karbonyl)amino)-5-fluor-4-okso-pentankarboksylsyre (Ijj);
- 35 (11) 3-([3-(bensotiofen-2-yl)-5-etyl-4,5-dihydro-5-isoksazoly]karbonyl)amino)-5-fluor-4-okso-pentankarboksylsyre (Ikk);
- (12) (3*S*)-3-([3-(1,3-dimetyl-1*H*-indol-2-yl)-5-etyl-4,5-dihydro-5-isoksazoly]karbonyl)amino)-4-okso-5-(2,3,5,6-tetrafluorfenoksy)-pentankarboksylsyre (III);

- (13) 3-({[3-(1,3-dimetyl-1*H*-indol-2-yl)-5-etyl-4,5-dihydro-5-isoksazolyl]karbonyl} amino)-5-fluor-4-oksopentankarboksylsyre (Imm);
- (14) (3*S*)-3-({[5-etyl-3-(1-naftylmetyl)-4,5-dihydro-5-isoksazolyl]karbonyl} amino)-4-okso-5-(2,3,5,6-tetrafluorfenoksy)pentankarboksylsyre (Inn);
- (15) (3*S*)-5-[(2,6-diklorbensoyl)oksy]-3-({[5-etyl-3-[2-(1-naftyl)etyl]-4,5-dihydro-5-isoksazolyl]karbonyl} amino)-4-oksopentankarboksylsyre (Ioo);
- (16) (3*S*)-3-({[5-etyl-3-[(1-naftyl)oksy]metyl]-4,5-dihydro-5-isoksazolyl} karbonyl) amino]-4-okso-5-(2,3,5,6-tetrafluorfenoksy)pentankarboksylsyre (Ipp);
- (17) (3*S*)-3-({[3-({[4-klor-1-naftyl)oksy]metyl}-5-etyl-4,5-dihydro-5-isoksazolyl)karbonyl] amino}-4-okso-5-(2,3,5,6-tetrafluorfenoksy)pentankarboksylsyre (Iqq);
- (18) (3*S*,4*E*)-6-etoksy-3-({[(5*R*)-5-isopropyl-3-(1-isokinolinylnyl)-4,5-dihydro-5-isoksazolyl]karbonyl} amino)-6-okso-4-heksenkarboksylsyre (Irr);
- (19) (3*S*,4*E*)-3-({[(5*R*)-5-isopropyl-3-(1-isokinolinylnyl)-4,5-dihydro-5-isoksazolyl]karbonyl} amino)-5-(metylsulfonyl)-4-pentenkarboksylsyre (Iss);
- (20) 5-fluor-3-({[(5*S*)-3-(1-isokinolinylnyl)-5-propyl-4,5-dihydro-5-isoksazolyl]karbonyl} amino)-4-oksopentankarboksylsyre (Itt);
- (21) 3-({[(5*S*)-5-etyl-3-(1-naftyl)-4,5-dihydro-5-isoksazolyl]karbonyl} amino)-5-fluor-4-oksopentankarboksylsyre (Iuu);
- (22) 3-({[(5*S*)-5-etyl-3-(2-kinolinylnyl)-4,5-dihydro-5-isoksazolyl]karbonyl} amino)-5-fluor-4-oksopentankarboksylsyre (Ivv);
- (23) 3-({[(5*R*)-5-etyl-3-(3-isokinolinylnyl)-4,5-dihydro-5-isoksazolyl]karbonyl} amino)-5-fluor-4-oksopentankarboksylsyre (Iww);
- (24) 3-({[5-etyl-3-(8-kinolinylnyl)-4,5-dihydro-5-isoksazolyl]karbonyl} amino)-5-fluor-4-oksopentankarboksylsyre (Ixx);
- (25) 3-({[5-etyl-3-(3-kinolinylnyl)-4,5-dihydro-5-isoksazolyl]karbonyl} amino)-5-fluor-4-oksopentankarboksylsyre (Iyy);
- (26) 5-fluor-3-({[(5*R*)-5-isopropyl-3-(2-kinolinylnyl)-4,5-dihydro-5-isoksazolyl]karbonyl} amino)-4-oksopentankarboksylsyre (Izz);
- (27) 3-({[5-etyl-3-(2-isopropylfenyl)-4,5-dihydro-5-isoksazolyl]karbonyl} amino)-5-fluor-4-oksopentankarboksylsyre (Iaa1);
- (28) 3-({[3-[3-(*tert*-butyl)fenyl]-5-etyl]-4,5-dihydro-5-isoksazolyl} karbonyl) amino]-5-fluor-4-oksopentankarboksylsyre (Iaa2);
- (29) 3-({[3-[4-(*tert*-butyl)fenyl]-5-etyl]-4,5-dihydro-5-isoksazolyl} karbonyl) amino]-5-fluor-4-oksopentankarboksylsyre (Iaa3);
- (30) 5-fluor-3-({[(5*R*)-5-isopropyl-3-(2-isopropylfenyl)-4,5-dihydro-5-isoksazolyl]karbonyl} amino)-4-oksopentankarboksylsyre (Iaa4);
- (31) 3-({[(5*R*)-3-[3-(*tert*-butyl)fenyl]-5-isopropyl-4,5-dihydro-5-isoksazolyl} karbonyl) amino]-5-fluor-4-oksopentankarboksylsyre (Iaa5);

- (32) 3-{{3-[1,1'-bifenyl]-3-yl-5-isopropyl-4,5-dihydro-5-isoksazolyl}karbonyl}amino}-5-fluor-4-oksopentankarboksylsyre (Iaa6);
- (33) 3-({5-etyl-3-(2-pyridinyl)-4,5-dihydro-5-isoksazolyl}karbonyl}amino)-5-fluor-4-oksopentankarboksylsyre (Iaa7);
- 5 (34) 3-({3-[4-(*tert*-butyl)-2-pyridinyl]-5-etyl-4,5-dihydro-5-isoksazolyl}karbonyl}amino)-5-fluor-4-oksopentankarboksylsyre (Iaa8);
- (35) 3-({(5*R*)-3-[4-(*tert*-butyl)-2-pyridinyl]-5-isopropyl-4,5-dihydro-5-isoksazolyl}karbonyl}amino)-5-fluor-4-oksopentankarboksylsyre (Iaa9);
- (36) 3-({5-etyl-3-(4-isobutyl-2-pyridinyl)-4,5-dihydro-5-isoksazolyl}karbonyl}amino)-5-fluor-4-oksopentankarboksylsyre (Iaa10);
- 10 (37) 3-({3-(4-acetyl-2-pyridinyl)-5-etyl-4,5-dihydro-5-isoksazolyl}karbonyl}amino)-5-fluor-4-oksopentankarboksylsyre (Iaa11);
- (38) 3-({3-(4-syklopropyl-2-pyridinyl)-5-etyl-4,5-dihydro-5-isoksazolyl}karbonyl}amino)-5-fluor-4-oksopentankarboksylsyre (Iaa12);
- 15 (39) 3-({3-(4-syklopentyl-2-pyridinyl)-5-etyl-4,5-dihydro-5-isoksazolyl}karbonyl}amino)-5-fluor-4-oksopentankarboksylsyre (Iaa13);
- (40) 3-({(5*R*)-3-(4-syklopentyl-2-pyridinyl)-5-isopropyl-4,5-dihydro-5-isoksazolyl}karbonyl}amino)-5-fluor-4-oksopentankarboksylsyre (Iaa14);
- (41) 3-({3-(4-sykloheksyl-2-pyridinyl)-5-etyl-4,5-dihydro-5-isoksazolyl}karbonyl}amino)-5-fluor-4-oksopentankarboksylsyre (Iaa15);
- 20 (42) 3-({5-etyl-3-(5,6,7,8-tetrahydro-1-isokinolinylnyl)-4,5-dihydro-5-isoksazolyl}karbonyl}amino)-5-fluor-4-oksopentankarboksylsyre (Iaa16);
- (43) 5-fluor-3-({5-isopropyl-3-(4-fenyl-2-pyridinyl)-4,5-dihydro-5-isoksazolyl}karbonyl}amino)-4-oksopentankarboksylsyre (Iaa17);
- 25 (44) (3*S*)-5-[(difenylfosforyl)oksy]-3-({(5*R*)-5-isopropyl-3-(1-isokinolinylnyl)-4,5-dihydro-5-isoksazolyl}karbonyl}amino)-4-oksopentankarboksylsyre (Iaa18);
- (45) (3*S*)-3-({(5*R*)-5-isopropyl-3-(1-isokinolinylnyl)-4,5-dihydro-5-isoksazolyl}karbonyl}amino)-4-okso-5-{[1-fenyl-3-(trifluormetyl)-1*H*-pyrazol-5-yl]oksy}pentankarboksylsyre (Iaa19);
- 30 (46) (3*S*)-5-[(4-bensyl-5-okso-2,5-dihydro-3-furanyl)oksy]-3-({(5*R*)-5-isopropyl-3-(1-isokinolinylnyl)-4,5-dihydro-5-isoksazolyl}karbonyl}amino)-4-oksopentankarboksylsyre (Iaa20);
- (47) (3*S*)-5-(isobutyryloksy)-3-({(5*R*)-5-isopropyl-3-(1-isokinolinylnyl)-4,5-dihydro-5-isoksazolyl}karbonyl}amino)-4-oksopentankarboksylsyre (Iaa21);
- 35 (48) (3*S*)-3-({(5*R*)-5-isopropyl-3-(1-isokinolinylnyl)-4,5-dihydro-5-isoksazolyl}karbonyl}amino)-4-okso-5-heksenkarboksylsyre (Iaa22);
- (49) (3*S*)-3-({(5*R*)-5-isopropyl-3-(1-isokinolinylnyl)-4,5-dihydro-5-isoksazolyl}karbonyl}amino)-4-okso-5-(2-pyridinylloksy)pentankarboksylsyre
- 40 (Iaa23);

(50) (3*S*)-3-({[5-etyl-3-(2-isopropylfenyl)-4,5-dihydro-5-isoksazolyl]karbonyl} amino)-4-okso-5-(2-pyridinyloksy)pentankarboksylsyre (Iaa24);

5 (51) 2-{{[(3*S*)-4-karboksy-3-({[(5*R*)-5-isopropyl-3-(1-isokinoliny)]-4,5-dihydro-5-isoksazolyl]karbonyl} amino)-2-oksobutyl]oksy}-1-metylpyridinium-trifluormetansulfonat (Iaa25);

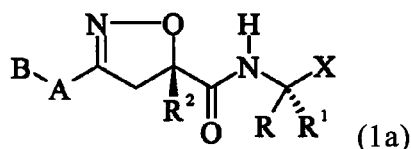
(52) 2-{{[(3*S*)-4-karboksy-3-({[5-etyl-3-(2-isopropylfenyl)-4,5-dihydro-5-isoksazolyl]karbonyl} amino)-2-oksobutyl]oksy}-1-metylpyridinium-trifluormetansulfonat (Iaa26);

10 (53) 3-({[3-(5-klor-1-metyl-1*H*-indol-2-yl)-5-isopropyl-4,5-dihydro-5-isoksazolyl]karbonyl} amino)-5-fluor-4-oksopentankarboksylsyre (Iaa27);

(54) 3-({[3-(1,5-dimetyl-1*H*-indol-2-yl)-5-isopropyl-4,5-dihydro-5-isoksazolyl]karbonyl} amino)-5-fluor-4-oksopentankarboksylsyre (Iaa28); og

15 (55) (3*S*)-5-fluor-3-({[(5*R*)-5-isopropyl-3-(1-isokinoliny)]-4,5-dihydro-5-isoksazolyl]karbonyl} amino)-4-oksopentankarboksylsyre (Iii-1).

Forbindelsen med formel (1) i henhold til den foreliggende oppfinnelse har to (2) asymmetriske karbonatomer og kan således foreligge i sin stereoisomere form innbefattet diastereomer. Særlig foretrukne forbindelser blant stereoisomerene er
20 slike som har den følgende formel (1a):



25 og således er det en annen gjenstand for den foreliggende oppfinnelse å tilveiebringe forbindelsen med formel (1a) i den stereoisomere form.

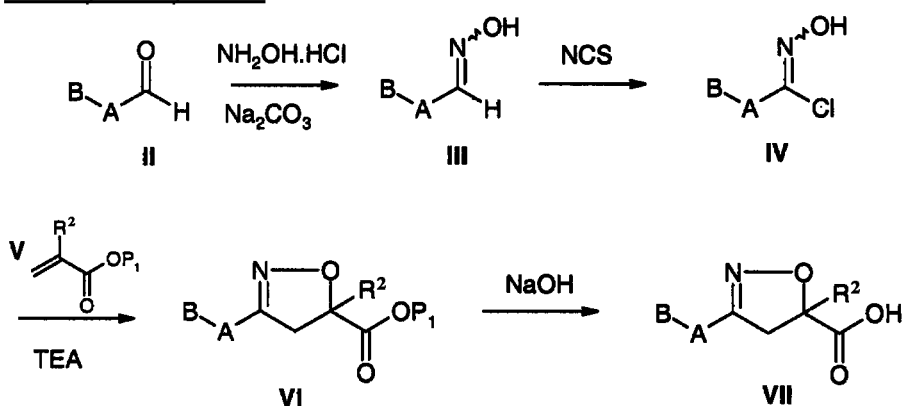
30 Blant forbindelsene med formel (1a) kan for eksempel forbindelsen (3*S*)-5-fluor-3-({[(5*R*)-5-isopropyl-3-(1-isokinoliny)]-4,5-dihydro-5-isoksazolyl]karbonyl} amino)-4-oksopentankarboksylsyre (Iii-1) fremstilles ved en fremgangsmåte omfattende trinnet oppløsning av en blanding av (3*S*) og (3*R*) i metyl-*t*-butyleter, tilsetning av en liten mengde krystallinsk (3*S*)-5-fluor-3-({[(5*R*)-5-isopropyl-3-(1-isokinoliny)]-4,5-dihydro-5-isoksazolyl]karbonyl} amino)-4-oksopentankarboksylsyre som et podemateriale, hvilket gir en krystall, og omkrystallisering av denne krystall fra et etylacetat/*n*-heksan-
35 løsningsmiddelsystem.

De mest foretrukne forbindelser blant forbindelsene med formlene (1) og (1a) er 5-fluor-3-({[(5*R*)-5-isopropyl-3-(1-isokinoliny)]-4,5-dihydro-5-isoksazolyl]karbonyl} amino)-4-oksopentankarboksylsyre (Iii); og (3*S*)-5-fluor-3-

({[(5*R*)-5-isopropyl-3-(1-isokinoliny)-4,5-dihydro-5-isoksazolyl]karbonyl} amino)-4-oksopentankarboksylysyre (Iii-1).

5 Fremgangsmåtene for fremstilling av det nye isoksazolinderivat med formel (1) som viser en inhiberende aktivitet mot caspaser er vist i de følgende Reaksjons-skjemaer 1 til 5. Imidlertid representerer de som er illustrert i de følgende Reaksjonsskjemaer bare de typiske fremgangsmåter som blir anvendt i den foreliggende oppfinnelse. Manipuleringsrekkefølgen kan forandres uten noen begrensning, og således er fremgangsmåtene ikke begrenset til slike som er vist
10 nedenfor.

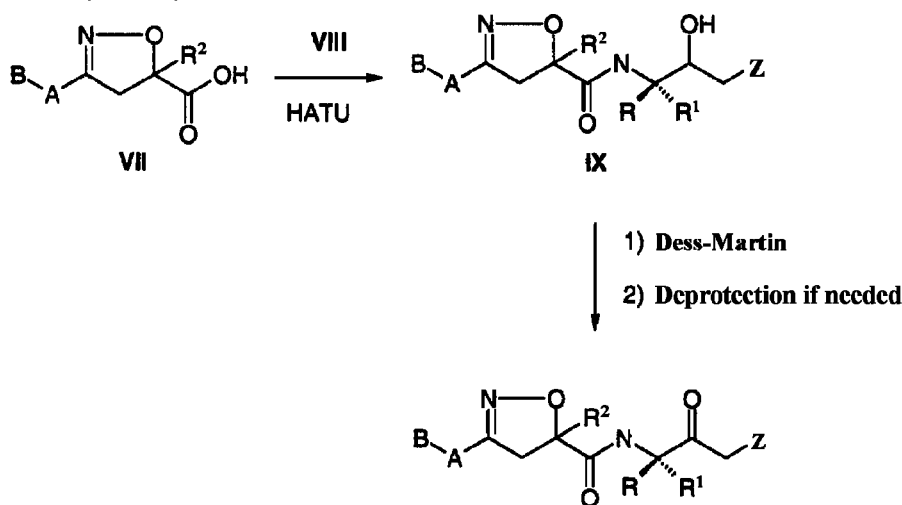
Reaksjonsskjema 1



hvor

15 A, B, og R² er definert som beskrevet ovenfor, og P¹ representerer enkel alkylkjede.

I Reaksjonsskjema 1 ovenfor blir et aldehyd-derivat (II) omsatt med hydroksylamin-hydroklorid og natriumkarbonat i en løsningsmiddelblanding av alkohol-vann og gir et oksimderivat (III) (en blanding av *syn*- og *anti*-oksimer). Det
20 resulterende oksimderivat (III) blir behandlet ved NCS (N-klorsuksinimid) i dimetylformamidløsning og gir et hydroksamoylchlorid-derivat (IV). Således blir det oppnådde hydroksamoylchloridderivat (IV) omsatt med et akrylat-derivat (V) og gir et isoksazolinderivat (VI), som deretter blir hydrolysert, om nødvendig, og gir et
25 avbeskyttet isoksazolin-derivat (VII). Hvis det er passende kan oksim-derivatet (III), akrylat-derivatet (V), og NaOCl reagere sammen i et reaksjonskar (*i situ*) og direkte gi isoksazolin-derivatet (VI) (se Mellomprodukter 16 og 17).

Reaksjonsskjema 2

I (X = COCH₂ Z (Z = OR¹¹, OC(=O) R¹², or W)

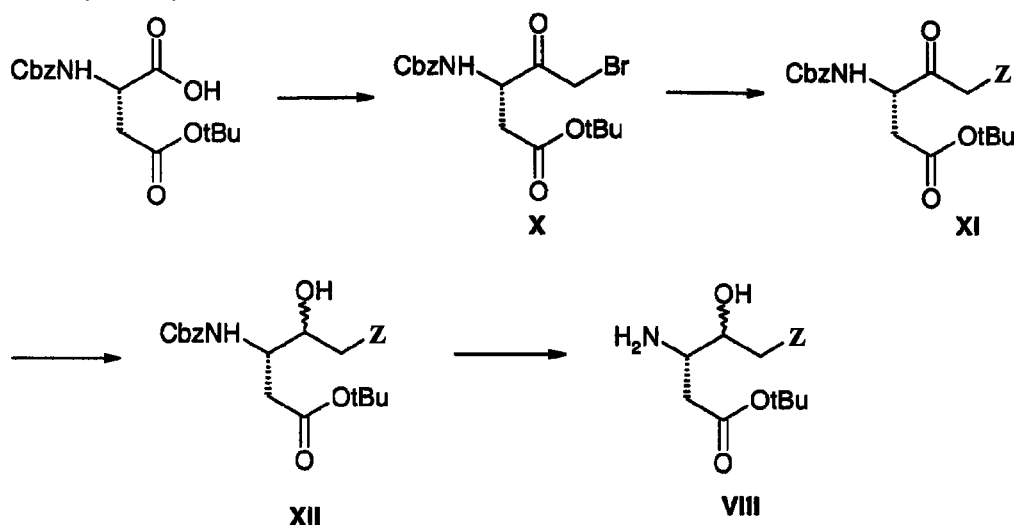
hvor A, B, R, R¹, R², R¹¹, R¹², og W er definert som beskrevet ovenfor.

5 I Reaksjonsskjema 2 ovenfor blir et karboksylsyre-derivat (VII) koblet med et aspartinsyrederivat (VIII) (se det følgende Reaksjonsskjema 3), hvilket gir en forbindelse (IX), som deretter blir underkastet Dess-Martin-periodinanoksidasjonsreaksjon og avbeskyttelsesreaksjon, om nødvendig, hvilket gir den ønskete forbindelse med formel (1).

10

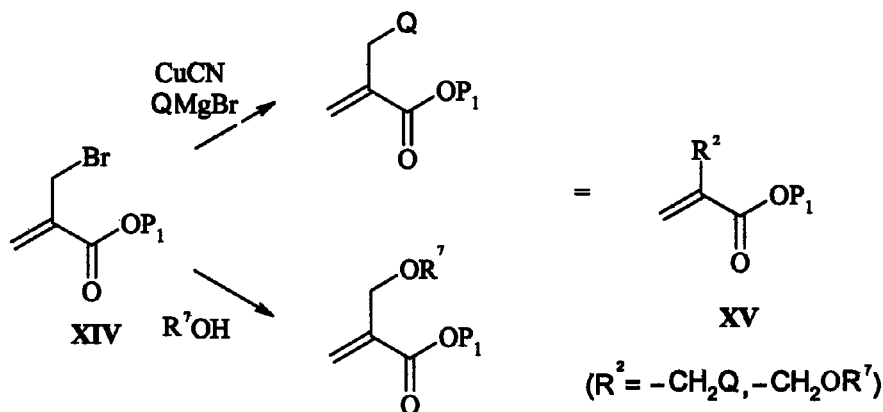
Den funksjonelle gruppe Z i forbindelsen (I) av Reaksjonsskjema 2 kan dannes gjennom flere trinn som eksemplifisert i de følgende Mellomprodukter 5 og 7 etter karboksylsyreforbindelsen (VII) på den venstre side er kombinert med en aspartinsyre(β-t-Bu)metylester. Ellers, som vist i det følgende Reaksjonsskjema 3, syntetiseres forbindelsen (VIII) som allerede har den ønskete Z først og kobles med forbindelsen (VII) (Ref.: WO 00/23421). Videre, når W er F, kan den racemiske forbindelse fremstilles i henhold til en metode kjent fra *Tetrahedron Letters*, **1994**, 35(52), 9693-9696.

20

Reaksjonsskjema 3

hvor Z er definert som beskrevet ovenfor.

