

Нещодавно було виявлено, що фермент циклооксигеназа (ЦОГ) існує у вигляді двох ізоформ, ЦОГ-1 та ЦОГ-2. ЦОГ-1 відповідає ідентифікований першим основний фермент, в той час як ЦОГ-2 здатний швидко і легко індукуватися рядом чинників, включаючи мітогени, ендотоксини, гормони, цитокіни та фактори росту. Генеровані дією ЦОГ простагландини грають як фізіологічну, так і патологічну роль. Можна взагалі вважати, що ЦОГ-1 є відповідним за важливі фізіологічні функції, як-то підтримка шлунково-кишкової цілісності та току крові у нирках. За контрастом, індукована форма, ЦОГ-2, можна вважати, є відповідною за патологічну дію простагландинів, де швидке індуквання ферменту відбувається у відповідь на такі чинники, як запальні агенти, гормони, цитокіни та фактори росту. Селективний інгібітор ЦОГ-2, матиме тому антизапальні, антипретичні та анагетичні властивості без можливої побічної дії внаслідок інгібування ЦОГ-1. Нами винайдено нову групу сполук, які є потужними та селективними інгібіторами ЦОГ-2.

В рамках винаходу запропоновано одну групу сполук формули (I) (група А), в яких: R<sup>0</sup> - флуор, C<sub>1-3</sub>алкіл, C<sub>1-3</sub>алкоксил, C<sub>1-3</sub>залкоксил, заміщений одним чи більше атомами флуору, або O(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>NR<sup>4</sup>R<sup>5</sup>, R<sup>1</sup> - C<sub>1-4</sub>алкілсульфоніл, C<sub>1-4</sub>алкоксил, заміщений одним чи більше атомами флуору, O(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>CO<sub>2</sub>C<sub>1-4</sub>алкіл, O(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>SC<sub>1-4</sub>алкіл, (CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>NR<sup>4</sup>R<sup>5</sup>, (CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>SC<sub>1-4</sub>алкіл чи C(O)NR<sup>4</sup>R<sup>5</sup>, або коли R<sup>0</sup> - C<sub>1-3</sub>алкіл, C<sub>1-3</sub>алкоксил, C<sub>1-</sub>

3-алкоксил, заміщений одним чи більше атомами флуору