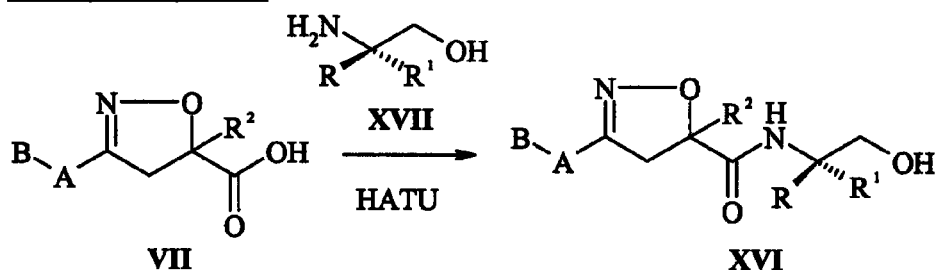
- 5 Acrylatderivatet (V) som anvendes som en reaktant i Reaksjonsskjemaet 1 ovenfor kan fremstilles ad to (2) veier. Det vil si en forbindelse (XV) kan lett fremstilles fra en kjent forbindelse (XIV) (*Synthesis*, **1982**, s. 924) som vist i det følgende Reaksjonsskjema 4, eller metyl(etyl)-2-i-propylakrylat, forbindelsen (V), kan fremstilles fra dimetyl(dietyl)malonat (*J. Chemical Society Perkin Trans. 1* **1997**, 1559-1570).
- 10

Reaksjonsskjema 4

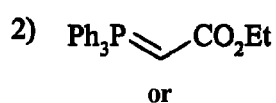
hvor P_1 og R^2 er definert som beskrevet ovenfor.

- 15 Det følgende Reaksjonsskjema 5 viser en syntetisk fremgangsmåte for fremstilling av en forbindelse hvori en α,β -umettet ester eller et α,β -umettet sulfon blir innført i P_1 -setet. I henhold til dette blir karboksylsyre-derivatet (VII) som fremstilles i Reaksjonsskjema 1 omsatt med et aminoalkohol-derivat (XVII) og gir en forbindelse (XVI), som deretter underkastes Dess-Martin-oksidasjon og Wittig-
- 20 reaksjoner, hvilket gir forbindelsen (I).

Reaksjonsskjema 5



1) Dess-Martin

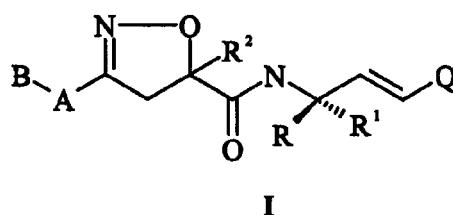


3) Deprotection if needed

hvor

R, A, B, R¹, og R² er definert som beskrevet ovenfor, og

5 Q representerer -CO₂R¹³ eller SO₂R¹⁴, hvor R¹³ og R¹⁴ er definert som beskrevet ovenfor.



Forbindelsen med formel (1) i henhold til den foreliggende oppfinnelse har et bredt spektrum av inhiberende aktivitet mot caspaser som demonstreres ved resultatene av de følgende Eksperimenter, og har således en virkning for forhindring av inflammasjon og apoptose. Således gir den foreliggende oppfinnelse en blanding som inhiberer caspaser, spesifikt en terapeutisk blanding for forhindring av inflammasjon og apoptose, omfattende forbindelsen med formel (1) som en aktiv bestanddel sammen med den farmasøytisk akseptable bærer. Spesifikt har blandingen ifølge den foreliggende oppfinnelse en terapeutisk virkning på dementi, cerebralt slag, hjernesvekkelse på grunn av AIDS, diabetes, mavesår, cerebral skade ved hepatitt, hepatitt-induserte hepatiske sykdommer, akutt hepatitt, fulminant hepatisk svikt, lever-cirrhose, sepsis, organtransplantasjonsavvisning, reumatisk artritt, eller hjertecelle-apoptose på grunn av iskemiske hjertesykdommer, særlig spesifikt for akutt hepatitt, lever-cirrhose, eller reumatisk artritt.

Caspaseinhibitorer, særlig forbindelsen med formel (1), kan formuleres i forskjellige farmasøytiske former for administreringsformål. For å fremstille den farmasøytiske blanding i henhold til den foreliggende oppfinnelse blir en effektiv mengde av caspaseinhibitoren, særlig forbindelsen med formel (1) eller dens salt, blandet med en farmasøytisk akseptabel bærer som kan ha en lang rekke former avhengig av formuleringen som skal fremstilles.

Caspaseinhibitorforbindelsen kan formuleres som en parenteral injeksjon, eller perkutant eller oralt preparat avhengig av dens applikasjonsformål. Det er spesielt fordelaktig å formulere blandingen i en enhetsdoseform for å lette administrering og jevn dose.

5

For det orale preparat kan enhver vanlig farmasøytisk bærer anvendes. For eksempel kan vann, glykoler, oljer, alkoholer og liknende anvendes for slike orale flytende preparater som suspensjoner, siruper, eliksirer og løsninger; eller stivelses-, sukkere, kaolin, smøremidler, bindemidler, sprengningsmidler og liknende kan anvendes for slike faste preparater som pulvere, piller, kapsler og tabletter. På grunn av at de er lette å administrere, er tabletter og kapsler de mest fordelaktige enhetsdoseformer. Det er også ønskelig å formulere tabletter og piller som enterisk-belagt preparat.

15

For det parenterale preparat blir sterilt vann vanligvis anvendt som bærer, selv om andre bestanddeler slik som løselighetshjelpemidler kan anvendes. Injeksjoner, for eksempel, sterilisert vandig eller oljeaktig suspensjon for injeksjon, kan fremstilles i henhold til de kjente fremgangsmåter ved bruk av egnete dispergeringsreagenser, fuktingsreagenser, eller suspensionsreagenser.

20

Løsningsmidler som kan anvendes for fremstilling av injeksjoner innbefatter vann, Ringer's fluid, og isotonisk NaCl-løsning, og også sterilisert fikseringsolje kan lett anvendes som løsningsmiddel eller suspensionsmedium. Enhver ikke-stimulerende fikseringsolje innbefattet mono-, di-glycerid kan anvendes for dette formål. Fettsyrer slik som oleinsyre kan også anvendes for injeksjoner.

25

For perkutan administrering kan bæreren innbefatte et penetreringsøkende reagens og/eller et egnet fuktingsreagens, eventuelt kombinert med egnede additiver som ikke har signifikant hudirritasjon. Disse additiver kan lette administreringen gjennom huden og/eller kan bistå fremstilling av en ønsket blanding. Disse perkutane preparater blir administrert på forskjellige måter, f.eks., som et transdermalt plaster, en spot-on, eller en salve.

30

Når caspaseinhibitoren, spesifikt forbindelsen med formel (1), blir anvendt for kliniske formål, blir den fortrinnsvis administrert til den enkelte pasient i en mengde som ligger fra 0,1 til 100 mg pr. kg kroppsvekt pr. dag. Den totale daglige dose kan administreres én gang eller over flere ganger. Imidlertid kan spesifikk administreringsdose for en enkelt pasient varieres med den spesifikke forbindelse som blir anvendt, kroppsvekt, kjønn, hygienisk tilstand, eller diet for individuell pasient, tid eller metode for administrering, utskillingshastighet, blandingsforhold av reagens, alvorligheten av sykdommen som skal behandles, etc.

40

Den foreliggende oppfinnelse vil bli mer spesifikt forklart ved de følgende eksempler. Imidlertid må det være klart at disse eksempler er tilsiktet å illustrere den foreliggende oppfinnelse, men ikke på noen måte å begrense omfanget av den foreliggende oppfinnelse.

5

Mellomprodukt 1

Bensaldehydoksime

Bensaldehyd (5,31g, 50,0mmol) ble oppløst i etanol (60 ml)-vann (30 ml), og hydroksylamin-hydroklorid (5,21g, 1,5 Ekv.) og vannfritt natriumkarbonat (Na₂CO₃, 3,97g, 0,75 Ekv.) ble satt til dette ved 0°C. Når en stor mengde av faststoff var dannet etter omtrent ett minutt, ble vann-etanol (1:1, 60 ml) tilsatt, og blandingen ble rørt i en time. Mettet vandig natriumkloridløsning (100 ml) ble tilsatt, og blandingen ble ekstrahert to ganger med etylacetat (300 ml). Ekstraktet ble vasket med 1,0 N vandig natriumbikarbonatløsning (NaHCO₃, 100 ml x 2), tørket (vannfritt Na₂SO₄), og inndampet under redusert trykk, hvilket ga tittelforbindelsen (6,06g, utbytte 99%) som et hvitt pulver som en blanding av *cis* og *trans*.

20

¹H-NMR(500MHz, CDCl₃) δ 8,9(br, 1H), 8,1(s, 1H), 7,5(m, 2H), 7,3(m, 3H)

Mellomprodukt 2

Bensaldehydhydroksamoylchlorid

Oksimet fremstilt i Mellomprodukt 1 (3,00g, 24,8mmol) ble oppløst i dimetylformamid (100 ml), og N-klorosuksinimid (3,47g, 1,05 Ekv.) ble tilsatt. Den resulterende løsning ble rørt i en time i et vannbad på omtrent 40°C, og det flyktige løsningsmiddel ble fjernet ved destillasjon under redusert trykk. Resten ble oppløst i etylacetat-heksan (1:1, 150 ml), vasket med vann (100 ml x 3), tørket (vannfritt Na₂SO₄), og inndampet under redusert trykk, hvilket ga tittelforbindelsen (3,86g, utbytte 99%). Denne forbindelsen ble anvendt i den neste reaksjon uten noen videre rensing.

30

Mellomprodukt 3

Metyl-5-metyl-3-fenyl-4,5-dihydro-5-isoksazolkarboksylat (VIa)

Hydroksamoylchloridet fremstilt i Mellomprodukt 2 (3,86g, 24,8mmol) og metylmetakrylat (4,0 ml, 37,2mmol, 1,5 Ekv.) ble oppløst i tørr dietyleter (120 ml) under nitrogenatmosfære, blandingen ble holdt på -78°C, og trietylamin (6,9 ml, 2,0 Ekv.) ble tilsatt. Blandingens ble rørt natten over mens den langsomt ble oppvarmet til romtemperatur. Vann (100 ml) ble tilsatt, og deretter ble blandingen ekstrahert med etylacetat (100 ml x 2), vasket med vann (100 ml), tørket (vannfritt Na₂SO₄), og inndampet under redusert trykk. Resten ble renses ved kolonnekromatografi

40

(15% etylacetat-heksan), hvilket ga tittelforbindelsen (5,34g, utbytte 98%), som deretter ble identifisert ved $^1\text{H-NMR}$ til å være en 1:1 blanding av diastereomerer.

$^1\text{H-NMR}$ (400MHz, CDCl_3) δ 6,7(m, 2H,), 6,5(m, 3H), 3,0(d, $J = 16,7\text{Hz}$, 1H), 2,9(s, 3H), 2,3(d, $J = 16,7\text{Hz}$, 1H), 0,8(s, 3H)

Mellomprodukt 4

5-Metyl-3-fenyl- 4,5-dihydro-5-isoksazolkarboksylsyre (VIIa)

Forbindelsen fremstilt i Mellomprodukt 3 (VIa, 5,34g) ble oppløst i destillert tetrahydrofuran (120 ml), og 1N vandig natriumhydroksidløsning (36,5 ml, 1,5 Ekv.) ble tilsatt. Etter omtrent fire timer ble blandingen nøytralisert med 1N vandig saltsyreløsning og destillert under redusert trykk å fjerne det meste av tetrahydrofuranet. Resten ble oppløst i overskudd av etylacetat (>700 ml), vasket med vann, tørket (vannfritt Na_2SO_4), og inndampet under redusert trykk, hvilket ga tittelforbindelsen (4,77g, utbytte 95%) som et hvitt pulver. Denne forbindelsen ble anvendt i den neste reaksjon uten noen videre rensing.

Mellomprodukt 5

(3S)-3-{[(bensyloksy)karbonyl]amino}-5-(*t*-butoksy)-2- hydroksy-5-oksopentyl-2,6-diklorbensoat (XIIa)

Til N-bensyloksykarbonyl- β -*t*-butylaspartinsyre (5,03g, 15,6mmol) og NMM (1,90 ml, 17,1mmol) sattes tørt tetrahydrofuran (60 ml) under nitrogenatmosfære, blandingen ble holdt -15°C , og isobutylklorformiat (2,12 ml, 16,3mmol) ble satt til dette. Blandingen ble rørt i omtrent 20 minutter. Til reaksjonsblandingen som ble holdt ved 0°C sattes diazometan-eter-løsning (syntetisert fra 2,0 Ekv. av 1-metyl-3-nitro-1-nitroso-guanidin, 60 ml) for å fremstille diazoketonderivatet (~30 minutter). 30% HBr/AcOH (6,42 ml, 2,0 Ekv.) sattes til dette ved 0°C . Den resulterende blanding ble rørt (30-60 minutter), ekstrahert med etylacetat, vasket to ganger med mett vandig natriumbikarbonatløsning og én gang med vandig natriumkloridløsning, tørket (vannfritt Na_2SO_4), og inndampet under redusert trykk, hvilket ga brommetylketonderivatet (X, 6,4g).

Slik oppnådd brommetylketonderivat (X, 4,36g) og 2,6-diklorbensoesyre (2,28g, 1,1 Ekv.) ble oppløst i dimetylformamid (18 ml), KF (1,58g, 2,5 Ekv.) ble tilsatt, og blandingen ble rørt i to timer, hvilket ga 2,6-diklorbensoylksymetylketonderivat (XIa). Denne forbindelsen ble oppløst i metanol (20 ml) og omsatt ved tilsetning av NaBH_4 (412mg)-metanolløsning (40 ml)(-10°C ~romtemperatur, to timer). Reaksjonen ble stoppet med eddiksyre, og reaksjonsløsningen ble destillert under redusert trykk for å fjerne metanol. Resten ble ekstrahert med etylacetat (50 ml x 2), vasket med vann og vandig natriumkloridløsning, tørket (vannfritt Na_2SO_4), inndampet under redusert trykk, og separert-renset ved kolonnekromatografi

(etylacetat-heksan, 1:5), hvilket ga tittelforbindelsen (4,80g, utbytte 86%) i en diastereomer form.

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7,3-7,2(m, 8H), 5,9(m, 1H), 5,2(m, 4H),
5 4,7(m, 1H), 2,9(m, 1H), 2,7(m, 1H), 1,4(s, 9H)

Mellomprodukt 6

(3S)-3-amino-5-(*t*-butoksy)-2-hydroksy-5-okso-pentyl-2,6-diklorbensoat (VIIIa)

10 Bensyloksykarbonyl-gruppen i forbindelsen fremstilt i Mellomprodukt 5 ble fjernet (Pd/C) under hydrogenballong i 40 minutter, hvilket ga tittelforbindelsen (Utbytte 100%).

¹H-NMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ 8,2(br, 2H), 7,6-7,5(m, 3H), 6,1(m, 1H),
15 4,4-3,9(m, 3H), 3,0-2,6(m, 2H), 1,4(s, 9H)

Eksempel 1

(3S)-5-(*t*-butoksy)-3-[(5-metyl-3-fenyl-4,5-dihydro-5-isoksazolyl)karbonyl]amino}-2,5-dioksopentyl-2,6-diklorbensoat (Ia)

20 En blanding av karboksylsyre-derivatet fremstilt i Mellomprodukt 4 (VIIa, 300mg, 1,46 mmol), aminoalkohol-derivatet fremstilt i Mellomprodukt 6 (VIIIa, 667 mg, 1,1 Ekv.) og HATU (722mg, 1,3 Ekv.) ble avkjølt til 0°C, trietylamin (0,82 ml, 4,0 Ekv.) ble tilsatt i et løsningsmiddel av DMF(5 ml), og den resulterende blanding ble omsatt i 5 timer. Løsningsmiddelet ble destillert under redusert trykk, og resten ble
25 ekstrahert med etylacetat (200 ml x 2), vasket med vann, vandig natriumbikarbonat-løsning, og vandig natriumkloridløsning, tørket (vannfritt Na₂SO₄), inndampet under redusert trykk, og rensset ved kolonnekromatografi, hvilket ga Forbindelse (IXa) (810mg, utbytte 98%). Til denne forbindelse og Dess-Martin-reagens (1,70g, 3,0 Ekv.) sattes tørt diklormetan (25 ml), og blandingen ble rørt i en time ved
30 romtemperatur. Reaksjonen ble stoppet med isopropylalkohol (3 ml). Det faste stoffet ble fjernet ved filtrering under redusert trykk gjennom Celite, og filtratet ble ekstrahert med etylacetat (20 ml x 2), vasket med vann, mettet vandig natriumbikarbonatløsning og vandig natriumkloridløsning, tørket (vannfritt Na₂SO₄), inndampet under redusert trykk og preliminært rensset ved
35 kolonnekromatografi (36% etylacetat-heksan), hvilket ga den diastereomere tittelforbindelsen (780 mg).

¹H-NMR(400MHz, CDCl₃) δ 7,8(m, NH, 1H), 7,6(m, 2H), 7,3(m, 3H),
7,2(m, 3H), 5,1-5,0(m, 2H), 4,8(m, 1H), 3,8(m, 1H), 3,2(m, 1H), 2,9-2,8(m, 2H),
40 1,7(s, 3H), 1,4(s, 9H)

Eksempel 2**(3S)-5-[(2,6-diklorbensoyl)oksy]-3-[[[(5-metyl-3-fenyl-4,5-dihydro-5-isoksazoly)karbonyl]amino]-4-okso-pentan-karboksy]syre (Iaa)**

Forbindelsen fremstilt i Eksempel 1 (44 mg) ble oppløst i diklormetan (2 ml), og trifluoreddiksyre (1 ml) ble tilsatt ved 0°C. Blandingen ble rørt i to timer mens den langsomt ble oppvarmet til romtemperatur og deretter inndampet under redusert trykk, hvilket ga tittelforbindelsen (Iaa) i en støkiometrisk mengde.

¹H-NMR(500MHz, CDCl₃) δ 8,1(m, 1H), 7,5((m, 2H), 7,3(m, 3H), 7,2(m, 3H), 5,1-4,9(m, 2H), 4,9-4,8(m, 1H), 3,8(m, 1H), 3,2(m, 1H), 1,7(m, 3H)

Mellomprodukt 7***t*-Butyl-(3S)-3-amino-4-hydroksey-5-fenoksy-pentanoat (VIIIb)**

Til N-bensyloksykarbonyl-β-t-butylaspartinsyre (10,0 g, 31,0 mmol) og NMM (3,75 ml, 1,1 Ekv.) sattes tørt tetrahydrofuran (120 ml) under nitrogen-atmosfære, og blandingen ble holdt på -15°C. Isobutylklorformiat (4,22 ml, 1,05 Ekv.) ble satt til dette, og blandingen ble rørt i omtrent 20 minutter. Reaktantene ble holdt på 0°C, hvilke deretter ble blandet med diazometaneterløsning (syntetisert fra 2,0 Ekv. av 1-metyl-3-nitro-1-nitrosoguanidin, 60 ml) for å fremstille diazoketonderivatet (~30 minutter). 30% HBr/AcOH (12,83 ml, 2,0 Ekv.) ble satt til dette for å fremstille brommetylketonderivat (30-60 minutter). Produktet ble ekstrahert med etylacetat, vasket to ganger med mettet vandig natriumbikarbonatløsning og vandig natriumkloridløsning, tørket (vannfritt Na₂SO₄), og inndampet under redusert trykk, hvilket ga brommetylketonderivat (12,9 g) i en støkiometrisk mengde.

Således oppnådd brommetylketonderivat (X, 12,9 g, 31,0 mmol) og fenol (3,23 g, 1,2 Ekv.) ble oppløst i dimetylformamid (30 ml), KF(4,53 g, 2,5 Ekv.) ble tilsatt, og blandingen ble rørt i to timer, hvilket ga fenoksymetylketonderivatet (XIb). Denne forbindelsen ble oppløst i metanol (40 ml)-THF (100 ml) og ble omsatt ved tilsetning av NaBH₄(2,35 g)-metanol-løsning (40 ml) (-10°C - romtemperatur, to timer). Reaksjonen ble stoppet med eddiksyre, og reaksjonsblandingen ble destillert under redusert trykk for å fjerne metanol. Resten ble ekstrahert med etylacetat (50 ml x 2), vasket med vann og vandig natriumkloridløsning, tørket (vannfritt Na₂SO₄), inndampet under redusert trykk, og separert-renset ved kolonnekromatografi (etylacetat-heksan, 1:7), hvilket ga en forbindelse (XIb, 6,50g, utbytte 50%) i en diastereomer form hvori en aminogruppe er beskyttet med bensyloksykarbonyl.

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)

Bensyloksykarbonylgruppen i forbindelsen oppnådd ovenfor ble fjernet (Pd/C) under hydrogenballong, hvilket ga tittelforbindelsen (4,16g, utbytte 95%).

¹H-NMR(400MHz, DMSO-d₆) δ 8,1(br, 2H), 7,3(m, 5H), 5,6(m, 1H), 4,1-4,0 (m, 3H), 2,6(m, 2H), 1,4(s, 9H)

Eksempel 3

t-butyl-(3*S*)-3-{[(5-metyl-3-fenyl-4,5-dihydro-5-isoksazolyl)karbonyl]amino}-4-okso-5-fenoksy-pentanoat (Ib)

En blanding av karboksylsyre-derivatet fremstilt i Mellomprodukt 4 (VIIa, 273 mg, 1,33 mmol), aminoalkohol-derivatet fremstilt i Mellomprodukt 7 (VIIIb, 412 mg, 1,1 Ekv.) og HATU (657 mg, 1,3 Ekv.) ble avkjølt til 0°C, trietylamin (0,74 ml, 4,0 Ekv.) ble tilsatt i et løsningsmiddel av DMF(5 ml), og den resulterende blanding ble omsatt i 5 timer. Løsningmiddelet ble destillert under redusert trykk, og resten ble ekstrahert med etylacetat (200 ml x 2), vasket med vann, vandig natriumbikarbonatløsning, og vandig natriumkloridløsning, tørket (vannfritt Na₂SO₄), inndampet under redusert trykk, og rensset ved kolonnekromatografi (30-40% EA/Heks), hvilket ga Forbindelse (IXb) (545 mg, utbytte 88%). Til denne forbindelse og Dess-Martin reagens (1,43 g, 3,0 Ekv.) sattes tørt diklormetan (25 ml), og blandingen ble rørt i en time ved romtemperatur. Reaksjonen ble stoppet med isopropylalkohol (2 ml). Det faste stoffet ble fjernet ved filtrering under redusert trykk gjennom Celite, og filtratet ble ekstrahert med etylacetat (20 ml x 2), vasket med vann, mettet vandig natriumbikarbonatløsning og vandig natriumkloridløsning, tørket (vannfritt Na₂SO₄), inndampet under redusert trykk og preliminært rensset ved kolonnekromatografi (eluent: 25% etylacetat-heksan), hvilket ga den diastereomere tittelforbindelsen (540 mg, utbytte 99%).

¹H-NMR(400MHz, CDCl₃) δ 7,8(NH, 1H), 7,5(m, 2H), 7,3(m, 3H), 7,3(m, 1H), 7,1(m, 1H), 6,8(m, 2H), 6,7(m, 1H), 4,9(s, 1H), 4,7-4,6(m, 2H), 3,7(d, J = 17Hz, 1H), 3,2(d, J = 17Hz, 1H), 2,9(m, 1H), 2,8(m, 1H), 1,7(s, 3H), 1,4(s, 9H)

Eksempel 4

(3*S*)-3-{[(5-metyl-3-fenyl-4,5-dihydro-5-isoksazolyl)karbonyl]amino}-4-okso-5-fenoksy-pentankarboksylsyre (Ibb)

Forbindelsen fremstilt i Eksempel 3 (530 mg, 1,136 mmol) ble oppløst i diklormetan (6 ml), og trifluoreddiksyre (3 ml) ble tilsatt ved 0°C. Blandingen ble rørt i to timer mens den langsomt ble oppvarmet til romtemperatur og inndampet under redusert trykk, hvilket ga tittelforbindelsen (Ibb) (465 mg) i et støkiometrisk utbytte.

40

¹H-NMR(400MHz, CDCl₃) δ 7,5(m, 2H), 7,3(m, 3H), 7,1(NH, 1H), 6,7(m, 5H), 5,0-4,6(m, 2H), 4,2(m, 1H), 3,8(m, 1H), 3,2(m, 1H), 3,0-2,7(m, 2H), 1,6(s, 3H)

Mellomprodukt 8**Etyl-2-etylakrylat (XVb)**

5 Til CuCN (26,9 g, tørket på forhånd under vakuum) sattes under nitrogen-atmosfære omtrent 500 ml tørt tetrahydrofuran. Blandingen ble holdt på -78°C, og 100 ml metylmagnesiumbromid (3,0M dietylerløsning) ble langsomt satt til dette under mekanisk røring. Den tykke blandingen ble rørt i omtrent 30 minutter ved -78°C. Etyl-2-brommetylakrylat (28,9 g, 150 mmol, syntesemetode: Villieras, J. og Rambaud, M. Synthesis, 1982, 914) løst i omtrent 30 ml tørt tetrahydrofuran ble 10 langsomt satt til dette. Temperaturen i reaksjonsblandingen ble langsomt øket til romtemperatur over to timer. Reaksjonen ble avsluttet ved langsomt tilsetning av mettett ammoniumkloridløsning (~50 ml). Reaksjonsblandingen ble filtrert gjennom Celite for å fjerne fellingene og deretter vasket med dietyler. Det organiske sjikt ble vasket med vann og mettett natriumbikarbonatløsning (300 ml x 2), tørket 15 (vannfritt Na₂SO₄), og inndampet under redusert trykk, hvilket ga 26,7g (støkiometrisk utbytte) av en klar væske. Denne væsken ble identifisert ved ¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃) og ble bekreftet å være tittelforbindelsen med omtrent 75 vekt-% renhet.

20 ¹H-NMR(500MHz, CDCl₃) δ 6,12(1H, s), 5,50(1H, s), 4,20(2H, q, J = 7,3 Hz), 2,31(2H, qt), 1,28(3H, t, J = 7,3 Hz), 1,07(3H, t, J = 7,8Hz)

Mellomprodukt 9**Etyl-5-etyl-3-fenyl-4,5-dihydro-5-isoksazolkarboksylat (VIb)**

25 Forbindelsen fra Mellomprodukt 8 (XVa) ble omsatt i henhold til den samme fremgangsmåte som Mellomprodukt 3, hvilket ga tittelforbindelsen.

30 ¹H-NMR(400MHz, CDCl₃) δ 7,6(m, 2H), 7,4-7,3(m, 3H), 4,3-4,2(m, 2H), 4,0(d, J = 17,2Hz, 1H), 3,4(d, J=17,2Hz, 1H), 2,1-2,0(m, 2H), 1,3(t, 3H), 1,0(t, 3H)

Mellomprodukt 10***t*-Butyl-(3*S*)-3-amino-4-hydroxy-5-(2,3,5,6-tetrafluorfenoksy)-pentanoat (VIIIc)**

35 2,3,5,6-Tetrafluorfenol ble omsatt i henhold til den samme fremgangsmåte som Mellomprodukter 5 og 6, hvilket ga tittelforbindelsen i et totalt utbytte på 72%.

¹H-NMR(400MHz, DMSO-d₆) 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)

Eksempel 5

***t*-Butyl-(3*S*)-3-{[(5-etyl-3-fenyl-4,5-dihydro-5-isoksazolyl)karbonyl]amino}-4-okso-5-(2,3,5,6-tetrafluorfenoksy)pentanoat (Ic)**

5 Forbindelsene i Mellomprodukter 9 og 10 ble omsatt i henhold til den samme fremgangsmåte som Mellomprodukt 4 og Eksempel 1, hvilket ga tittelforbindelsen.

¹H-NMR(400MHz, CDCl₃) δ 7,6(dd, J = 3,6, 1,6Hz, 1H), 7,6(m, 2H), 7,4-7,3(m, 3H), 6,7(m, 1H), 5,1-4,9(m, 2H), 4,9-4,8(m, 1H), 3,7(dd, J = 17,6, 17,2Hz, 1H), 3,3(1H, d, J = 17,2Hz), 3,0-2,8(m, 1H), 2,8-2,7(m, 1H), 2,1(m, 1H), 1,9(m, 1H), 1,4-1,3(to s, 9H,), 1,0(m, 3H)

Eksempel 6

15 **(3*S*)-3-{[(5-etyl-3-fenyl-4,5-dihydro-5-isoksazolyl)karbonyl]amino}-4-okso-5-(2,3,5,6-tetrafluorfenoksy)pentankarboksylsyre (Icc)**

Forbindelsen fra Eksempel 5 ble omsatt i henhold til den samme fremgangsmåte som Eksempel 2, hvilket ga tittelforbindelsen.

¹H-NMR(400MHz, DMSO-d₆) δ 7,6(br, 1H), 7,6-7,5(m, 2H), 7,4-7,3(m, 3H), 6,8-6,7(m, 1H), 4,9-4,8(m, 1H), 4,5(br, 2H), 3,7(d, J = 16Hz, 1H), 3,3(d, J = 16Hz, 1H), 3,3-3,0(m, 1H), 2,8-2,7(m, 1H), 2,1(m, 1H), 2,0-1,9(m, 1H), 1,0(m, 3H)
MS [M+H]⁺ 497

Mellomprodukt 11

25 **Etyl-5-etyl-3-(1-naftyl)-4,5-dihydro-5-isoksazolkarboksylat (VIc)**

1-Naftaldehyd og etyl-2-etylakrylat ble omsatt i henhold til den samme fremgangsmåte som Mellomprodukter 1, 2, og 3, hvilket ga tittelforbindelsen.

¹H-NMR(400MHz, CDCl₃) δ 8,9(d, J = 8,8Hz, 1H), 7,9-7,8(m, 2H), 7,6-7,4(m, 4H), 4,3-4,2(m, 2H), 4,0(d, J = 17,2Hz, 1H), 3,4(d, J = 17,2Hz, 1H), 2,1-2,0(m, 2H), 1,3(t, 3H), 1,0(t, 3H)

Eksempel 7

35 ***t*-Butyl-(3*S*)-3-({[5-etyl-3-(1-naftyl)-4,5-dihydro-5-isoksazolyl]karbonyl}amino)-4-okso-5-(2,3,5,6-tetrafluorfenoksy)pentanoat (Id)**

Forbindelsene i Mellomprodukter 11 og 10 ble omsatt i henhold til den samme fremgangsmåte som Mellomprodukt 4 og Eksempel 1, hvilket ga tittelforbindelsen.

40 ¹H-NMR(400MHz, CDCl₃) δ 8,9(m, 1H), 7,9-7,8(m, 3H), 7,6-7,4(m, 4H), 6,5-6,9(m, 1H), 5,1-4,9(m, 2H), 4,9(m, 1H), 3,9(dd, 1H), 3,5(d, J = 17,2Hz, 1H), 3,0-2,9(m, 1H), 2,8(m, 1H), 2,2(m, 1H), 2,0(m, 1H), 1,4-1,3(to s, 9H), 1,1(m, 3H)

Eksempel 8

(3S)-3-({[5-etyl-3-(1-naftyl)-4,5-dihydro-5-isoksazolyl]karbonyl}amino)-4-okso-5-(2,3,5,6-tetrafluorfenoksy)pentankarboksylsyre (Idd)

5 Forbindelsen fra Eksempel 7 ble omsatt i henhold til den samme fremgangsmåte som Eksempel 2, hvilket ga tittelforbindelsen.

¹H-NMR(400MHz, CDCl₃) δ 8,8(m, 1H), 7,9-7,7(m, 3H), 7,6-7,4(m, 4H), 6,7 (m, 1H), 4,9(m, 1H), 4,5(br, 2H), 3,9(d, J = 17,2Hz, 1H), 3,5(d, J = 17,2Hz, 1H), 3,1-2,9(m, 1H), 2,8-2,7(m, 1H), 2,2(m, 1H), 2,0(m, 1H), 1,0(m, 3H)
10 MS [M+MeOH+Na]⁺ 601

Mellomprodukt 12

Etyl-5-etyl-3-(2-naftyl)-4,5-dihydro-5-isoksazolkarboksylat (VId)

15 2-Naftaldehyd og etyl-2-etylakrylat ble omsatt i henhold til den samme fremgangsmåte som Mellomprodukter 1, 2, og 3, hvilket ga tittelforbindelsen.

¹H-NMR(500MHz, CDCl₃) δ 8,7(d, J = 8,8Hz, 1H), 7,8-7,7(m, 2H), 7,5-7,3 (m, 4H), 4,3-4,2(m, 2H), 4,0(d, J = 17,2Hz, 1H), 3,4(d, J = 17,2Hz, 1H), 2,1- 2,0(m, 2H), 1,3(t, 3H), 1,0(t, 3H)
20

Eksempel 9

***t*-Butyl-(3S)-3-({[5-etyl-3-(2-naftyl)-4,5-dihydro-5-isoksazolyl]karbonyl}amino)-4-okso-5-(2,3,5,6-tetrafluorfenoksy)pentanoat (Ie)**

25 Forbindelsene av Mellomprodukter 12 og 10 ble omsatt i henhold til den samme fremgangsmåte som Mellomprodukt 4 og Eksempel 1, hvilket ga tittelforbindelsen.

¹H-NMR(400MHz, CDCl₃) δ 7,8-7,7(m, 6H), 7,5(m, 2H), 6,7 & 6,5 (m, 1H), 5,1-4,9(m, 2H), 4,9-4,8(m, 2H), 3,8(dd, J = 16Hz, 1H), 3,4(d, J = 16Hz, 1H), 3,0(m, 1H), 2,8(m, 1H), 2,8-2,7(m, 1H), 2,2-2,1(m, 1H), 2,0(m, 1H), 1,4-1,3 (to s, 9H), 1,1-1,0(m, 3H)
30

Eksempel 10

(3S)-3-({[5-etyl-3-(2-naftyl)-4,5-dihydro-5-isoksazolyl]karbonyl}amino)-4-okso-5-(2,3,5,6-tetra fluorfenoksy)pentankarboksylsyre (Iee)

35 Forbindelsen fra Eksempel 9 ble avbeskyttet i henhold til den samme fremgangsmåte som Eksempel 2, og isomerene ble atskilt ved prep-TLC, hvilket ga de følgende to forbindelser.

40 Svakt polar diastereomer:

¹H-NMR(400MHz, DMSO-d₆) δ 12,4(br, 1H), 8,7(br, 1H), 8,1(s, 1H), 7,9-8,0(m, 3H), 7,8-7,9(m, 1H), 7,5-7,6(m, 3H), 5,2(br, 2H), 4,7(br, 1H), 3,8(d, J =

17,2Hz, 1H), 3,5(d, J = 17,6Hz, 1H), 2,7(m, 1H), 2,5(m, 1H), 2,0(m, 1H), 1,9(m, 1H), 0,9-0,8(m, 3H)

MS [M+H]⁺ 547

5 Sterkt polar diastereomer:

¹H-NMR(400MHz, DMSO-d₆) δ 8,6(br, 1H), 8,2(s, 1H), 8,0-7,9(m, 3H), 7,9(m, 1H), 7,6(m, 2H), 7,4(m, 1H), 5,0(br, 2H), 4,8(m, 1H), 3,9(d, J = 17,6Hz, 1H), 3,6(d, J = 17,6Hz, 1H), 2,9-2,7(m, 2H), 2,1-2,0(m, 1H), 2,0-1,9(m, 1H), 0,9(m, 3H)

10

Mellomprodukt 13

Etyl-5-etyl-3-(1-isokinolinyl)-4,5-dihydro-5-isoksazolkarboksylat (VIe)

15 1-Isokinolinaldehyd og etyl-2-etylakrylat ble omsatt i henhold til den samme fremgangsmåte som Mellomprodukter 1, 2 og 3. Tittelforbindelsen i en aktiv chiral isomer form ble separert ved Chiral OD HPLC (Daicel Chemical Industries, 2,00cm x 25cm, OD00CJ-1C005, 3% i-PrOH i Heksan, 220nm), som deretter ble anvendt i den neste reaksjon.

20 ¹H-NMR(400MHz, CDCl₃) δ 9,25(m, 1H), 8,55(d, 1H), 7,85(d, 1H), 7,74-7,65(m, 3H), 4,29(m, 2H), 4,13(d, 1H), 3,71(d, 1H), 2,11(m, 2H), 1,33(t, 3H), 1,06(t, 3H)

Eksempel 11

25 *t*-Butyl-(3*S*)-3-([5-etyl-3-(1-isokinolinyl)-4,5-dihydro-5-isoksazolyl]karbonyl)amino)-4-okso-5-(2,3,5,6-tetrafluorfenoksy)pentanoat (Hvis)

Forbindelsene i Mellomprodukter 13 og 10 ble omsatt i henhold til den samme fremgangsmåte som Mellomprodukt 4 og Eksempel 1, hvilket ga tittelforbindelsen.

30 ¹H-NMR(400MHz, CDCl₃) δ 9,14(m, 1H), 8,53(m, 1H), 7,91-7,85(m, 2H), 7,74-7,64(m, 3H), 6,73-6,62(m, 1H), 5,30-4,91(m, 3H), 4,09(to d, 1H), 3,72(to d, 1H), 3,04-2,76(m, 2H), 2,24(m, 1H), 2,04(m, 1H), 1,45 & 1,35(to s, 9H), 1,08(to t, 3H)

35 Eksempel 12

(3*S*)-3-([5-etyl-3-(1-isokinolinyl)-4,5-dihydro-5-isoksazolyl]karbonyl)amino)-4-okso-5-(2,3,5,6-tetrafluorfenoksy)pentankarboksylsyre (Iff)

40 Forbindelsen fra Eksempel 11 ble omsatt i henhold til den samme fremgangsmåte som Eksempel 2, hvilket ga tittelforbindelsen.

$^1\text{H-NMR}$ (400MHz, DMSO- d_6) δ 9,02(m, 1H), 8,76(m, 1H), 8,59(m, 1H), 8,08-7,73(m, 4H), 7,61-7,32(m, 1H), 5,19-5,10(m, 2H), 4,93-4,65(m, 1H), 3,91 (to d, 1H), 3,68(to d, 1H), 2,91-2,52(m, 2H), 2,10-1,94(m, 2H), 0,94(to t, 3H)

Masse : M+H 548

5

Eksempel 13

***t*-Butyl-3-({[5-etyl-3-(1-isokinolinyl)-4,5-dihydro-5-isoksazolyl]karbonyl}amino)-5-fluor-4-oksopentanoat (Ig)**

Forbindelsen i Mellomprodukt 13 og *t*-butyl-3-amino-5-fluor-4-hydroksypentanoat ble omsatt i henhold til den samme fremgangsmåte som Mellomprodukt 4 og Eksempel 1, hvilket ga tittelforbindelsen.

$^1\text{H-NMR}$ (400MHz, CDCl_3) δ 9,15(m, 1H), 8,55(d, 1H), 7,87-7,66(m, 5H), 5,22-4,89(m, 3H), 4,12(to d, 1H), 3,72(to d, 1H), 3,05-2,75(m, 2H), 2,22 (m, 1H), 2,04(m, 1H), 1,45 & 1,34(to s, 9H), 1,07(to t, 3H)

15

Eksempel 14

3-({[5-Etyl-3-(1-isokinolinyl)-4,5-dihydro-5-isoksazolyl]karbonyl}amino)-5-fluor-4-oksopentankarboksylsyre (Igg)

Forbindelsen fra Eksempel 13 ble omsatt i henhold til den samme fremgangsmåte som Eksempel 2, hvilket ga tittelforbindelsen.

$^1\text{H-NMR}$ (400MHz, DMSO- d_6) δ 9,03(m, 1H), 8,67-8,59(m, 2H), 8,08(d, 1H), 7,97-7,78(m, 3H), 5,26-5,07(m, 2H), 4,75(m, 1H), 3,94(to d, 1H), 3,67(to d, 1H), 2,88-2,58(m, 2H), 2,07-1,94(m, 2H), 0,96(to t, 3H)

25

Masse : M+H 402

Eksempel 15

Etyl-3-({[5-etyl-3-(1-isokinolinyl)-4,5-dihydro-5-isoksazolyl]karbonyl}amino)-5-fluor-4-oksopentanoat (Ihh)

30

Forbindelsen fra Eksempel 14 ble omsatt i henhold til en metode kjent fra *Tetrahedron Letters*, **1994**, 35(52), 9693-9696, hvilket ga tittelforbindelsen.

$^1\text{H-NMR}$ (400MHz, CDCl_3) δ 9,15(m, 1H), 8,55(d, 1H), 7,89-7,67(m, 5H), 5,23-4,94(m, 3H), 4,18(m, 2H), 4,11(to d, 1H), 3,72(to d, 1H), 3,08-2,82 (m, 2H), 2,22(m, 1H), 2,05(m, 1H), 1,29-1,04(m, 6H)

35

40

Mellomprodukt 14**Metyl-5-isopropyl-3-(1-isokinolinyl)-4,5-dihydro-5-isoksazolkarboksylate) og oppløsning (VIf)**

1-Isokinolinaldehyd og metyl-2-isopropylakrylat ble omsatt i henhold til den samme fremgangsmåte som Mellomprodukter 1, 2 og 3, hvilket ga tittelforbindelsen.

Fra den således oppnådde forbindelse ble (5*R*)-aktiv chiral isomer (9,7min-11,7min) separert ved prep-HPLC ved bruk av chiral OD-kolonne (Daicel Chemical Industries, 2,00 cm x 25 cm, OD00CJ-1C005, 5% i-PrOH i heksan, 14 ml/min, 220nm) (den andre (5*S*)-isomer ble eluert under retensjonstid på 15,3-20,1min), som deretter ble anvendt i den neste reaksjon (se Mellomprodukt 23 for oppløsning etter hydrolyse)

¹H-NMR(500MHz, CDCl₃) δ 9,24(m, 1H), 8,55(d, 1H), 7,85(d, 1H), 7,72(t, 3H), 7,67(m, 2H), 4,11(d, 1H), 3,83(s, 3H), 3,74(d, 1H), 2,50(septett, 1H), 1,07(d, 3H), 1,02(d, 3H)

Eksempel 16***t*-Butyl-5-fluor-3-({[(5*R*)-5-isopropyl-3-(1-isokinolinyl)-4,5-dihydro-5-isoksazolyl]karbonyl}amino)-4-oksopentanoat (Ih)**

Forbindelsen i Mellomprodukt 14 og *t*-butyl-3-amino-5-fluor-4-hydroksypentanoat ble omsatt i henhold til den samme fremgangsmåte som Mellomprodukt 4 og Eksempel 1, hvilket ga tittelforbindelsen.

¹H-NMR(500MHz, CDCl₃) δ 9,14(m, 1H), 8,55(d, 1H), 7,87-7,65(m, 5H), 5,23-4,93(m, 2H), 4,90(m, 1H), 4,05-4,00(to d, 1H), 3,84-3,79(to, 1H), 3,06-2,74(m, 2H), 2,40(m, 1H), 1,45 & 1,34(to s, 9H), 1,12-1,07(m, 6H)

Eksempel 17**5-Fluor-3-({[(5*R*)-5-isopropyl-3-(1-isokinolinyl)-4,5-dihydro-5-isoksazolyl]karbonyl}amino)-4-oksopentankarboksylsyre (Iii)**

Forbindelsen fra Eksempel 16 ble omsatt i henhold til den samme fremgangsmåte som Eksempel 2, hvilket ga tittelforbindelsen (forbindelsen (5*S*)-isomer, Iii-u, ble oppnådd i henhold til den samme fremgangsmåte).

¹H-NMR(400MHz, DMSO-d₆) δ 9,00(m, 1H), 8,63-8,48(m, 2H), 8,08(d, 1H), 7,97(m, 1H) 7,87-7,76(m, 2H), 5,31-4,82(br, 2H), 4,74(m, 1H), 3,91(to d, 1H), 3,73(to d, 1H), 2,88-2,61(m, 2H), 2,33(m, 1H), 0,98(m, 6H)

Masse : M+H 416

Mellomprodukt 15**Etyl-5-etyl-3-(4-kinoliny)-4,5-dihydro-5-isoksazolkarboksylat (VIg)**

4-Kinolinaldehyd og etyl-2-etylakrylat ble omsatt i henhold til den samme fremgangsmåte som Mellomprodukter 1, 2, og 3, hvilket ga tittelforbindelsen.

5

$^1\text{H-NMR}$ (400MHz, CDCl_3) δ 8,95(d, 1H), 8,89(m, 1H), 8,11(d, 1H), 7,83(m, 1H), 7,71(m, 1H), 7,65(d, 1H), 4,27(m, 2H), 4,01(d, 1H), 3,67(d, 1H), 2,10 (m, 2H), 1,31(t, 3H), 1,02(t, 3H)

10

Eksempel 18***t*-Butyl-3-([5-etyl-3-(4-kinoliny)-4,5-dihydro-5-isoksazolyl]karbonyl)amino)-5-fluor-4-oksopentanoat (Ii)**

Forbindelsen i Mellomprodukt 15 og *t*-butyl-3-amino-5-fluor-4-hydroksypentanoat ble omsatt i henhold til den samme fremgangsmåte som Mellomprodukt 4 og Eksempel 1, hvilket ga tittelforbindelsen.

15

$^1\text{H-NMR}$ (400MHz, CDCl_3) δ 8,97(d, 1H), 8,89(m, 1H), 8,17(d, 1H), 7,87-7,64(m, 3H), 7,36(d, 1H), 5,21-4,93(m, 3H), 3,93(to d, 1H), 3,48(to d, 1H), 3,05-2,78(m, 2H), 2,24(m, 1H), 2,03(m, 1H), 1,46 & 1,33(to s, 9H), 1,06(to t, 3H)

20

Eksempel 19**3-([5-Etyl-3-(4-kinoliny)-4,5-dihydro-5-isoksazolyl]karbonyl)amino)-5-fluor-4-oksopentankarboksylsyre (Ijj)**

Forbindelsen fra Eksempel 18 ble omsatt i henhold til den samme fremgangsmåte som Eksempel 2, hvilket ga tittelforbindelsen.

25

$^1\text{H-NMR}$ (400MHz, DMSO-d_6) δ 9,16-9,10(m, 2H), 8,25-7,86(m, 5H), 5,20(br, 2H), 4,75(m, 1H), 4,00-3,89(to d, 1H), 3,73(to d, 1H), 2,87-2,71(m, 2H), 2,26-2,05(m, 2H), 1,07(to t, 3H)

30

Masse : M+H 402

Mellomprodukt 16**Etyl-3-(bensotiofen-2-yl)-5-etyl-4,5-dihydro-5-isoksazolkarboksylat (VIh)**

35

Bensotiofen-2-aldehyd-oksim-derivat (400 mg, 2,26 mmol) fremstilt i henhold til den samme fremgangsmåte som Mellomprodukt 1 ble oppløst i THF (25 ml), og blandingen ble holdt på 0°C. Etyl-2-etylakrylat (434 mg, 1,5 Ekv.) og trietylamin (7 dråper) ble oppløst i THF (5 ml), den således oppnådde løsning ble langsomt satt til den ovenfor, og natriumhypokloritt-løsning (6,0 ml) ble videre tilsatt. Reaksjonsløsningen ble oppvarmet til romtemperatur og rørt i 4 timer. Vann (20 ml) ble tilsatt, og blandingen ble ekstrahert med etylacetat (40 ml x 2), vasket med vandig natriumkloridløsning (20 ml), tørket over magnesiumsulfat, filtrert, og

40

inndampet under redusert trykk. Resten ble rensset ved kolonnekromatografi (20% etylacetat-heksan), hvilket ga tittelforbindelsen (121 mg, utbytte 18%).

¹H-NMR(400MHz, CDCl₃) δ 7,82-7,75(m, 2H), 7,40-7,32(m, 3H), 4,28(m, 2H), 3,90(d, 1H), 3,31(d, 1H), 2,07(m, 2H), 1,33(t, 3H), 1,01(t, 3H)

Eksempel 20

***t*-Butyl-3-([3-(bensotiofen-2-yl)-5-etyl-4,5-dihydro-5-isoksazolyl]karbonyl)amino)-5-fluor-4-oksopentanoat (Ij)**

Forbindelsen i Mellomprodukt 16 og *t*-butyl-3-amino-5-fluor-4-hydroksypentanoat ble omsatt i henhold til den samme fremgangsmåte som Mellomprodukt 4 og Eksempel 1, hvilket ga tittelforbindelsen.

¹H-NMR(400MHz, CDCl₃) δ 7,83-7,68(m, 3H), 7,42-7,35(m, 3H), 5,21-4,88(m, 3H), 3,80(to d, 1H), 3,38(to d, 1H), 3,03-2,78(m, 2H), 2,17(m, 1H), 2,01(m, 1H), 1,46 & 1,38(to s, 9H), 1,03(to t, 3H)

Eksempel 21

3-([3-(bensotiofen-2-yl)-5-etyl-4,5-dihydro-5-isoksazolyl]karbonyl)amino)-5-fluor-4-oksopentankarboksylsyre (3-([3-(bensotiofen-2-yl)-5-etyl-4,5-dihydro-5-isoksazolyl]karbonyl)amino)-5-fluor-4-oksopentankarboksylsyre) (Ikk)

Forbindelsen fra Eksempel 20 ble omsatt i henhold til den samme fremgangsmåte som Eksempel 2, hvilket ga tittelforbindelsen.

¹H-NMR(400MHz, DMSO-d₆) δ 8,63(m, 1H), 8,11-7,79(m, 3H), 7,47-7,36(m, 2H), 5,24-5,06(m, 2H), 4,73(m, 1H), 3,79(to d, 1H), 3,53(to d, 1H), 2,83-2,58(m, 2H), 2,03-1,86(m, 2H), 0,91(to t, 3H)

Masse : M+H 407

Mellomprodukt 17

Etyl-3-(1,3-dimetyl-1*H*-indol-2-yl)-5-etyl-4,5-dihydro-5-isoksazolkarboksylat (VIIi)

1,3-Dimetyl-1*H*-indol-2-aldehydoksime-derivat (356 mg, 2,07 mmol) ble oppløst i diklormetan (20 ml), og blandingen ble holdt på 0°C. Etyl-2-etylakrylat (345 mg, 1,3 Ekv.) og trietylamin (6 drops) ble oppløst i diklormetan (5 ml), den således oppnådde løsning ble langsomt satt til den ovenfor, og natriumhypokloritt-løsning (5,5 ml) ble videre tilsatt. Reaksjonsløsningen ble oppvarmet til romtemperatur og rørt i 4 timer. Vann (20 ml) ble tilsatt, og blandingen ble ekstrahert med diklormetan (40 ml x 2), vasket med vandig natriumkloridløsning (20 ml), tørket over magnesiumsulfat, filtrert, og inndampet under redusert trykk.

Resten ble rensset ved kolonnekromatografi (15% etylacetat-heksan), hvilket ga tittelforbindelsen (230 mg, utbytte 35%).

¹H-NMR(400MHz, CDCl₃) δ 7,60(d, 1H), 7,31(m, 2H), 7,12(m, 1H),
5 4,29(m, 2H), 3,98(d, 1H), 3,94(s, 3H), 3,40(d, 1H), 2,47(s, 3H), 2,08(m, 2H), 1,34(t, 3H), 1,04(t, 3H)
Masse : M+H 315

Eksempel 22

10 ***t*-Butyl-(3*S*)-3-([3-(1,3-dimetyl-1*H*-indol-2-yl)-5-etyl-4,5-dihydro-5-isoksazoly]karbonyl)amino)-4-okso-5-(2,3,5,6-tetrafluorfenoksy)pentanoat (Ik)**

Forbindelsene av Mellomprodukter 17 og 10 ble omsatt i henhold til den samme fremgangsmåte som Mellomprodukt 4 og Eksempel 1, hvilket ga tittelforbindelsen.

15 ¹H-NMR(400MHz, CDCl₃) δ 7,85-7,79(m, 1H), 7,57(m, 1H), 7,37-7,26(m, 2H), 7,13(m, 1H), 6,75-6,49(m, 1H), 5,12-4,90(m,3H), 3,95(to d,1H), 3,89 (to s,3H), 3,45(to d ,1H), 3,03-2,79(m, 2H), 2,44(to s, 3H), 2,22(m, 1H), 2,01(m, 1H), 1,58 & 1,37(to s, 9H), 1,05(to t, 3H)

20

Eksempel 23

(3*S*)-3-([3-(1,3-dimetyl-1*H*-indol-2-yl)-5-etyl-4,5-dihydro-5-isoksazoly]karbonyl)amino)-4-okso-5-(2,3,5,6-tetrafluorfenoksy)pentankarboksytsyre (III)

25 Forbindelsen fra Eksempel 22 ble omsatt i henhold til den samme fremgangsmåte som Eksempel 2, hvilket ga tittelforbindelsen.

¹H-NMR(400MHz, DMSO-d₆) δ 8,67(br, 1H), 7,61-7,43(m, 3H), 7,27(m, 1H), 7,08(m, 1H), 5,20(br, 2H), 4,83(m, 1H), 3,84(to s,3H), 3,76(to d, 1H), 3,59(to d ,1H), 2,91-2,60(m, 2H), 2,50(to s, 3H), 2,07-1,91(m, 2H), 0,95(to t, 3H)

30

Eksempel 24

***t*-Butyl-3-([3-(1,3-dimetyl-1*H*-indol-2-yl)-5-etyl-4,5-dihydro-5-isoksazoly]karbonyl)amino)-5-fluor-4-oksopentanoat (II)**

35 Forbindelsen i Mellomprodukt 17 og *t*-butyl-3-amino-5-fluor-4-hydroksypentanoat ble omsatt i henhold til den samme fremgangsmåte som Mellomprodukt 4 og Eksempel 1, hvilket ga tittelforbindelsen.

¹H-NMR(400MHz, CDCl₃) δ 7,79(m, 1H), 7,60(m, 1H), 7,32(m, 2H),
40 7,13(m, 1H), 5,20-4,90(m,3H), 3,97-3,89(m, 4H), 3,46(to d, 1H), 3,03-2,77(m, 2H), 2,21(m, 1H), 2,01(m, 1H), 1,46 & 1,38(to s, 9H), 1,05(to t, 3H)

Eksempel 25

3-([3-(1,3-Dimetyl-1*H*-indol-2-yl)-5-etyl-4,5-dihydro-5-isoksazolyl]karbonyl)amino)-5-fluor-4-oksopentankarboksytsyre (Imm)

Forbindelsen fra Eksempel 24 ble omsatt i henhold til den samme fremgangsmåte som Eksempel 2, hvilket ga tittelforbindelsen.

¹H-NMR(400MHz, DMSO-d₆) δ 8,68(br, 1H), 7,60(m, 1H), 7,45(m, 1H), 7,26(m, 1H), 7,07(m, 1H), 5,20(br, 2H), 4,81(m, 1H), 3,84(to s, 3H), 3,76 (to d, 1H), 3,59(to d, 1H), 2,94-2,59(m, 2H), 2,38(to s, 3H), 2,07-1,91 (m, 2H), 0,95(to t, 3H)

Masse : M+H 418

Mellomprodukt 18

Etyl-5-etyl-3-(1-naftylmetyl)-4,5-dihydro-5-isoksazolkarboksylat (VIj)

1-Naftylacetaldehyd og etyl-2-etylakrylat ble omsatt i henhold til den samme fremgangsmåte som Mellomprodukter 1, 2, og 3, hvilket ga tittelforbindelsen.

¹H-NMR(500MHz, CDCl₃) δ 8,1-8,0(d, J = 8Hz, 1H), 7,8(d, J = 7,6Hz, 1H), 7,8-7,7(d, J = 8Hz, 1H), 7,5-7,4(m, 2H), 7,4-7,3(m, 2H), 4,1-4,0(m, 4H), 3,1(d, J = 17,6Hz, 1H), 2,6(d, J = 17,6Hz, 1H), 1,8-1,7(m, 2H), 1,2(t, 3H), 0,7(t, 3H)

Eksempel 26

***t*-Butyl-(3*S*)-3-([5-etyl-3-(1-naftylmetyl)-4,5-dihydro-5-isoksazolyl]karbonyl)amino)-4-okso-5-(2,3,5,6-tetrafluorfenoksy)pentanoat (Im)**

Forbindelsene av Mellomprodukter 18 og 10 ble omsatt i henhold til den samme fremgangsmåte som Mellomprodukt 4 og Eksempel 1, hvilket ga tittelforbindelsen.

¹H-NMR(400MHz, CDCl₃) δ 8,0(m, 1H), 7,8(m, 1H), 7,8(m, 1H), 7,7(m, 1H), 7,5(m, 2H), 7,4-7,3(m, 2H), 6,7(m, 1H), 5,0-4,9(m, 2H), 4,9-4,8(m, 1H), 4,2-4,0(m, 2H), 3,1(dd, J = 24,8Hz, 1H), 2,9-2,6(m, 3H), 1,9(m, 1H), 1,7(m, 1H), 1,4(to s, 9H), 0,8(m, 3H)

Eksempel 27

(3*S*)-3-([5-etyl-3-(1-naftylmetyl)-4,5-dihydro-5-isoksazolyl]karbonyl)amino)-4-okso-5-(2,3,5,6-tetrafluorfenoksy)pentankarboksytsyre (Inn)

Forbindelsen fra Eksempel 26 ble omsatt i henhold til den samme fremgangsmåte som Eksempel 2, hvilket ga tittelforbindelsen.

$^1\text{H-NMR}$ (400MHz, DMSO- d_6) δ 12,3(br, 1H), 8,4(br, 1H), 8,0(m, 1H), 7,9(m, 1H), 7,8(m, 1H), 7,5-7,4(m, 5H), 5,0(br, 2H), 4,7(m, 1H), 4,0(s, 2H), 3,3(m, 1H), 3,1(m, 1H), 2,8(m, 2H), 2,5(m, 1H), 1,8(m, 1H), 1,7(m, 1H), 0,8(m, 3H)
MS $[\text{M}+\text{H}]^+$ 561

5

Eksempel 28

(3S)-5-(*t*-butoksy)-3-[(5-etyl-3-[2-(1-naftyl)etyl]-4,5-dihydro-5-isoksazolyl}karbonyl)amino]-2,5-dioksopentyl 2,6-diklorbensoat (I)

1-Naftylpropionaldehyd og forbindelsen av Mellomprodukt 6 ble omsatt i henhold til den samme fremgangsmåte som Mellomprodukter 1, 2, 3, og 4, og Eksempel 1, hvilket ga tittelforbindelsen.

$^1\text{H-NMR}$ (400MHz, CDCl_3) δ 8,00(d, 1H), 7,85(m, 1H), 7,76(m, 2H), 7,57-7,28(m, 7H), 7,34-7,27(m, 3H), 5,20-5,05(m, 2H), 4,94 & 4,88(to m, 1H), 3,39-3,27(m, 3H), 2,97-2,72(m, 5H), 2,07(m, 1H), 1,86(m, 1H), 1,46 & 1,45(to s, 9H), 1,00 & 0,96(to t, 3H)

15

Eksempel 29

(3S)-5-[(2,6-diklorbensoyl)oksy]-3-[(5-etyl-3-[2-(1-naftyl)etyl]-4,5-dihydro-5-isoksazolyl}karbonyl)amino]-4-oksopentankarboksylsyre (Ioo)

20

Forbindelsen fra Eksempel 28 ble omsatt i henhold til den samme fremgangsmåte som Eksempel 2, hvilket ga tittelforbindelsen.

$^1\text{H-NMR}$ (400MHz, DMSO- d_6) δ 8,45(bd, 1H), 8,06(d, 1H), 7,90(d, 1H), 7,77(d, 1H), 7,60-7,37(m, 7H), 5,21-5,03(m, 2H), 4,73(m, 1H), 3,06(m, 2H), 2,65(bd, 4H), 1,91 & 1,74(to m, 2H), 0,84(m, 3H)

25

Mellomprodukt 19

Etyl-5-etyl-3-[(1-naftyl)oksy]metyl-4,5-dihydro-5-isoksazolkarboksylat (VII)

30

2-Nitroetanolpyranyl-derivat (se *Synthesis*, 1993, 12, 1206-1208) og etyl-2-etyllakrylat ble omsatt, og det resulterende produkt ble avbeskyttet, hvilket ga etyl-5-etyl-(3-hydroksymetyl)-4,5-dihydro-5-isoksazolkarboksylat (23%). Denne forbindelsen ble underkastet bromering (CBr_4 , PPh_3 , 94%) og deretter omsatt med 1-naftol (NaH , DMF, 82%), hvilket ga tittelforbindelsen.

35

$^1\text{H-NMR}$ (500MHz, CDCl_3) δ 8,20(m, 1H), 7,81(d, 1H), 7,55-7,42(m, 3H), 7,36(m, 1H), 6,88(d, 1H), 5,01(dd, 2H), 4,22(m, 2H), 3,61(d, 1H), 3,07(d, 1H), 1,97(m, 2H), 1,27(t, 3H), 0,93(t, 3H)

40

Eksempel 30

(3S)-3-[(5-Etyl-3-[(1-naftyloksi)metyl]-4,5-dihydro-5-isoksazolyl)karbonyl]amino]-4-okso-5-(2,3,5,6-tetrafluorfenoksi)pentankarboksytsyre (Ipp)

5 Forbindelsene av Mellomprodukter 19 og 10 ble omsatt i henhold til den samme fremgangsmåte som Mellomprodukt 4 og Eksempler 1 og 2, hvilket ga tittelforbindelsen.

¹H-NMR(400MHz, DMSO-d₆) δ 8,51(br, 1H), 8,13(m, 1H), 7,87(m, 1H),
10 7,54-7,38(m, 5H), 7,02(m, 1H), 5,18-4,97(m, 4H), 4,71(m, 1H), 3,58(to d, 1H), 3,21(to d, 1H), 2,68(m, 2H), 1,97(m, 1H), 1,81(m, 1H), 0,86(to t, 3H)

Masse : M+H 577

Eksempel 31

15 **(3S)-3-[(3-[(4-Klor-1-naftyl)oksi)metyl]-5-etyl-4,5-dihydro-5-isoksazolyl)karbonyl]amino]-4-okso-5-(2,3,5,6-tetrafluorfenoksi)pentankarboksytsyre (Iqq)**

20 Bromderivatet oppnådd som et mellomprodukt under fremgangsmåten i Mellomprodukt 19 og 4-klor-1-naftol ble omsatt i henhold til den samme fremgangsmåte som Mellomprodukt 19, hvilket ga etyl-5-etyl-3-[(4-klor-1-naftyloksi)metyl]-4,5-dihydro-5-isoksazolkarboksylat, som deretter ble omsatt i henhold til den samme fremgangsmåte som Mellomprodukt 4 og Eksempler 1 og 2, hvilket ga tittelforbindelsen.

25 ¹H-NMR(400MHz, DMSO-d₆) δ 8,65(m, 1H), 8,24-8,09(m, 2H), 7,78-7,35(m, 4H), 7,06(m, 1H), 5,17-5,07(m, 4H), 4,82-4,69(m, 1H), 3,45(to d, 1H), 3,23(to d, 1H), 2,83-2,52(m, 2H), 1,96-1,79(m, 2H), 0,86(to t, 3H)

Masse : M+H 611

30 **Mellomprodukt 20**

tert-Butyl-(3S)-3-amino-4-hydroksybutanoat

Til N-bensyloksykarbonyl-β-t-butylaspartinsyre (3,0 g, 9,28 mmol) og NMM (1,12 ml, 1,1 Ekv.) sattes tørt tetrahydrofuran (20 ml) under nitrogenatmosfære. Reaksjonsløsningen ble holdt på 0°C. Isobutylklorformiat (1,26 ml, 1,05 Ekv.) ble
35 tilsatt, og blandingen ble rørt i omtrent 40 minutter. Således oppnådd oppslemming ble filtrert under nitrogen, og den resulterende løsning ble satt til NaBH₄ (702 mg, 2,0 Ekv.) løsning [metanol (10 ml)-tørt tetrahydrofuran (20 ml)] ved -78°C. Den resulterende blanding ble langsomt oppvarmet til romtemperatur (to timer). Reaksjonen ble stoppet med eddiksyre (2,3 ml), og reaksjonsløsningen ble destillert
40 under redusert trykk å fjerne metanol. Resten ble ekstrahert med etylacetat (50 ml x 2), vasket med vann og vandig natriumkloridløsning, tørket (vannfritt Na₂SO₄),

inndampet under redusert trykk, og separert-renset ved kolonnekromatografi (etylacetat-heksan, 1:5), hvilket ga en alkoholforbindelse (2,52g, utbytte 88%).

5 Bensyloksykarbonyl-gruppen i forbindelsen oppnådd ovenfor ble fjernet (Pd/C) under hydrogenballong i en time, hvilket ga tittelforbindelsen (Utbytte 100%).

$^1\text{H-NMR}$ (400MHz, DMSO- d_6) δ 4,60(bs, 1H), 3,21(m, 2H), 2,96(m, 1H), 2,41(dd, 1H), 2,03(dd, 1H), 1,40(s, 9H)

10 Mellomprodukt 21

***tert*-Butyl-(3*S*)-4-hydroksy-3-({[(5*R*)-5-isopropyl-3-(1-isokinolinyl)-4,5-dihydro-5-isoksazolyl]karbonyl}amino)butanoat (XVI)**

Forbindelsen i Mellomprodukt 14 ble omsatt i henhold til den samme fremgangsmåte som Mellomprodukt 4, hvilket ga et aktivt karboksylsyre-derivat (VIIIf). En blanding av dette aktive karboksylsyre-derivat (VIIIf, 224 mg, 0,79 mmol), aminoalkohol-derivatet fremstilt i Mellomprodukt 20 (166 mg, 1,2 Ekv.) og HATU (390 mg, 1,3 Ekv.) ble avkjølt til 0°C, trietylamin (0,33 ml, 3,0 Ekv.) ble tilsatt i et løsningsmiddel av DMF(5 ml), og den resulterende blanding ble omsatt i to timer. Løsningsmiddelet ble destillert under redusert trykk, og resten ble ekstrahert med etylacetat (50 ml x 2), vasket med vann, vandig natriumbikarbonatløsning, og vandig natriumkloridløsning, tørket (vannfritt Na₂SO₄), inndampet under redusert trykk og renset ved kolonnekromatografi (60-70% EA/Heks), hvilket ga tittelforbindelsen (330 mg, utbytte 95%).

25 $^1\text{H-NMR}$ (400MHz, CDCl₃) δ 9,16(d, 1H), 8,55(d, 1H), 7,85(d, 1H), 7,73-7,70(m, 3H), 7,56(NH, d, 1H), 4,26(m, 1H), 4,12(d, 1H), 4,04(d, 1H), 3,79(d, 1H), 3,75(t, 2H), 2,94(bs, 1H), 2,57(m, 2H), 2,41(m, 1H), 1,10 & 1,07(to d, 6H)

Eksempel 32

30 **6-(*tert*-Butyl)-1-etyl(2*E*,4*S*)-4-({[(5*R*)-5-isopropyl-3-(1-isokinolinyl)-4,5-dihydro-5-isoksazolyl]karbonyl}amino)-2-heksendioat (Iq)**

Til forbindelsen i Mellomprodukt 21 (107 mg, 0,24 mmol) og Dess-Martin reagens (153mg, 1,5 Ekv.) sattes tørt diklormetan (4 ml), og blandingen ble rørt i en time ved romtemperatur og inndampet under redusert trykk. Til resten sattes tørt THF (3 ml) og (karboetoksymetylen)trifenylfosforan (108 mg, 1,3 Ekv.), og blandingen ble tilbakeløpskokt i to timer. Reaksjonsblandingen ble ekstrahert med etylacetat (20 ml x 2), vasket med vann, mettet vandig natriumbikarbonatløsning og vandig natriumkloridløsning, tørket (vannfritt Na₂SO₄), inndampet under redusert trykk, og preliminært renset ved prep-kromatografi (40% etylacetat-heksan), hvilket ga tittelforbindelsen (98 mg, 80%) med diastereomerforhold på 3:1.

¹H-NMR(500MHz, CDCl₃) av hovedisomer δ 9,15(d, 1H), 8,54(d, 1H), 7,86(d, 1H), 7,74- 7,62(m, 4H), 6,93(dd, 1H), 6,00(dd, 1H), 4,98(m, 1H), 4,19(qt, 2H), 4,02(d, 1H), 3,81(d, 1H), 2,58(m, 2H), 2,43(m, 1H), 1,36(s, 9H), 1,27(t, 3H), 1,07 & 1,06(to d, 6H)

5

Eksempel 33

(3*S*,4*E*)-6-etoksy-3-([(5*R*)-5-isopropyl-3-(1-isokinolinyl)-4,5-dihydro-5-isoksazolyl]karbonyl}amino)-6-okso-4-heksenkarboksylsyre (Irr)

Forbindelsen fra Eksempel 32 ble omsatt i henhold til den samme fremgangsmåte som Eksempel 2, hvilket ga tittelforbindelsen.

¹H-NMR(500MHz, MeOD-d₃) av hovedisomer δ 9,04(d, 1H), 8,61(d, 1H), 8,52(d, 1H), 7,95(d, 1H), 7,81-7,68(m, 3H), 6,94(dd, 1H), 6,00(dd, 1H), 5,01(m, 1H), 4,17(qt, 2H), 3,90(d, 1H), 3,82(d, 1H), 2,71(d, 2H), 2,39(septett, 1H), 1,26(t, 3H), 1,07 & 1,06(to d, 6H)

15

MS : M + H 454

Eksempel 34

***tert*-Butyl-(3*S*,4*E*)-3-([(5*R*)-5-isopropyl-3-(1-isokinolinyl)-4,5-dihydro-5-isoksazolyl]karbonyl}amino)-5-(metylsulfonyl)-4-pentenoat (Ir)**

20

Vannfritt diklormetan (4 ml) ble satt til forbindelsen fra Eksempel 21 (109 mg, 0,25 mmol) og Dess-Martin-reagens (157 mg, 1,5 Ekv.), og blandingen ble rørt i en time ved romtemperatur og inndampet under redusert trykk. Reaksjonen ble stoppet med isopropylalkohol (0,5 ml). Det faste stoffet ble fjernet ved filtrering under redusert trykk ved bruk av Celite. Filtratet ble ekstrahert med etylacetat (20 ml x 2), vasket med vann, mettet vandig natriumbikarbonatløsning og vandig natriumkloridløsning, tørket (vannfritt Na₂SO₄) og inndampet under redusert trykk, hvilket ga en aldehydforbindelse (540mg, utbytte 99%).

25

Dietylmetylsulfonometanfosfonat (113 mg, 2,0 Ekv., *Synthesis*, **1969**, 170) ble oppløst i THF (3 ml), NaH (60% i mineralolje, 20 mg, 2,0 Ekv.) og den ovenfor oppnådde aldehydforbindelse ble tilsatt, og blandingen ble tilbaketilbakekokt i to timer. Etter ekstraksjon med etylacetat (20 ml x 2) ble ekstraktet vasket med vann, mettet vandig natriumbikarbonatløsning og vandig natriumkloridløsning, tørket (vannfritt Na₂SO₄), inndampet under redusert trykk og rensset ved prep-kromatografi (60% etylacetat/heksan), hvilket ga tittelforbindelsen (52 mg, 41%) med diastereomeren ratio av 4:1.

30

35

¹H-NMR(500MHz, CDCl₃) av hoveddiastereomer δ 9,14(d, 1H), 8,55(d, 1H), 7,86(d, 1H), 7,76-7,65(m, 4H), 6,92(dd, 1H), 6,57(dd, 1H), 5,03(m, 1H), 4,02(d, 1H), 3,81(d, 1H), 2,94(s, 3H), 2,61(m, 2H), 2,41(septett, 1H), 1,36(s, 9H), 1,10 & 1,08(to sett av d, 6H)

40

Eksempel 35

(3*S*,4*E*)-3-([(5*R*)-5-isopropyl-3-(1-isokinoliny)-4,5-dihydro-5-isoksazoly]karbonyl}amino)-5-(metylsulfonyl)-4-pentenkarboksylsyre (Iss)

5 Forbindelsen fra Eksempel 34 ble omsatt i henhold til den samme fremgangsmåte som Eksempel 2, hvilket ga tittelforbindelsen.

¹H-NMR(500MHz, MeOD-d₃) av hovedisomer δ 9,04(d, 1H), 8,52(d, 1H), 7,95(d, 1H), 7,82-7,69(m, 3H), 6,90(dd, 1H), 6,71(dd, 1H), 5,06(m, 1H), 3,86(m, 2H), 2,98(s, 3H), 2,76(d, 2H), 2,39(m, 1H), 1,08 & 1,06(to sett av d, 6H)
10 MS : M + H 460

Mellomproduktmetode for Eksempler 36-42

Forbindelsene som ble oppnådd ved omsetning av (iso)kinolinaldehyd (eller
15 1- eller 2-naftaldehyd) og etyl-2-etyl-akrylat (eller etyl-2-propyl-akrylat) i henhold til den samme fremgangsmåte som Mellomprodukter 1, 2 og 3 (eller Mellomprodukter 1 og 16) ble rensset, om nødvendig, ved prep-HPLC ved bruk av chiral OD-kolonne for å isolere aktive chirale isomerer. De isolerte aktive chirale isomerer eller inaktive chirale isomerer ble hydrolysert i henhold til den samme
20 fremgangsmåte som Mellomprodukt 4, og de resulterende forbindelser ble omsatt med t-butyl-3-amino-5-fluor-4-hydroksypentanoat i henhold til den samme fremgangsmåte som Eksempler 1 og 2, hvilket ga tittelforbindelsene i de følgende Eksempler 36-42.

Eksempel 36

5-Fluor-3-([(5*S*)-3-(1-isokinoliny)-5-propyl-4,5-dihydro-5-isoksazoly]karbonyl}amino)-4-oksopentankarboksylsyre (Itt)

¹H-NMR(500MHz, DMSO-d₆) δ 9,02(t, 1H), 8,61(m, 2H), 8,08(d, 1H),
30 7,96(m, 1H), 7,85(t, 1H), 7,78(m, 1H), 5,05(bs, 2H), 4,73(m, 1H), 3,97-3,92(dd, 1H), 3,70-3,65(to d, 1H), 2,90-2,70(to m, 2H), 2,03(m, 1H), 1,91(m, 1H), 1,48(m, 1H), 1,32(m, 1H), 0,93(m, 3H)
Masse : M+H 416

Eksempel 37

(3-([(5*S*)-5-etyl-3-(1-naftyl)-4,5-dihydro-5-isoksazoly]karbonyl}amino)-5-fluor-4-oksopentankarboksylsyre (Iuu)

¹H-NMR(500MHz, DMSO-d₆) δ 8,84(s, 1H), 8,59(bs, 1H), 8,02(m, 2H),
40 7,75(s, 1H), 7,60(m, 3H), 5,01(bs, 2H), 4,73(m, 1H), 3,87-3,82(dd, 1H), 3,70-3,65(to d, 1H), 2,82-2,73(to m, 2H), 2,05(m, 1H), 1,95(m, 1H), 0,96(m, 3H)
Masse : M+H 401

Eksempel 38

3-({[(5*S*)-5-etyl-3-(2-kinolinyl)-4,5-dihydro-5-isoksazolyl]karbonyl}amino)-5-fluor-4-oksopentankarboksylsyre) (Ivv)

5

¹H-NMR(500MHz, DMSO-d₆) δ 8,61(dd, 1H), 8,41(m, 1H), 8,02(m, 3H), 7,79(t, 1H), 7,65(t, 1H), 5,22-5,06(m, 1H), 4,72(m, 1H), 4,49-4,28(m, 1H), 3,84(m, 1H), 3,54(m, 1H), 2,99-2,54(to m, 2H), 2,01(m, 1H), 1,91(m, 1H), 0,91(m, 3H)

Masse : M+H 402

10

Eksempel 39

3-({[(5*R*)-5-etyl-3-(3-isokinolinyl)-4,5-dihydro-5-isoksazolyl]karbonyl}amino)-5-fluor-4-oksopentankarboksylsyre) (Iww)

15

¹H-NMR(400MHz, CDCl₃) δ (9,25 & 9,16(to s, 1H), 8,08~7,64(m, 5H), 4,90-4,84(m, 1H), 4,79-4,54(m, 2H), 4,01-3,93(to d, 1H), 3,54(d, 1H), 3,03-2,87(m, 2H), 2,27-2,19 & 2,10-2,01(to m, 2H), 1,10-1,06(m, 3H)

Masse : M+H 402

20

Eksempel 40

3-({[5-etyl-3-(8-kinolinyl)-4,5-dihydro-5-isoksazolyl]karbonyl}amino)-5-fluor-4-oksopentankarboksylsyre) (Ixx)

25

¹H-NMR(500MHz, CDCl₃) δ 8,98 & 8,93(to m, 1H), 8,56-8,21(m, 1H), 8,03-7,94(m, 2H), 7,73(bs, 1H), 7,60(m, 1H), 7,53-7,48(to m, 1H), 4,94-4,64(m, 3H), 4,27-4,22(to d, 1H), 3,77(d, 1H), 3,07 & 2,92(to m, 2H), 2,31-2,22(m, 1H), 2,12-2,05(m, 1H), 1,10(t, 3H)

Masse : M+H 402

30

Eksempel 41

3-({[5-etyl-3-(3-kinolinyl)-4,5-dihydro-5-isoksazolyl]karbonyl}amino)-5-fluor-4-oksopentankarboksylsyre) (Iyy)

35

¹H-NMR(400MHz, CDCl₃) δ 9,32 & 9,25(to d, 1H), 8,16-8,03(m, 2H), 7,83-7,73(m, 3H), 7,62-7,55(m, 1H), 4,95-4,76(m, 3H), 3,86(to d, 1H), 3,45-3,39(to d, 1H), 3,17-3,01(to m, 1H), 2,90-2,82(m, 1H), 2,27-2,20(m, 1H), 2,09-2,00(m, 1H), 1,10-1,05(m, 3H)

Masse : M+H 402

40

Eksempel 42

5-Fluor-3-([(5*R*)-5-isopropyl-3-(2-kinolinyl)-4,5-dihydro-5-isoksazolyl]karbonyl)amino)-4-oksopentankarboksytsyre (Izz)

- 5 $^1\text{H-NMR}$ (400MHz, CDCl_3) δ 8,24(m, 1H), 8,14(m, 1H), 8,04(d, 1H), 7,88(d, 1H), 7,79(m, 1H), 7,65(m, 1H), 7,51(bs, 1H), 5,13-4,35(m, 3H), 4,05-4,00(to d, 1H), 3,73(d, 1H), 3,05-2,82(m, 2H), 2,42(m, 1H), 1,10(m, 6H)
Masse : M+H 416

10 **Mellomproduktmetode for Eksempler 43-48**

- Forbindelsene oppnådd ved omsetning av et aromatisk aldehyd (Bioorg. Med. Chem. Lett., 1996, 6, s. 2173, J. Org. Chem., 1978, 43, 1372) og etyl-2-etylakrylat (eller etyl-2-isopropylakrylat) i henhold til den samme fremgangsmåte som Mellomprodukter 1, 2 og 3 (eller Mellomprodukter 1 og 16) ble rensset, om
15 nødvendig, ved prep-HPLC ved bruk av chiral OD-kolonne for å isolere aktive chirale isomerer. De isolerte aktive chirale isomerer eller inaktive chirale isomerer ble hydrolysert i henhold til den samme fremgangsmåte som Mellomprodukt 4, og de resulterende forbindelser ble omsatt med t-butyl-3-amino-5-fluor-4-hydroksypentanoat i henhold til den samme fremgangsmåte som Eksempler 1 og 2,
20 hvilket ga tittelforbindelsene i de følgende Eksempler 43-48.

Eksempel 43

3-([(5-Etyl-3-(2-isopropylfenyl)-4,5-dihydro-5-isoksazolyl]karbonyl)amino)-5-fluor-4-oksopentankarboksytsyre (Iaa1)

- 25 $^1\text{H-NMR}$ (500MHz, DMSO-d_6) δ 8,53(bs, 1H), 7,40(m, 2H), 7,32(m, 1H), 7,25(m, 1H), 5,02(bs, 2H), 4,72(m, 1H), 3,60-3,54(to d, 1H), 3,46-3,43(to d, 1H), 3,40(m, 1H), 2,78-2,60(to m, 2H), 1,95(m, 1H), 1,85(m, 1H), 1,14(s, 6H), 0,88(m, 3H)
30 Masse : M+H 393

Eksempel 44

3-[(3-[3-(*tert*-Butyl)fenyl]-5-etyl-4,5-dihydro-5-isoksazolyl]karbonyl)amino]-5-fluor-4-oksopentankarboksytsyre (Iaa2)

- 35 $^1\text{H-NMR}$ (400MHz, DMSO-d_6) δ 8,56(dd, 1H), 7,67(s, 1H), 7,48(m, 1H), 7,38(d, 2H), 5,24-5,12(q, 1H), 4,76-4,69(m, 1H), 4,59-4,26(m, 1H), 3,68(m, 1H), 3,49-3,43(to d, 1H), 2,96-2,56(to m, 2H), 1,98(m, 1H), 1,85(m, 1H), 1,29(s, 9H), 0,89(d, 3H)
40 Masse : M+H 407

Eksempel 45

3-[(3-[4-(*tert*-Butyl)fenyl]-5-etyl-4,5-dihydro-5-isoksazolyl)karbonyl]amino]-5-fluor-4-oksopentankarboksylysyre (Iaa3)

5 $^1\text{H-NMR}$ (500MHz, DMSO- d_6) δ 8,52(bs, 1H), 7,58(m, 2H), 7,43(dd, 2H), 5,10(bs, 2H), 4,71-4,65(m, 1H), 3,65-3,59(to d, 1H), 3,40-3,35(to d, 1H), 2,86-2,60(to m, 2H), 1,94(m, 1H), 1,82(m, 1H), 1,24(s, 9H), 0,86(m, 3H)
Masse : M+H 407

10 **Eksempel 46**

5-Fluor-3-([(5*R*)-5-isopropyl-3-(2-isopropylfenyl)-4,5-dihydro-5-isoksazolyl]karbonyl)amino)-4-oksopentankarboksylysyre (Iaa4)

15 $^1\text{H-NMR}$ (500MHz, CDCl_3) δ 7,60-7,53(m, 1H), 7,41(m, 2H), 7,27-7,23(m, 2H), 5,20-4,91(m, 1H), 4,71(m, 1H), 4,54-4,42(m, 1H), 3,69-3,64(to d, 1H), 3,45-3,38(m, 2H), 3,12-2,77(m, 2H), 2,32(m, 1H), 1,22(d, 6H), 1,05(d, 6H)
Masse : M+H 407

Eksempel 47

20 **3-[(3-[(5*R*)-3-[3-(*tert*-butyl)fenyl]-5-isopropyl-4,5-dihydro-5-isoksazolyl)karbonyl]amino]-5-fluor-4-oksopentankarboksylysyre (Iaa5)**

25 $^1\text{H-NMR}$ (500MHz, CDCl_3) δ 7,69(s, 1H), 7,48(d, 1H), 7,41(d, 1H), 7,35(t, 1H), 4,74-4,50(m, 3H), 3,69(d, 1H), 3,40(d, 1H), 3,06-2,77(m, 2H), 2,32(m, 1H), 1,33(s, 9H), 1,04(m, 6H)
Masse : M+H 421

Eksempel 48

30 **3-{[(3-[1,1'-bifenyl]-3-yl-5-isopropyl-4,5-dihydro-5-isoksazolyl)karbonyl]amino}-5-fluor-4-oksopentankarboksylysyre (Iaa6)**

3-Bifenylkarboksaldehyd (se Syntese, 2003, 337) ble anvendt som en utgangsmateriale, hvilket ga tittelforbindelsen.

35 $^1\text{H-NMR}$ (500MHz, DMSO- d_6) δ 8,42(bs, 1H), 7,87(d, 1H), 7,73-7,69(m, 4H), 7,52(m, 1H), 7,45(m, 2H), 7,38(m, 1H), 5,03(bs, 2H), 4,63(m, 1H), 3,73-3,57(m, 2H), 2,67-2,63(to m, 2H), 2,22(m, 1H), 0,89(m, 6H)
Masse : M+H 441

Mellomproduktmetode for Eksempler 49-59

40 4-Substituerte pyridin-2-karboksaldehyder ble fremstilt ved en metode kjent fra US 6043248, JOC 1982, 47, s. 4315, og de ble omsatt i henhold til den samme fremgangsmåte som Mellomprodukter 1, 2 og 3 (eller Mellomprodukter 1 og 16).

De resulterende forbindelser ble rensset, om nødvendig, ved prep-HPLC ved bruk av chiral OD-kolonne for å isolere aktive chirale isomerer. De isolerte aktive chirale isomerer eller inaktive chirale isomerer ble hydrolysert i henhold til den samme fremgangsmåte som Mellomprodukt 4, og de resulterende forbindelser ble omsatt med t-butyl-3-amino-5-fluor-4-hydroksypentanoat i henhold til den samme fremgangsmåte som Eksempler 1 og 2, hvilket ga tittelforbindelsen i de følgende Eksempler 49-59.

Eksempel 49

10 **3-([5-Etyl-3-(2-pyridinyl)-4,5-dihydro-5-isoksazolyl]karbonyl)amino)-5-fluor-4-oksopentankarboksylsyre (Iaa7)**

15 $^1\text{H-NMR}$ (500MHz, DMSO- d_6) δ 12,41(bs, 1H), 8,61(s, 1H), 8,59-8,53(dd, 1H), 7,87(m, 1H), 7,44(m, 1H), 5,19-5,04(to d, 1H), 4,70(m, 1H), 4,45-4,27(m, 1H), 3,67(m, 1H), 3,42(m, 1H), 2,95-2,53(to m, 2H), 1,96(m, 1H), 1,86(m, 1H), 0,85(m, 3H)

Masse : M+H 352

Eksempel 50

20 **3-[(3-[4-(*tert*-Butyl)-2-pyridinyl]-5-etyl-4,5-dihydro-5-isoksazolyl]karbonyl)amino]-5-fluor-4-oksopentankarboksylsyre (Iaa8)**

25 $^1\text{H-NMR}$ (400MHz, CDCl_3) δ 8,58(d, 1H), 7,90(s, 1H), 7,65(bs, 1H), 7,45-7,39(m, 1H), 4,98-4,68(m, 3H), 3,92 & 3,88(to d, 1H), 3,52 & 3,47(to d, 1H), 3,05-2,86(m, 2H), 2,23-2,18(m, 1H), 2,08-2,00(m, 1H), 1,38(s, 9H), 1,05(t, 3H)

Masse : M+H 408

Eksempel 51

30 **3-[(5*R*)-3-[4-(*tert*-butyl)-2-pyridinyl]-5-isopropyl-4,5-dihydro-5-isoksazolyl]karbonyl)amino]-5-fluor-4-oksopentankarboksylsyre (Iaa9)**

35 $^1\text{H-NMR}$ (400MHz, CDCl_3) δ 8,58(d, 1H), 7,88(d, 1H), 7,61(bs, 1H), 7,43(m, 1H), 4,84(m, 1H), 4,60(bs, 2H), 3,89-3,82(to d, 1H), 3,60-3,55(to d, 1H), 3,04-2,86(m, 2H), 2,38(m, 1H), 1,38(s, 9H), 1,07(m, 6H)

Masse : M+H 422

Eksempel 52

3-([5-Etyl-3-(4-isobutyl-2-pyridinyl)-4,5-dihydro-5-isoksazolyl]karbonyl}amino)-5-fluor-4-oksopentankarboksylsyre (Iaa10)

- 5 $^1\text{H-NMR}(500\text{MHz, DMSO-}d_6) \delta$ 8,58-8,52(dd, 1H), 8,49(s, 1H), 7,68(s, 1H), 7,27(s, 1H), 5,19-5,04(m, 1H), 4,69(m, 1H), 4,46-4,29(m, 1H), 3,68(m, 1H), 3,41-3,37(dd, 1H), 2,93-2,46(m, 4H), 1,95-1,85(to m, 3H), 0,86-0,82(m, 9H)
Masse : M+H 408

10 **Eksempel 53**

3-([3-(4-Acetyl-2-pyridinyl)-5-etyl-4,5-dihydro-5-isoksazolyl]karbonyl}amino)-5-fluor-4-oksopentankarboksylsyre (Iaa11)

- 15 $^1\text{H-NMR}(500\text{MHz, CDCl}_3) \delta$ 8,79(d, 1H), 8,35(s, 1H), 7,76(d, 1H), 7,46(bs, 1H), 4,84-4,40(m, 3H), 3,90-3,85(to d, 1H), 3,51-3,46(to d, 1H), 3,04-2,84(m, 2H), 2,65(s, 3H), HHHkdkdk2,16(m, 1H), 2,02(m, 1H), 1,03(m, 3H)
Masse : M+H 394

Eksempel 54

- 20 **3-([3-(4-Syklopropyl-2-pyridinyl)-5-etyl-4,5-dihydro-5-isoksazolyl]karbonyl}amino)-5-fluor-4-oksopentankarboksylsyre (Iaa12)**

- 25 $^1\text{H-NMR}(500\text{MHz, DMSO-}d_6) \delta$ 12,39(bs, 1H), 8,41(t, 1H), 7,56(d, 1H), 7,12(m, 1H), 5,19-5,04(m, 1H), 4,72-4,66(m, 1H), 4,46-4,27(m, 1H), 3,69-3,63(m, 1H), 3,39-3,35(to d, 1H), 2,80-2,74(m, 1H), 2,63-2,52(m, 1H), 2,00-1,80(m, 3H), 1,06(m, 2H), 0,86-0,80(m, 5H)
Masse : M+H 392

Eksempel 55

- 30 **3-([3-(4-Syklopentyl-2-pyridinyl)-5-etyl-4,5-dihydro-5-isoksazolyl]karbonyl}amino)-5-fluor-4-oksopentankarboksylsyre (Iaa13)**

- 35 $^1\text{H-NMR}(500\text{MHz, CDCl}_3) \delta$ 8,50(d, 1H), 7,67(m, 2H), 7,26(m, 1H), 4,88-4,82(m, 1H), 4,65(bs, 2H), 3,88-3,81(to d, 1H), 3,45-3,41(to d, 1H), 3,05(m, 1H), 2,96-2,80(m, 2H), 2,20-2,12(m, 3H), 2,02-1,96(m, 1H), 1,83(m, 2H), 1,72(m, 2H), 1,60(m, 2H), 1,01(t, 3H)
Masse : M+H 420

Eksempel 56

3-({[(5*R*)-3-(4-syklopentyl-2-pyridinyl)-5-isopropyl-4,5-dihydro-5-isoksazoly]karbonyl}amino)-5-fluor-4-oksopentankarboksylsyre (Iaa14)

5 $^1\text{H-NMR}$ (400MHz, CDCl_3) δ 8,58(m, 1H), 7,74(d, 1H), 7,63(bs, 1H), 7,38-7,32(dd, 1H), 4,88-4,81(m, 1H), 4,53(bs, 2H), 3,87-3,79(to d, 1H), 3,56-3,53(to d, 1H), 3,12-3,04(m, 1H), 3,02-2,85(m, 2H), 2,38(m, 1H), 2,16(m, 2H), 1,88(m, 2H), 1,78(m, 2H), 1,65(m, 2H), 1,07(m, 6H)

Masse : M+H 434

10

Eksempel 57

3-({[3-(4-Sykloheksyl-2-pyridinyl)-5-etyl-4,5-dihydro-5-isoksazoly]karbonyl}amino)-5-fluor-4-oksopentankarboksylsyre (Iaa15)

15 $^1\text{H-NMR}$ (400MHz, CDCl_3) δ 8,61(m, 1H), 7,75 (d, 1H), 7,64(bs, 1H), 7,39-7,33(dd, 1H), 4,86-4,53(to m, 3H), 3,87(t, 1H), 3,50-3,45(dd, 1H), 3,05-2,85(to m, 2H), 2,63(m, 1H), 2,22(m, 1H), 2,03(m, 1H), 1,93-1,80(to m, 5H), 1,44(m, 5H), 1,05(t, 3H)

Masse : M+H 434

20

Eksempel 58

3-({[5-Etyl-3-(5,6,7,8-tetrahydro-1-isokinolinyl)-4,5-dihydro-5-isoksazoly]karbonyl}amino)-5-fluor-4-oksopentankarboksylsyre (Iaa16)

25 $^1\text{H-NMR}$ (500MHz, DMSO-d_6) δ 8,60-8,53(dd, 1H), 8,30(d, 1H), 7,15(d, 1H), 5,20-5,05(m, 1H), 4,74-4,66(m, 1H), 4,45-4,25(m, 1H), 3,75-3,68(m, 1H), 3,47-3,41(m, 1H), 2,94-2,88(m, 2H), 2,80-2,72(m, 3H), 2,62-2,53(m, 1H), 1,99-1,93(m, 1H), 1,88-1,80(m, 1H), 1,71-1,69(m, 4H), 0,88-0,84(m, 3H)

Masse : M+H 406

30

Eksempel 59

5-Fluor-3-({[5-isopropyl-3-(4-fenyl-2-pyridinyl)-4,5-dihydro-5-isoksazoly]karbonyl}amino)-4-oksopentankarboksylsyre (Iaa17)

35 $^1\text{H-NMR}$ (400MHz, CDCl_3) δ 8,68(d, 1H), 8,14(s, 1H), 7,68(m, 1H), 7,58(m, 1H), 7,54-7,43(m, 5H), 4,86-4,60(m, 3H), 3,92-3,87(to d, 1H), 3,62(d, 1H), 3,09-2,86(m, 2H), 2,39(m, 1H), 1,11-1,06(m, 6H)

Masse : M+H 442

40

Mellomproduktmetode for Eksempler 60-63

(2*S*)-4-(*tert*-butoksy)-2-({[(5*R*)-5-isopropyl-3-(1-isokinolinyl)-4,5-dihydro-5-isoksazoly]karbonyl}amino)-4-oksobutankarboksylsyre [oppnådd ved koblings-

reaksjon av Forbindelse (VIIIf) med Asp(O-*t*-Bu)-OMe og hydrolyse] ble omsatt i henhold til den samme fremgangsmåte som Mellomprodukt 5, hvilket ga brommetylketonderivat (*tert*-butyl (3*S*)-5-brom-3-({[(5*R*)-5-isopropyl-3-(1-isokinolinyl)-4,5-dihydro-5-isoksazolyl]karbonyl} amino)-4-oksopentanoat). Dette
 5 brommetylketonderivat ble omsatt med difenylfosfinsyre i KF/DMF (se Mellomprodukt 5), hvilket ga difenylfosforyloksymetylketonderivat, som ble deretter omsatt i henhold til den samme fremgangsmåte som Eksempel 2, hvilket ga tittelforbindelsen (Forbindelse av Eksempel 60).

10 Forbindelsene i de følgende Eksempler 61-63 ble oppnådd fra 1-fenyl-3-(trifluormetyl)-1*H*-pyrazol-5-ol, 3-bensyl-4-hydroksy-2(5*H*)-furanon, eller isosmørsyre i henhold til den samme fremgangsmåte som ovenfor.

Eksempel 60

15 (3*S*)-5-[(difenylfosforyl)oksy]-3-({[(5*R*)-5-isopropyl-3-(1-isokinolinyl)-4,5-dihydro-5-isoksazolyl]karbonyl} amino)-4-oksopentankarboksytsyre (Iaa18)

¹H-NMR(500MHz, DMSO-*d*₆) δ 8,92(m, 1H), 8,58(m, 1H), 8,05(m, 1H), 7,94(m, 1H), 7,81(m, 1H), 7,75-7,72(m, 3H), 7,57(m, 3H), 7,49(m, 4H), 7,35(m, 2H), 4,90-4,65(to m, 3H), 3,79-3,75(to d, 1H), 3,69-3,67(to d, 1H), 2,65(to m, 2H),
 20 2,22(m, 1H), 0,84(m, 6H)

Masse : M+H 614

Eksempel 61

25 (3*S*)-3-({[(5*R*)-5-isopropyl-3-(1-isokinolinyl)-4,5-dihydro-5-isoksazolyl]karbonyl} amino)-4-okso-5-{{1-fenyl-3-(trifluormetyl)-1*H*-pyrazol-5-yl}oksy}pentankarboksytsyre (Iaa19)

¹H-NMR(500MHz, DMSO-*d*₆) δ 8,95(m, 1H), 8,83(d, 1H), 8,57(m, 1H), 8,03(d, 1H), 7,92(d, 1H), 7,80(m, 1H), 7,74(m, 1H), 7,65(d, 1H), 7,57(m, 1H), 7,51-7,34(m, 3H), 6,27(s, 1H), 5,29-5,15(m, 2H), 4,76(m, 1H), 3,92-3,88(m, 1H), 3,75-3,69(m, 1H), 2,84-2,60(m, 2H), 2,33(m, 1H), 0,96(m, 6H)

Masse : M+H 624

Eksempel 62

35 (3*S*)-5-[(4-bensyl-5-okso-2,5-dihydro-3-furanyl)oksy]-3-({[(5*R*)-5-isopropyl-3-(1-isokinolinyl)-4,5-dihydro-5-isoksazolyl]karbonyl} amino)-4-oksopentankarboksytsyre (Iaa20)

40 ¹H-NMR(500MHz, DMSO-*d*₆) δ 8,97(t, 1H), 8,58(d, 1H), 8,04(d, 1H), 7,92(d, 1H), 7,81(m, 1H), 7,73(m, 1H), 7,23-7,07(m, 6H), 7,51(m, 1H), 4,79-

4,65(m, 3H), 3,92-3,87(to d, 1H), 3,74-3,68(to d, 1H), 2,82-2,58(m, 2H), 2,31(m, 1H), 0,95(m, 6H)

Masse : M+H 586

5 **Eksempel 63**

(3S)-5-(isobutyryloksy)-3-([(5R)-5-isopropyl-3-(1-isokinolinyl)-4,5-dihydro-5-isoksazolyl]karbonyl}amino)-4-okso-5-heksenkarboksylsyre (Iaa21)

¹H-NMR(500MHz, DMSO-d₆) δ 12,39(bs, 1H), 8,96(t, 1H), 8,73(m, 1H),
10 8,58(dd, 1H), 8,04(d, 1H), 7,92(d, 1H), 7,81(t, 1H), 7,73(m, 1H), 4,78(m, 2H),
4,68(m, 1H), 3,87(t, 1H), 3,73-3,68(to d, 1H), 2,79-2,60(to m, 2H), 2,56(m, 1H),
2,31(m, 1H), 1,05(d, 3H), 0,95(m, 9H)

Masse : M+H 484

15 **Eksempel 64**

(3S)-3-([(5R)-5-isopropyl-3-(1-isokinolinyl)-4,5-dihydro-5-isoksazolyl]karbonyl}amino)-4-okso-5-heksenkarboksylsyre (Iaa22)

Weinreb-amid-derivat av (2S)-4-(tert-butoksy)-2-([(5R)-5-isopropyl-3-(1-isokinolinyl)-4,5-dihydro-5-isoksazolyl]karbonyl}amino)-4-oksobutankarboksylsyre
20 (kondensert derivat med N,O-dimetylhydroksylamin) og vinylmagnesiumbromid ble omsatt, og den resulterende forbindelse ble omsatt i henhold til den samme fremgangsmåte som Eksempel 2, hvilket ga tittelforbindelsen.

¹H-NMR(400MHz, DMSO-d₆) δ 12,27(bs, 1H), 8,95(t, 1H), 8,74-8,67(to d, 1H),
25 8,58(m, 1H), 8,04(d, 1H), 7,92(d, 1H), 7,83-7,72(m, 2H), 6,47(m, 1H), 6,22-6,11(to dd, 1H), 5,71-5,62(to dd, 1H), 4,77(m, 1H), 3,90-3,79(m, 1H), 3,72-3,64(m, 1H), 2,82(m, 1H), 2,62-2,49(m, 1H), 2,30(m, 1H), 0,94(m, 6H)

Masse : M+H 410

30 **Mellomprodukt 22**

***t*-Butyl-(3S)-3-amino-4-hydroksy-5-(2-pyridinyloksy)pentanoat (VIII f)**

Brometylketonderivat X (3,2 g, 7,93 mmol), et mellomprodukt i Mellomprodukt 5, ble oppløst i bensen (30 ml), Ag₂CO₃ (2,62 g, 1,2 Ekv.) og 2-hydroksypyridin (0,93 g, 1,2 Ekv.) ble tilsatt, og blandingen ble rørt under
35 tilbakeløp ved 80°C i 3 dager. Reaksjonsblandingen ble filtrert gjennom Celite, inndampet under redusert trykk, og rensert ved kolonnekromatografi, hvilket ga 2-pyridinyloksymetylketonderivat (XI f) (466 mg, utbytte 14%).

2-Pyridinyloksymetylketonderivatet (XI f) (227 mg, 0,548 mmol) oppnådd
40 slik ble oppløst i en løsningsmiddelblanding av tetrahydrofuran/metanol (3:2 v/v) (10 ml), NaBH₄ (43 mg, 2,0 Ekv.) ble tilsatt ved 0°C, og blandingen ble rørt i 30 minutter ved romtemperatur. Reaksjonen ble stoppet med mettet

ammoniumkloridløsning, og reaksjonsløsningen ble inndampet under redusert trykk. Resten ble ekstrahert med etylacetat, vasket med vann og vandig natriumkloridløsning, tørket (vannfritt Na₂SO₄), og inndampet under redusert trykk, hvilket ga Forbindelsen (XIIf) (230 mg) hvor ketongruppen var redusert til hydroksyl-gruppe.

Bensyloksykarbonyl-gruppen i forbindelsen fremstilt ovenfor ble fjernet (Pd/C) under hydrogenballong i 40 minutter, hvilket ga tittelforbindelsen (155 mg, 99%).

Fremstillingsmetode for Eksempler 65-66

Forbindelse VIIIf (eller VIIu) og VIIIf ble omsatt i henhold til den samme fremgangsmåte som Eksempler 1 og 2, hvilket ga tittelforbindelsene i Eksempler 65-66. Her representerer VIIu 5-etyl-3-(2-isopropylfenyl)-4,5-dihydro-5-isoksazolkarboksylsyre.

Eksempel 65

(3S)-3-({[(5R)-5-isopropyl-3-(1-isokinoliny)-4,5-dihydro-5-isoksazolyl]karbonyl}amino)-4-okso-5-(2-pyridinyloksy)pentankarboksylsyre (Iaa23)

¹H-NMR(500MHz, MeOH-d₄) δ 9,04(d, 1H), 8,50(d, 1H), 7,95(d, 1H), 7,81(d, 1H), 7,77(t, 1H), 7,69(t, 1H), 7,59(m, 1H), 6,85-6,80(m, 2H), 6,67(bs, 1H), 5,07(bs, 1H), 4,95(t, 1H), 4,84(m, 1H), 3,94-3,79(Abq, 2H), 2,92-2,80(m, 2H), 2,39(m, 1H), 1,09(m, 6H)

Masse : M+H 491

Eksempel 66

(3S)-3-({[5-etyl-3-(2-isopropylfenyl)-4,5-dihydro-5-isoksazolyl]karbonyl}amino)-4-okso-5-(2-pyridinyloksy)pentankarboksylsyre (Iaa24)

¹H-NMR(500MHz, DMSO-d₆) δ 8,71(bs, 1H), 8,02-7,94(to bs, 1H), 7,71-7,64(m, 1H), 7,42-7,18(m, 4H), 6,96-6,90(to t, 1H), 6,85-6,80(to d, 1H), 4,99(bs, 2H), 4,86-4,78(m, 1H), 3,58(to d, 1H), 3,48(to d, 1H), 3,36(m, 1H), 2,81-2,61(m, 2H), 2,05-1,80(to m, 2H), 1,14-1,03(m, 6H), 0,93-0,88(m, 3H)

Masse : M+H 468,21

Eksempel 67

2-{{[(3*S*)-4-karboksy-3-({[(5*R*)-5-isopropyl-3-(1-isokinoliny)]-4,5-dihydro-5-isoksazolyl]karbonyl}amino)-2-oksobutyl]oksy}-1-metylpyridinium-trifluormetansulfonat (Iaa25)

5 Mellomproduktet *t*-butyl-((3*S*)-3-({[(5*R*)-5-isopropyl-3-(1-isokinoliny)]-4,5-dihydro-5-isoksazolyl]karbonyl}amino)-4-okso-5-(2-pyridinyloksy)pentanoat (49 mg, 90 µmol) oppnådd etter Dess-Martin-oksidasjonsreaksjonen i Eksempel 65 ble oppløst i diklormetan (2 ml), metyltrifluormetansulfonat (1,1 Ekv., 10,1 µl) ble tilsatt, og blandingen ble rørt i én dag ved romtemperatur. Etter inndamping under
10 redusert trykk ble resten underkastet den samme fremgangsmåte som i Eksempel 2, hvilket ga tittelforbindelsen (60 mg).

¹H-NMR(500MHz, DMSO-d₆) δ 9,00-8,91(m, 2H), 8,76-8,57(m, 2H), 8,42(m, 1H), 8,04(m, 1H), 7,93(m, 1H), 7,80(m, 1H), 7,75(m, 1H), 7,54(m, 1H),
15 5,77-5,48(m, 2H), 4,85-4,81(m, 1H), 4,00(s, 3H), 3,94-3,69(m, 2H), 2,87-2,60(m, 2H), 2,33(m, 1H), 0,98 & 0,94(to d, 6H)

Masse : M+ 505,20

Eksempel 68

20 **2-{{[(3*S*)-4-karboksy-3-({[5-etyl-3-(2-isopropylfenyl)-4,5-dihydro-5-isoksazolyl]karbonyl}amino)-2-oksobutyl]oksy}-1-metylpyridinium-trifluormetansulfonat (Iaa26)**

Mellomproduktet *t*-butyl-(3*S*)-3-({[5-etyl-3-(2-isopropylfenyl)-4,5-dihydro-5-isoksazolyl]karbonyl}amino)-4-okso-5-(2-pyridinyloksy)pentanoat (55 mg, 0,105
25 mmol) oppnådd etter Dess-Martin-oksidasjonsreaksjonen i Eksempel 66 ble oppløst i diklormetan (2 ml), metyltrifluormetansulfonat (1,1 Ekv., 13 µl) ble tilsatt, og blandingen ble rørt i en dag ved romtemperatur. Etter konsentrasjon under redusert trykk ble resten underkastet den samme fremgangsmåte som i Eksempel 2, hvilket
ga tittelforbindelsen (59 mg, 94%).

30 ¹H-NMR(500MHz, DMSO-d₆)δ 8,80-8,73(to d,1H), 8,65(m, 1H), 8,45-8,38(m, 1H), 7,56- 7,51(m, 2H), 7,43-7,31(m, 3H), 7,24-7,12(m, H), 5,72-5,48(m, 2H), 4,91(m, 1H), 4,01 & 3,99(to s, 3H), 3,64(to d, 1H), 3,48(to d, 1H), 3,42(m, 1H), 2,90-2,62(m, 2H), 2,05-1,80(to m, 2H), 1,15-1,03(m, 6H), 0,93-0,88(m,3H).

35 Masse : M+ 482,17

Mellomproduktmetode for Eksempler 69-70:

Oksim-derivatet av 5-klor-1-metyl-1*H*-indol-2-aldehyd eller 1,5-dimetyl-1*H*-indol-2-aldehyd ble omsatt med *t*-butyl-3-amino-5-fluor-4-hydroksypentanoat i
40 henhold til den samme fremgangsmåte som i Mellomprodukter 1, 17, 4 og Eksempler 1, 2, hvilket ga tittelforbindelsene i Eksempler 69-70.

Eksempel 69

3-([3-(5-klor-1-metyl-1*H*-indol-2-yl)-5-isopropyl-4,5-dihydro-5-isoksazolyl]karbonyl)amino)-5-fluor-4-oksopentankarboksylsyre (Iaa27)

- 5 $^1\text{H-NMR}$ (500MHz, CDCl_3) δ 7,59(s, 1H), 7,46-7,39(to d, 1H), 7,30-7,23(m, 3H), 5,01(m, 1H), 4,75-4,46(m, 2H), 4,02(d, 1H), 3,95(s, 3H), 3,71(d, 1H), 2,95(m, 1H), 2,77(m, 1H), 2,35(m, 1H), 1,04(m, 6H)
Masse : M+H 452

10 **Eksempel 70**

3-([3-(1,5-dimetyl-1*H*-indol-2-yl)-5-isopropyl-4,5-dihydro-5-isoksazolyl]karbonyl)amino)-5-fluor-4-oksopentankarboksylsyre (Iaa28)

- 15 $^1\text{H-NMR}$ (500MHz, CDCl_3) δ 7,48(bs, 1H), 7,39(d, 1H), 7,23-7,14(m, 3H), 4,76(m, 1H), 4,70-4,50(m, 2H), 4,07-4,02(to d, 1H), 3,99, 3,94 & 3,93(tre s, 3H), 3,75-3,48(m, 1H), 2,94-2,82(to m, 1H), 2,46-2,43(to s, 3H), 2,34(m, 1H), 1,05(m, 6H)
Masse : M+H 432

20 **Mellomprodukt 23**

Oppløsning av (5*R*)-5-isopropyl-3-(1-isokinoliny)-4,5-dihydro-5-isoksazolkarboksylsyre

- 25 5-Isopropyl-3-(1-isokinoliny)-4,5-dihydro-5-isoksazolkarboksylsyre ble oppløst i aceton (190 ml) under oppvarming ved 60°C, og (*S*)- α -metyl-bensylamin (14,5 ml, 112 mmol) ble tilsatt. Reaksjonsblandingen ble avkjølt til romtemperatur og rørt i 4 timer. Den resulterende felling ble filtrert og vasket tre ganger ved aceton (40 ml).

- 30 Således oppnådd (*S*)- α -metyl-bensylamin-salt av (5*R*)-5-isopropyl-3-(1-isokinoliny)-4,5-dihydro-5-isoksazolkarboksylsyre ble oppløst i blandingen (150 ml) av aceton og vann (4:1) under oppvarming ved 90 °C, avkjølt til romtemperatur og rørt i 3 timer. Den resulterende felling ble filtrert og vasket ved aceton (40 ml) tre ganger, hvilket ga rent (*S*)- α -metyl-bensylamin-salt av (5*R*)-5-isopropyl-3-(1-isokinoliny)-4,5-dihydro-5-isoksazolkarboksylsyre (12,8g, 24,3%, 99,8% ee).

- 35 Den optiske renhet av (5*R*)-5-isopropyl-3-(1-isokinoliny)-4,5-dihydro-5-isoksazolkarboksylsyre ble anslått ved bruk av ChiralCel OD-kolonne (4,6 x 250 mm, 5 μm). Blandingen av *n*-heksan/isopropanol/trifluorediksyre (92/8/0,1) ble anvendt som mobil fase ved strømningshastighet på 1 ml/min, kolonne-
40 temperaturen var 40 °C og påvisningsbølglengden 225 nm. De to optiske isomerer

ble observert ved retensjonstidene henholdsvis 7,8 min (R-isomer) og 21,1 min (S-isomer).

Eksempel 71

5 Spaltning av Forbindelse (Iii-1)

1) Isolering av PODE-forbindelse

De to diastereomerer fra Eksempel 16 ble separert ved bruk av preparativ væskechromatografi-silikakolonne (diameter 40 mm, DYNAMAX-100Å). Blandingen av n-heksan/etanol/trifluorediksyre (4000/32/2) ble anvendt som mobil fase ved strømningshastighet på 50 ml/min, og den ønskete diastereomer ble oppsamlet i forholdet 99:1 under retensjonstiden på 62~66 min. ved påvisningsbølgelengden på 227 nm (de to diastereomerer ble eluert bredt med det kontinuerlig endrete forhold inntil 86 min). Således oppnådde diastereomer med 99:1 forholdet ble avbeskyttet og anvendt som pdekorn for spaltningen.

15 Den optiske renhet ble anslått ved bruk av Atlantis C₁₈ kolonne (4,6 x 250 mm, 5 µm). Blandingen av acetonitril/vann/trifluorediksyre ble anvendt som mobil fase ved strømningshastighet på 1 ml/min i henhold til den følgende gradient:

20 t = 0 min, 0:100:0,1
 3 min, 20:80:0,1
 50 min, 100:0:0,1

25 Under påvisningsbølgelengden på 227 nm ble de to optiske isomerer observert ved retensjonstidene på henholdsvis 36,6 min (3R, 5R-isomer) og 37,1 min (3S, 5R- isomer).

30 **(3S, 5R-isomer): *tert*-butyl-(3S)-5-fluor-3-({[(5R)-5-isopropyl-3-(1-isokinolinyl)-4,5-dihydro-5-isoksazolyl]karbonyl} amino)-4-oksopentanoat**

¹H-NMR(500MHz, CDCl₃) δ 9,13(d, 1H), 8,55(d, 1H), 7,85(d, 1H), 7,78-7,65(m, 4H), 5,22-5,02(to m, 2H), 4,90(m, 1H), 4,02(d, 1H), 3,80(d, 1H), 2,92-2,88(dd, 1H), 2,79-2,75(dd, 1H), 2,41(m, 1H), 1,34(s, 9H), 1,09(m, 6H)

Masse : M+H 472

35 **(3R, 5R isomer): *tert*-butyl-(3R)-5-fluor-3-({[(5R)-5-isopropyl-3-(1-isokinolinyl)-4,5-dihydro-5-isoksazolyl]karbonyl} amino)-4-oksopentanoat**

40 ¹H-NMR(400MHz, CDCl₃) δ 9,14(d, 1H), 8,56(d, 1H), 7,87(d, 1H), 7,77-7,64(m, 4H), 5,25-5,00(to q, 2H), 4,90(m, 1H), 4,03(d, 1H), 3,82(d, 1H), 2,93(dd, 1H), 2,77(dd, 1H), 2,42(m, 1H), 1,35(s, 9H), 1,11(m, 6H)

Masse : M+H 472

(3*S*)-5-fluor-3-([(5*R*)-5-isopropyl-3-(1-isokinoliny)-4,5-dihydro-5-isoksazoly]karbonyl}amino)-4-oksopentankarboksylsyre (Iii-1)

5

¹H-NMR(400MHz, CDCl₃) δ 9,07(d, 1H), 8,57(d, 1H), 7,89(d, 1H), 7,78-7,69(m, 3H), 7,69(d, 1H), 4,88-4,79(m, 2H), 4,67(bs, 1H), 4,07(d, 1H), 3,81(d, 1H), 3,08-2,93(m, 1H), 2,91-2,82(m, 1H), 2,43(m, 1H), 1,12(m, 6H)

Masse : M+H 416

10

(3*R*)-5-fluor-3-([(5*R*)-5-isopropyl-3-(1-isokinoliny)-4,5-dihydro-5-isoksazoly]karbonyl}amino)-4-oksopentankarboksylsyre (Iii-2)

¹H-NMR(500MHz, CDCl₃) δ 9,07(d, 1H), 8,55(d, 1H), 7,87(d, 1H), 7,75-7,68(m, 3H), 7,52(bs, 1H), 5,20-4,35(m, 3H), 4,02(d, 1H), 3,80(d, 1H), 3,13-2,90(m, 2H), 2,39(m, 1H), 1,08(m, 6H)

15

Masse : M+H 416

2) Omkrystallisering

(3*S*)-5-fluor-3-([(5*R*)-5-isopropyl-3-(1-isokinoliny)-4,5-dihydro-5-isoksazoly]karbonyl}amino)-4-oksopentankarboksylsyre (Iii-1)

20

Rått *t*-butyl-5-fluor-3-([(5*R*)-5-isopropyl-3-(1-isokinoliny)-4,5-dihydro-5-isoksazoly]karbonyl}amino)-4-oksopentanoat (366 g) ble oppløst i metylenklorid (1,9 kg) og avkjølt til 0 °C. Trietylsilan (235 g) og trifluoreddiksyre (1,88 kg) ble tilsatt og rørt i en time ved 0 °C. Reaksjonsblandingen ble destillert under redusert trykk, gjenoppløst i etylacetat (2,4 kg), og pH ble justert til 5,2 ved tilsetning av 2N vandig natriumhydroksidløsning (3,1 l). Det organiske sjikt ble skilt fra, og det vandige sjikt ble ekstrahert én gang med etylacetat (2,4 kg). De kombinerte organiske sjikt ble destillert under redusert trykk å fjerne løsningsmiddelet, den resulterende rest ble oppløst i metyl-*t*-butyleter (530 g), og små mengder av krystallinsk (3*S*)-5-fluor-3-([(5*R*)-5-isopropyl-3-(1-isokinoliny)-4,5-dihydro-5-isoksazoly]karbonyl}amino)-4-oksopentankarboksylsyre ble tilsatt. Etter røring i 16 timer ved romtemperatur ble den resulterende felling filtrert og vasket med 9:1 blanding av metyl-*t*-butyleter og *n*-heksan (210 ml).

25

30

Således oppnådd (3*S*)-5-fluor-3-([(5*R*)-5-isopropyl-3-(1-isokinoliny)-4,5-dihydro-5-isoksazoly]karbonyl}amino)-4-oksopentankarboksylsyre ble oppløst i etylacetat (240 ml) under oppvarming ved 50 °C, *n*-heksan (240 ml) ble langsomt tilsatt og gradvis avkjølt til romtemperatur. Etter røring i 24 timer ved romtemperatur ble den resulterende felling filtrert og vasket med 1:1 blanding av etylacetat og *n*-heksan (30 ml), hvilket ga tittelforbindelsen (Iii-1, 46,0 g, 3*S*/3*R*=94/6,0). Den optiske renhet ble anslått ved bruk av Luna-kolonne (4,6 x 250

35

40

mm, 5µm, C₁₈). Blandingen av acetonitril/20mM NH₄OAc (pH 6) (30/70) ble anvendt som mobil fase ved strømningshastighet på 1 ml/min. Under påvisningsbølgelengden på 227nm ble de to optiske isomerer observert ved retensjonstider på henholdsvis 8,0 min (3R isomer) og 9,0 min (3S isomer).

5

Eksperiment 1

Bestemmelse av den caspase-inhiberende virkning

Caspase-1 og caspase-8 kjent som cystein-proteaser i form av α₂β₂ ble uttrykt, rensed og aktivert ved modifisering av en metode kjent fra Thornberry, N. A. et al, *Nature*, **1992**, 356, 768. Thornberry, N. A. *Methods in Enzymology*, **1994**, 244, 615. Walker, N. P. C. et al. *Cell*, **1994**, 78, 343, og caspase-9 ble også rensed ved en liknende metode, og den inhiberende aktivitet mot dem ble testet. Kort beskrevet ble p10 og p20 underenheter (Thornberry, N. A. et al, *Nature*, **1992**, 356, 768) uttrykt i *E.coli* og rensed med nikkel-kolonne og anionbytterkromatografi, hvilket ga caspase-1, caspase-8 og caspase-9. Det fluorescerende substrat AcYVAD-AFC for således oppnådd caspase-1, AcDEVD-AFC for caspase-8 og AcLEHD-AFC for caspase-9 ble anvendt for å bestemme spesifikk aktivitet for de syntetiserte inhibitorer. Enzymreaksjonen ble utført ved 25°C med forskjellige konsentrasjoner av inhibitorene i en bufferløsning inneholdende 50mM HEPES(pH 7,50), 10%(vekt/volum) sukrose, 0,1%(vekt/volum) CHAPS, 100 mM NaCl, 1 mM EDTA, og 10 mM DTT i nærvær av 50 µM AcYVAD-AFC i 10 nM caspase-1, 50 µM AcDEVD-AFC i 2,1 nM caspase-8 og 150 µM AcLEHD-AFC i 200 nM caspase-9. Inhiberingskonstantene K_i og K_{obs} for inhibitorene ble bestemt ved å måle reaksjonshastigheten ved tidsutløpet ved bruk av et fluorescens-spektrometer og ved oppnåelse av den initielle hastighetskonstanten. K_i ble beregnet fra Lineweaver Burk Plot, og K_{obs} fra den følgende Ligning 1.

25

Ligning 1

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

30

hvor

A_t betyr spaltningsgrad (%) ved tid t, og

A_{oo} betyr maksimum spaltningsgrad (%).

35

Spectra MAX GeminiXS Fluorescent Spectrometer fra Molecular Device Co. ble anvendt ved eksitasjonsbølgelengden på 405nm og emisjonsbølgelengden på 505nm.

40

Den *in vivo* inhiberende aktivitet av inhibitorene ble bestemt ved å underkaste Jurkat-celle (ATCC TIB-152) apoptose ved bruk av Fas-antistoff (Upstate Biotech 05-201) og ved påvisning av fargeforandringen i henhold til WST-1 metoden kjent fra Francoeur A.M. og Assalian A. (1996) *Biochemica* **3**, 19-25 for å observere mengden av levende Jurkat-celler når cellene ble behandlet med

inhibitoren. Spectra MAX 340 Spectrometer fra Molecular Device Co. ble anvendt ved absorptionsbølglængden på 440 nm.

Tabell 1

Forb. nr.	Caspase-1 $K_{\text{obs}}/[I] \text{ (M}^{-1}\text{min}^{-1})$	Caspase-8 $K_{\text{obs}}/[I] \text{ (M}^{-1}\text{min}^{-1})$	Caspase-9 $K_{\text{obs}}/[I] \text{ (M}^{-1}\text{min}^{-1})$	Jurkat-celle $IC_{50} \text{ (}\mu\text{M)}$
Icc	1,9 E5	3,3 E4		22,5
Idd	3,1 E5	1,9 E5		4,25
Iee		1,8 E5		32,6
Iff		5,0 E5		1,2
Igg	2,7 E6	1,5 E6	3,2 E5	0,17
Iii	1,1 E6	1,3 E7	2,0 E5	0,1
Iii-u*		1,9 E5		0,71
Iii-1		2,3 E7		
Iii-2		4,7 E5		
Ijj		1,9 E5		4,7
Ikk		1,2 E5		1,1
Ill		1,3 E5		39,2
Imm		1,6 E5		2,0
Inn		2,6 E5		6,5
Ioo		2,0 E4		50
Ipp	2,3 E6	1,7 E5		3,5
Iqq	3,3 E6	1,4 E5		37
Irr				Ingen aktivitet
Iss				Ingen aktivitet
Itt		4,3E5		0,16
Iuu		2,9E5		0,98
Ivv		1,5E6		0,15
Iww		1,1E6		1,9
Ixx		4,0E4		26,5
Iyy		3,1E5		31,2
Izz		4,2E5		1,25
Iaa1		1,8E5		0,33
Iaa2		3,2E5		0,56
Iaa3		1,4E5		2,65
Iaa4		5,0E5		0,67
Iaa5		3,0E5		0,3
Iaa6		2,0E5		2,45
Iaa7		4,4E4		2,27
Iaa8		4,5E5		0,70
Iaa9		2,3E5		1,24

Iaa10		1,5E5		1,02
Iaa11		6,4E4		31
Iaa12		1,9E5		0,70
Iaa13		3,1E5		0,35
Iaa14		4,1E5		0,79
Iaa15		4,3E5		0,72
Iaa16		6,2E5		0,73
Iaa17		1,8E5		1,14
Iaa18		5,2E5		1,5
Iaa19		1,6E4		Ingen aktivitet
Iaa20		3,7E4		Ingen aktivitet
Iaa21		Ingen aktivitet		Ingen aktivitet
Iaa22		Ingen aktivitet		
Iaa23		2,9E4		Ingen aktivitet
Iaa24		Ingen aktivitet		
Iaa25		1,7E5		Ingen aktivitet
Iaa26		3,1E4		Ingen aktivitet
Iaa27		8,2E5		1,3
Iaa28		1,8E6		0,6

* Forbindelse Iii-u er (5S)-form av Forbindelse Iii.

Eksperiment 2

Terapeutisk virkning for LPS-indusert akutt hepatitt hos mus

5 Trinn 1) Fremstilling av blodprøve

Balb/c hunnmus (6 uker, Charles River Laboratory, Osaka, Japan) ble holdt under betingelser på 22°C, 55% relativ fuktighet og lys-mørke-syklus på 12 timer. Fôr og vann ble gitt ad libitum. I pyrogen-fritt saltvann ble LPS (lipopolysakkarid) og D-galaktosamin oppløst i konsentrasjoner på henholdsvis 0,4mg/ ml og 280mg/ ml, og deres 1:1 blanding ble injisert i mus i mengde på 5 ml/kg. Straks etter injeksjonen av LPS og D-galaktosamin ble bærer (en blanding av PEG400 : etanol : Tween80 = 15 : 7,5 : 2,5 fortynnet fem ganger med saltvann) hvori testforbindelsen blir oppløst, eller bæreren alene ble intraperitonealt injisert i musene. Etter 8 timer fra drogeinjeksjonen ble blodprøver tatt fra hjertene deres.

15

Trinn 2: Bestemmelse av aktiviteten av plasma-aminotransferase

Plasma ALT-aktivitet ble bestemt for blodprøvene oppnådd i Trinn 1 ved bruk av ALT-målesett (Asan Pharm. Co., Seoul, Korea) i henhold til fabrikantens instruksjon. Som et resultat viste det seg at injeksjonen av LPS og D-galaktosamin bratt øker ALT-aktiviteten i plasma, og testforbindelsene inhiberer den økte enzymaktivitet på en dose-avhengig måte. Basert på disse resultater

20

ble ED₅₀-verdier av testforbindelsene beregnet ved bruk av Prisme software fra GraphPad Co., hvilket ga 0,01-10mg/kg.

Eksperiment 3

5 Inhiberende virkning mot hepatisk fibrose hos SD-rotter

Trinn 1) Induksjon av hepatisk fibrose og administrering

Spargue-Dawley hannrotter (6 uker, Korea Biolink) ble holdt under betingelser på 22°C, 55% relativ fuktighet og lys-mørke-syklus på 12 timer. Fôr og vann ble gitt ad libitum. For ligeringen av gallerør ble rottene bedøvet ved
10 inhalasjon av 1% halothan, rottenes abdomen ble skåret opp, de bakre og fremre gallerør ble ligert, delen mellom ligeringsstedene ble kuttet, 2 ml av saltvann ble injisert og de ble sydd.

Testforbindelse (Iii) ble oralt administrert i en dose på 3mg/kg eller
15 10mg/kg to ganger daglig. Det vil si forbindelsen ble oppløst i et coløsningsmiddel (PEG400 : etanol : Tween80 = 15 : 7,5 : 2,5), fortynnet med fosfatbuffer (pH 7,4) fem ganger og administrert. Til kontrollgruppen ble løsningen administrert uten testforbindelsen. Administreringen ble foretatt i 1 uke etter 1 uke fra ligeringen av gallerør.

20

Trinn 2: Fremstilling av vevsnitt og Sirius-rødfarging

Etter administreringen ble rottene avlivet. Leverene ble fiksert med 10% neutral formalin og et paraffinsnitt på 5 µm tykkelse ble fremstilt og farget med
25 0,1% Sirius rød (Direct red 80, Sigma). Vevsnittet ble undersøkt med et optisk mikroskop for å observere collagenfibere som var farget røde, og resultatene er oppført i Figur 1.

Eksperiment 4

30 Inhiberende virkning mot apoptose under gallestagnasjon hos SD-rotter

Testforbindelsen (Iii) ble administrert til SD-rottene hvis gallerør var ligert i henhold til fremgangsmåten som i Trinn 1 av Eksperiment 3. Etter 2 uker fra operasjonen ble rottene avlivet. Leverene ble fiksert med 10% neutral formalin og er paraffinsnitt på 5 µm tykkelse ble fremstilt. TUNEL-farging ble utført ved bruk av ApopTag Peroxidase *In Situ* Apoptose Detection sett (Chemicon) i henhold til
35 fabrikantens instruksjon. Mer enn 10 steder av det TUNEL-fargete levervev ble fotografert i 200 forstørrelser uten noe overlapp, hvorav resultat ble vist i Figur 2. Tallet av celler som lider av apoptose i hver testgruppe ble talt opp og oppført i den følgende Tabell 2. I den følgende tabell betyr Sham-operasjon tilfellet hvor gallerøret var blottlagt, men ikke ligert, og BDL-operasjon betyr tilfellet hvor bare bæreren ble administrert etter ligeringen av gallerør.
40

Tabell 2

Inhiberende virkning av forbindelse (Iii) mot hepatisk celle-apoptose under gallestagnasjonen (Enhet: TUNEL positive celler / felt)

Sham-operasjon	BDL-operasjon	BDL+Forbindelse (Iii) 3mg/kg	BDL+Forbindelse (Iii) 10mg/kg
0,76±0,15	16,7±2,75	4,12±1,3	5,66±1,34

Konklusjon

- 5 Den effektive inhibering av apoptose (75% inhibering) med Forbindelse (Iii) ble vist ved TUNEL-farging i en model etablert ved induksjon av hepatisk fibrose gjennom gallestagnasjon. I tillegg viste Sirius Red farging en alvorlig fibrose hos kontrollgruppen, men nesten ingen fibrose i den forbindelse(Iii)behandlete gruppen. Dette resultat demonstrerer den inhiberende virkning av Forbindelse (Iii) mot
- 10 hepatisk fibrose hos rotter, og således blir det forventet at Forbindelse (Iii) kan vise farmakologisk aktivitet som undertrykker lever-cirrhose ved inhibering av apoptosen av hepatisk celle ved klinisk applikasjon. Applikasjonen kan utvides ikke bare til hepatisk cirrhose ved gallestagnasjon, men også til forskjellige hepatiske sykdommer hvor hepatisk fibrose på grunn av apoptose inngår.

15

Eksperiment 5

Antiflogistisk virkning hos rotter

- SD hannrotter (6 uker, Orient) ble holdt under betingelser på 22°C, 55% relativ fuktighet, og lys-mørke-syklus på 12 timer. Fôr og vann ble gitt ad libitum.
- 20 Før induksjon av ødem ble fotvolumet til hver rotte målt ved pletysmometer. Før induksjonen av ødem ble bærer (en blanding av PEG400 : etanol : Tween80 = 15 : 7,5 : 2,5 fortynnet ti ganger med fosfatbuffer) hvori testforbindelsen er oppløst eller bæreren alene ble oralt administrert til rottene. Carrageenan (gamma) ble oppløst i konsentrasjon på 1% i saltvann og subkutan injisert i rottens høyre bakre fot i
- 25 dose på 100 µl. Etter 3 timer ble volumet av høyre fot målt igjen med pletysmometer. Virkningen av testforbindelsen ble vist ved ødem-inhibering (%) (se Tabell 3). Ødem-inhiberingen (%) ble beregnet i henhold til den følgende Ligning 2.

30 Ligning 2

Ødem-inhibering (%) = $100 \times (\text{Gjennomsnitt av det økede fotvolum i den bærer-administrerte gruppen} - \text{Øket fotvolum i den testforbindelse-administrerte gruppe}) / \text{Gjennomsnitt av øket fotvolum hos den bærer-administrerte gruppen}$.

35

Tabell 3

Ødem-inhiberingsvirkning av Forbindelse (Iii)

Ødem-inhiberingsvirkning (%)		
Dose (mg/kg)	Gjennomsnitt	SEM
3	2,3	7,7
30	20,7	9,7
100	22,7	2,6

Eksperiment 6**5 Terapeutisk virkning for reumatisk arthritt hos rotter**

Lewis hunnrotter (7 uker, Charles River, Japan) ble holdt under betingelser på 22°C, 55% av relativ fuktighet og lys-mørke-syklus på 12 timer. Fôr og vann ble gitt ad libitum. Type II collagen (storfe) ble oppløst i 0,05M eddiksyre i en konsentrasjon på 2 mg/ ml ved 4°C, og den samme mengde av Fullstendig Freund's adjuvans ble tilsatt for å emulgere løsningen ved 4°C. 0,1 ml av slik emulgert løsning ble subkutan injisert i rottehalen til Lewis rottene. Etter 7 dager ble den emulgerte løsning injisert igjen på den samme måten. Fra den dagen da den andre emulgerte løsning ble injisert, ble bærer (en blanding av PEG400 : etanol : Tween80 = 15 : 7,5 : 2,5 fortynnet ti ganger med fosfatbuffer) hvori testforbindelsen er oppløst eller bæreren alene oralt administrert til rottene hver dag. På Dag 14 fra den første injeksjon av den collagenholdige emulgerte løsning ble høyre bakfotvolum målt igjen med pletysmometer (se Tabell 4). Ødem-inhiberingen (%) ble bestemt med den følgende Ligning 3.

20 Ligning 3

Ødem-inhibering (%) = $100 \times (\text{Gjennomsnitt av det økete fotvolum i den bærer-administrerte gruppe på Dag 14} - \text{Øket fotvolum i den testforbindelse-administrerte gruppe på Dag 14}) / \text{Gjennomsnitt av det økete fotvolum i den bærern-administrerte gruppe på Dag 14}$.

25 Videre ble p-verdi beregnet ved Student t-test fra det økete fotvolum på Dag 14 for å bekrefte signifikansen.

Tabell 4

Fotødem-inhiberingsvirkning

Dose av Forbindelse (Iii) (mg/kg)	Fotvolum (ml)				Ødem-inhiberingsvirkning (%)	
	Dag 0		Dag 14		Dag 14	
	Gj.snitt	SEM	Gj.snitt	SEM	Gj.snitt	SEM
0	1,115	0,036	1,975	0,257	-	
10	1,134	0,032	1,394*	0,089	69,8	10,8

30 * p-verdi = 0,032

I fotødemtest i rotter viste Forbindelse (Iii) en dose-avhengig ødem-inhiberingsvirkning på omtrent henholdsvis 2, 21, og 23% at en dose på 3, 30, og 100 mg/kg. I modellen rheumatisk arthritt ble fot-ødem redusert signifikant (omtrent 70% reduksjon) i den forbindelse(Iii)-administrerte gruppe på Dag 14, når den negative kontrollgruppe viste maksimum ødem. Derfor blir det ansett at Forbindelse (Iii) har en inhiberende virkning på forløpet av inflammasjon i en inflammatorisk sykdomsmodell, og kan således behandle de autoimmun-inflammatoriske sykdommer.

Eksperiment 7

Virkningssammenligning med den kjente forbindelse

Forbindelse (Iii) i henhold til den foreliggende oppfinnelse og LB84068MP (Forbindelse 68) kjent fra PCT/KR00/01047 (WO 01/21600) ble testet og resultatene er vist i den følgende Tabell 5.

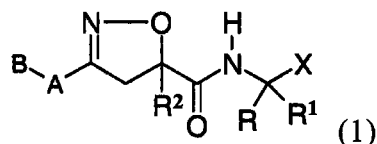
Tabell 5

	LB84068MP	Iii
$K_{obs}/[I]$ mot caspase-8	1,02 E6 ($M^{-1}min^{-1}$)	1,30 E7 ($M^{-1}min^{-1}$)
IC ₅₀ (Jurkat-celle)	1,6 μM	0,1 μM eller mindre
ED ₅₀ (LPS + Gal)	0,99 mg/kg	0,01 mg/kg
Løselighet (pH=7,44 fosfat)	0,93 mg/ ml eller mindre	7,8 g/ ml

Som det fremgår av Tabell 5 ovenfor viste Forbindelse (Iii) i henhold til den foreliggende oppfinnelse en øket inhiberende aktivitet på 10 ganger eller mer mot caspase-8 og Jurkat-celle sammenliknet med LB84068MP og på omtrent 100 ganger mot LPS-indusert akutt hepatitt-model (mus). Også med hensyn til de fysikalsk-kjemiske egenskaper viste forbindelsen forbedret løselighet og kan således lett anvendes som en injeksjon. Det vil si forbindelsen ifølge den foreliggende oppfinnelse viser mye sterkere forbedrete effekter enn sammenligning- forbindelsen i LB84068MP i både aspektene aktivitet og fysikalsk-kjemiske egenskaper.

PATENTKRAV

1. Forbindelse med den følgende formel (1):



Hvori

I) R representerer H,

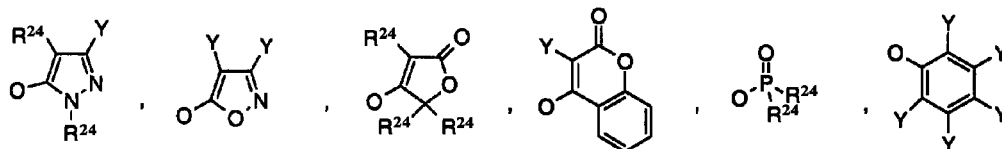
II) R^1 representerer $-\text{CH}_2\text{COOH}$ or $-\text{CH}_2\text{COOR}^3$ ($R^3 = \text{C}_1\text{-C}_8$ alkyl),

III) R^2 representerer $\text{C}_1\text{-C}_8$ alkyl,

IV) A representerer $-(\text{CH}_2)_n-$ ($n = 0\text{-}4$) eller $-\text{O}-(\text{CH}_2)_n-$ ($n = 0\text{-}4$),

V) B representerer $\text{C}_6\text{-C}_{14}$ aryl eller 5-15 leddet heteroaryl, hvori heteroarylen inneholder 1 til 5 heteroatomer valg fra oksygen, svovel og nitrogen, og hvori arylen eller heteroarylen eventuelt er substituert med en eller flere substituerter valg fra gruppen bestående av halogen, $\text{C}_1\text{-C}_8$ -alkyl, $\text{C}_1\text{-C}_8$ alkylcarbonyl, $\text{C}_3\text{-C}_{10}$ -sykloalkyl and $\text{C}_6\text{-C}_{14}$ aryl, eller

VI) X representerer $-\text{C}(=\text{O})\text{CH}_2\text{OR}^{11}$ hvori R^{11} er $\text{C}_6\text{-C}_{14}$ aryl eller 5-15 leddet heteroaryl, og hvori heteroarylen inneholder 1 til 5 heteroatomer valgt fra oksygen, svovel og nitrogen, og arylen eller heteroarylen eventuelt er substituert med halogen eller $\text{C}_1\text{-C}_8$ alkyl; $-\text{C}(=\text{O})\text{CH}_2\text{OC}(=\text{O})R^{12}$ hvori R^{12} er $\text{C}_1\text{-C}_8$ alkyl eller $\text{C}_6\text{-C}_{14}$ aryl eventuelt er substituert med halogen; $-\text{CH}=\text{CH}-\text{CO}_2R^{13}$ hvori R^{13} er $\text{C}_1\text{-C}_8$ alkyl; $-\text{CH}=\text{CH}-\text{SO}_2R^{14}$ hvori R^{14} er $\text{C}_1\text{-C}_8$ alkyl ; $-\text{C}(=\text{O})\text{CH}=\text{CH}_2$; eller $-\text{COCH}_2\text{-W}$ hvori W er $-\text{F}$, $-\text{Cl}$, $-\text{Br}$, $-\text{I}$, eller er en av de følgende formler:



hvori

Y er H,

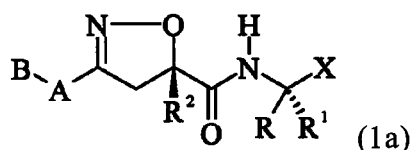
R^{24} er H, $\text{C}_6\text{-C}_{14}$ aryl.

2. Forbindelse i henhold til krav 1, hvori B er fenyl, naftyl, isoquinolyl, benzotienyl, indolyl, pyridinyl eller tetrahydroisoquinolinyll som eventuelt er substitutert med metyl, klor, isopropyl, tert-butyl, isobutyl, acetyl, syklopropyl, syklopentyl, sykloheksyl eller fenyl.
- 5
3. Forbindelse i henhold til krav 1 som er valgt fra den følgende gruppe:
- (1) (3*S*)-5-[(2,6-diklorbensoyl)oksy]-3-([5-metyl-3-fenyl-4,5-dihydro-5-isoksazolyl]karbonyl} amino)-4-okso-5-fenoksy-pentankarboksylsyre (Iaa);
- (2) (3*S*)-3-([5-metyl-3-fenyl-4,5-dihydro-5-isoksazolyl]karbonyl} amino)-4-okso-5-fenoksy-pentankarboksylsyre (Ibb);
- 10 (3) (3*S*)-3-([5-etyl-3-fenyl-4,5-dihydro-5-isoksazolyl]karbonyl} amino)-4-okso-5-(2,3,5,6-tetrafluorfenoksy)-pentankarboksylsyre (Icc);
- (4) (3*S*)-3-([5-etyl-3-(1-naftyl)-4,5-dihydro-5-isoksazolyl]karbonyl} amino)-4-okso-5-(2,3,5,6-tetrafluorfenoksy)-pentankarboksylsyre (Idd);
- 15 (5) (3*S*)-3-([5-etyl-3-(2-naftyl)-4,5-dihydro-5-isoksazolyl]karbonyl} amino)-4-okso-5-(2,3,5,6-tetrafluorfenoksy)-pentankarboksylsyre (Iee);
- (6) (3*S*)-3-([5-etyl-3-(1-isokinolinyll)-4,5-dihydro-5-isoksazolyl]karbonyl} amino)-4-okso-5-(2,3,5,6-tetrafluorfenoksy)-pentankarboksylsyre (Iff);
- 20 (7) 3-([5-etyl-3-(1-isokinolinyll)-4,5-dihydro-5-isoksazolyl]karbonyl} amino)-5-fluor-4-okso-pentankarboksylsyre (Igg);
- (8) etyl-3-([5-etyl-3-(1-isokinolinyll)-4,5-dihydro-5-isoksazolyl]karbonyl} amino)-5-fluor-4-okso-pentanoat (Ihh);
- 25 (9) 5-fluor-3-([5-etyl-3-(1-isokinolinyll)-4,5-dihydro-5-isoksazolyl]karbonyl} amino)-4-okso-pentankarboksylsyre (Iii);
- (10) 3-([5-etyl-3-(4-kinolinyll)-4,5-dihydro-5-isoksazolyl]karbonyl} amino)-5-fluor-4-okso-pentankarboksylsyre (Ijj);
- 30 (11) 3-([3-(bensotiofen-2-yl)-5-etyl-4,5-dihydro-5-isoksazolyl]karbonyl} amino)-5-fluor-4-okso-pentankarboksylsyre (Ikk);
- (12) (3*S*)-3-([3-(1,3-dimetyl-1*H*-indol-2-yl)-5-etyl-4,5-dihydro-5-isoksazolyl]karbonyl} amino)-4-okso-5-(2,3,5,6-tetrafluorfenoksy)-pentankarboksylsyre (Ill);
- 35 (13) 3-([3-(1,3-dimetyl-1*H*-indol-2-yl)-5-etyl-4,5-dihydro-5-isoksazolyl]karbonyl} amino)-5-fluor-4-okso-pentankarboksylsyre (Imm);
- (14) (3*S*)-3-([5-etyl-3-(1-naftylmetyl)-4,5-dihydro-5-isoksazolyl]karbonyl} amino)-4-okso-5-(2,3,5,6-tetrafluorfenoksy)-pentankarboksylsyre (Inn);
- 40 (15) (3*S*)-5-[(2,6-diklorbensoyl)oksy]-3-([5-etyl-3-[2-(1-naftyl)etyl]-4,5-dihydro-5-isoksazolyl]karbonyl} amino)-4-okso-pentankarboksylsyre (Ioo);

- (16) (3*S*)-3-[(5-etyl-3-[(1-naftyloksi)metyl]-4,5-dihydro-5-isoksazolyl]karbonyl)amino]-4-okso-5-(2,3,5,6-tetrafluorfenoksi)pentankarboksylsyre (Ipp);
- 5 (17) (3*S*)-3-[(3-[(4-klor-1-naftyl)oksi)metyl]-5-etyl-4,5-dihydro-5-isoksazolyl]karbonyl)amino]-4-okso-5-(2,3,5,6-tetrafluorfenoksi)pentankarboksylsyre (Iqq);
- (18) (3*S*,4*E*)-6-etoksi-3-[(5*R*)-5-isopropyl-3-(1-isokinoliny)-4,5-dihydro-5-isoksazolyl]karbonyl)amino)-6-okso-4-heksenkarboksylsyre (Irr);
- 10 (19) (3*S*,4*E*)-3-[(5*R*)-5-isopropyl-3-(1-isokinoliny)-4,5-dihydro-5-isoksazolyl]karbonyl)amino)-5-(metylsulfonyl)-4-pentankarboksylsyre (Iss);
- (20) 5-fluor-3-[(5*S*)-3-(1-isokinoliny)-5-propyl-4,5-dihydro-5-isoksazolyl]karbonyl)amino)-4-oksopentankarboksylsyre (Itt);
- 15 (21) 3-[(5*S*)-5-etyl-3-(1-naftyl)-4,5-dihydro-5-isoksazolyl]karbonyl)amino)-5-fluor-4-oksopentankarboksylsyre (Iuu);
- (22) 3-[(5*S*)-5-etyl-3-(2-kinoliny)-4,5-dihydro-5-isoksazolyl]karbonyl)amino)-5-fluor-4-oksopentankarboksylsyre (Ivv);
- (23) 3-[(5*R*)-5-etyl-3-(3-isokinoliny)-4,5-dihydro-5-isoksazolyl]karbonyl)amino)-5-fluor-4-oksopentankarboksylsyre (Iww);
- 20 (24) 3-[(5-etyl-3-(8-kinoliny)-4,5-dihydro-5-isoksazolyl]karbonyl)amino)-5-fluor-4-oksopentankarboksylsyre (Ixx);
- (25) 3-[(5-etyl-3-(3-kinoliny)-4,5-dihydro-5-isoksazolyl]karbonyl)amino)-5-fluor-4-oksopentankarboksylsyre (Iyy);
- 25 (26) 5-fluor-3-[(5*R*)-5-isopropyl-3-(2-kinoliny)-4,5-dihydro-5-isoksazolyl]karbonyl)amino)-4-oksopentankarboksylsyre (Izz);
- (27) 3-[(5-etyl-3-(2-isopropylfenyl)-4,5-dihydro-5-isoksazolyl]karbonyl)amino)-5-fluor-4-oksopentankarboksylsyre (Iaa1);
- (28) 3-[(3-[3-(*tert*-butyl)fenyl]-5-etyl-4,5-dihydro-5-isoksazolyl]karbonyl)amino]-5-fluor-4-oksopentankarboksylsyre (Iaa2);
- 30 (29) 3-[(3-[4-(*tert*-butyl)fenyl]-5-etyl-4,5-dihydro-5-isoksazolyl]karbonyl)amino]-5-fluor-4-oksopentankarboksylsyre (Iaa3);
- (30) 5-fluor-3-[(5*R*)-5-isopropyl-3-(2-isopropylfenyl)-4,5-dihydro-5-isoksazolyl]karbonyl)amino)-4-oksopentankarboksylsyre (Iaa4);
- 35 (31) 3-[(5*R*)-3-[3-(*tert*-butyl)fenyl]-5-isopropyl-4,5-dihydro-5-isoksazolyl]karbonyl)amino]-5-fluor-4-oksopentankarboksylsyre (Iaa5);
- (32) 3-[(3-[1,1'-bifenyl]-3-yl-5-isopropyl-4,5-dihydro-5-isoksazolyl]karbonyl)amino]-5-fluor-4-oksopentankarboksylsyre (Iaa6);
- (33) 3-[(5-etyl-3-(2-pyridiny)-4,5-dihydro-5-isoksazolyl]karbonyl)amino)-5-fluor-4-oksopentankarboksylsyre (Iaa7);
- 40 (34) 3-[(3-[4-(*tert*-butyl)-2-pyridiny]-5-etyl-4,5-dihydro-5-isoksazolyl]karbonyl)amino]-5-fluor-4-oksopentankarboksylsyre (Iaa8);

- (35) 3-([[(5*R*)-3-[4-(*tert*-butyl)-2-pyridinyl]-5-isopropyl-4,5-dihydro-5-isoksazolyl]karbonyl)amino]-5-fluor-4-oksopentankarboksylsyre (Iaa9);
- (36) 3-([5-etyl-3-(4-isobutyl-2-pyridinyl)-4,5-dihydro-5-isoksazolyl]karbonyl)amino)-5-fluor-4-oksopentankarboksylsyre (Iaa10);
- 5 (37) 3-([3-(4-acetyl-2-pyridinyl)-5-etyl-4,5-dihydro-5-isoksazolyl]karbonyl)amino)-5-fluor-4-oksopentankarboksylsyre (Iaa11);
- (38) 3-([3-(4-syklopropyl-2-pyridinyl)-5-etyl-4,5-dihydro-5-isoksazolyl]karbonyl)amino)-5-fluor-4-oksopentankarboksylsyre (Iaa12);
- (39) 3-([3-(4-syklopentyl-2-pyridinyl)-5-etyl-4,5-dihydro-5-isoksazolyl]karbonyl)amino)-5-fluor-4-oksopentankarboksylsyre (Iaa13);
- 10 (40) 3-([[(5*R*)-3-(4-syklopentyl-2-pyridinyl)-5-isopropyl-4,5-dihydro-5-isoksazolyl]karbonyl)amino)-5-fluor-4-oksopentankarboksylsyre (Iaa14);
- (41) 3-([3-(4-sykloheksyl-2-pyridinyl)-5-etyl-4,5-dihydro-5-isoksazolyl]karbonyl)amino)-5-fluor-4-oksopentankarboksylsyre (Iaa15);
- 15 (42) 3-([5-etyl-3-(5,6,7,8-tetrahydro-1-isokinolinylnyl)-4,5-dihydro-5-isoksazolyl]karbonyl)amino)-5-fluor-4-oksopentankarboksylsyre (Iaa16);
- (43) 5-fluor-3-([5-isopropyl-3-(4-fenyl-2-pyridinyl)-4,5-dihydro-5-isoksazolyl]karbonyl)amino)-4-oksopentankarboksylsyre (Iaa17);
- (44) (3*S*)-5-[(difenylfosforyl)oksy]-3-([[(5*R*)-5-isopropyl-3-(1-isokinolinylnyl)-4,5-dihydro-5-isoksazolyl]karbonyl)amino)-4-oksopentankarboksylsyre (Iaa18);
- 20 (45) (3*S*)-3-([[(5*R*)-5-isopropyl-3-(1-isokinolinylnyl)-4,5-dihydro-5-isoksazolyl]karbonyl)amino)-4-okso-5-{[1-fenyl-3-(trifluormetyl)-1*H*-pyrazol-5-yl]oksy}pentankarboksylsyre (Iaa19);
- 25 (46) (3*S*)-5-[(4-bensyl-5-okso-2,5-dihydro-3-furanyl)oksy]-3-([[(5*R*)-5-isopropyl-3-(1-isokinolinylnyl)-4,5-dihydro-5-isoksazolyl]karbonyl)amino)-4-oksopentankarboksylsyre (Iaa20);
- (47) (3*S*)-5-(isobutyryloksy)-3-([[(5*R*)-5-isopropyl-3-(1-isokinolinylnyl)-4,5-dihydro-5-isoksazolyl]karbonyl)amino)-4-oksopentankarboksylsyre (Iaa21);
- 30 (48) (3*S*)-3-([[(5*R*)-5-isopropyl-3-(1-isokinolinylnyl)-4,5-dihydro-5-isoksazolyl]karbonyl)amino)-4-okso-5-heksenkarboksylsyre (Iaa22);
- (49) (3*S*)-3-([[(5*R*)-5-isopropyl-3-(1-isokinolinylnyl)-4,5-dihydro-5-isoksazolyl]karbonyl)amino)-4-okso-5-(2-pyridinyloksy)pentankarboksylsyre (Iaa23);
- 35 (50) (3*S*)-3-([5-etyl-3-(2-isopropylfenyl)-4,5-dihydro-5-isoksazolyl]karbonyl)amino)-4-okso-5-(2-pyridinyloksy)pentankarboksylsyre (Iaa24);
- (51) 2-([(3*S*)-4-karboksy-3-([[(5*R*)-5-isopropyl-3-(1-isokinolinylnyl)-4,5-dihydro-5-isoksazolyl]karbonyl)amino)-2-oksobutyl]oksy)-1-metylpýridinium-trifluormetansulfonat (Iaa25);
- 40

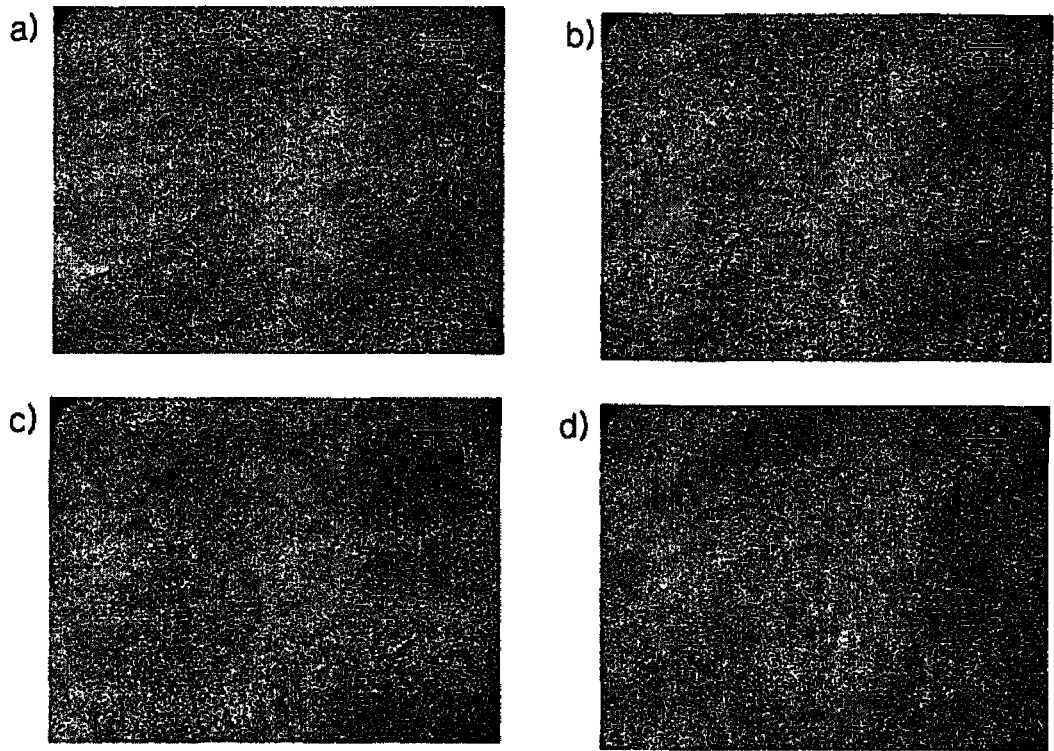
- (52) 2-({[(3*S*)-4-karboksy-3-({[5-etyl-3-(2-isopropylfenyl)-4,5-dihydro-5-isoksazolyl]karbonyl}amino)-2-oksobutyl]oksy}-1-metylpyridinium-trifluormetansulfonat (Iaa26);
- 5 (53) 3-({[3-(5-klor-1-metyl-1*H*-indol-2-yl)-5-isopropyl-4,5-dihydro-5-isoksazolyl]karbonyl}amino)-5-fluor-4-oksopentankarboksytsyre (Iaa27);
- (54) 3-({[3-(1,5-dimetyl-1*H*-indol-2-yl)-5-isopropyl-4,5-dihydro-5-isoksazolyl]karbonyl}amino)-5-fluor-4-oksopentankarboksytsyre (Iaa28);
- og
- 10 (55) (3*S*)-5-fluor-3-({[(5*R*)-5-isopropyl-3-(1-isokinolinyll)-4,5-dihydro-5-isoksazolyl]karbonyl}amino)-4-oksopentankarboksytsyre (Iii-1).
4. Forbindelse i henhold til krav 1 som er 5-fluor-3-({[(5*R*)-5-isopropyl-3-(1-isokinolinyll)-4,5-dihydro-5-isoksazolyl]karbonyl}amino)-4-oksopentankarboksytsyre (Iii).
- 15
5. Forbindelse ifølge krav 1 som har den følgende formel (1a):



- 20 hvori
A, B, R, R¹, R², og X er definert som beskrevet i krav 1.
6. Forbindelse i henhold til krav 5 som er (3*S*)-5-fluor-3-({[(5*R*)-5-isopropyl-3-(1-isokinolinyll)-4,5-dihydro-5-isoksazolyl]karbonyl}amino)-4-oksopentankarboksytsyre (Iii-1).
- 25
7. Fremgangsmåte for fremstilling av forbindelsen (Iii-1) som definert i krav 6, som består av trinnet å spalte en blanding av (3*S*)-5-fluor-3-({[(5*R*)-5-isopropyl-3-(1-isokinolinyll)-4,5-dihydro-5-isoksazolyl]karbonyl}amino)-4-oksopentankarboksytsyre og (3*R*)-5-fluor-3-({[(5*R*)-5-isopropyl-3-(1-isokinolinyll)-4,5-dihydro-5-isoksazolyl]karbonyl}amino)-4-oksopentankarboksytsyre i metyl-t-butyleter, tilsetning av en liten mengde krystallinsk (3*S*)-5-fluor-3-({[(5*R*)-5-isopropyl-3-(1-isokinolinyll)-4,5-dihydro-5-isoksazolyl]karbonyl}amino)-4-oksopentankarboksytsyre som et podemateriale, hvilket gir en krystall, og omkrystallisering av denne krystall fra et etylacetat/n-heksan- løsningsmiddelsystem.
- 30
- 35
8. Terapeutisk blanding for forhindring av inflammasjon og apoptose omfattende caspaseinhibitorforbindelsen med formel (1), et salt, eller en

stereoisomer derav som definert i krav 1 som en aktiv bestanddel sammen med en farmasøytisk akseptabel bærer.

- 5 9. Blanding i henhold til krav 8 for behandling av dementi, hjerneslag, hjernesvekkelse på grunn av AIDS, diabetes, mavesår, cerebral skade ved hepatitt, hepatitt-induserte hepatiske sykdommer, akutt hepatitt, fulminant hepatisk svikt, lever-cirrhose, sepsis, organtransplantasjonsavvisning, reumatisk artritt, eller hjertecelle-apoptose på grunn av iskemiske hjertesykdommer.
- 10 10. Blanding i henhold til krav 8 for behandling av akutt hepatitt eller lever-cirrhose.
11. Blanding i henhold til krav 8 for behandling av reumatisk artritt.
- 15 12. Blanding i henhold til krav 8 som er formulert som et oralt preparat, en injeksjon, eller et plaster.
- 20 13. Blanding i henhold til krav 8 omfattende forbindelsen (Iii) som definert i krav 4 som en aktiv bestanddel.
14. Blanding i henhold til krav 8 omfattende forbindelsen (Iii-1) som definert i krav 6 som en aktiv bestanddel.
- 25 15. Fremgangsmåte for fremstilling av den terapeutiske blanding for forhindring av inflammasjon og apoptose som definert i krav 8,
k a r a k t e r i s e r t v e d a t fremgangsmåten omfatter blanding av caspase-inhibitorforbindelsen med formel (1), et salt eller en stereoisomer derav som definert i krav 1 med farmasøytisk akseptabel bærer.
- 30 16. Anvendelse av caspaseinhibitorforbindelsen med formel (1), et salt, eller en stereoisomer derav som definert i krav 1 for fremstillingen av et medikament for forhindring av inflammasjon og apoptose.

[Fig. 1]

[Fig. 2]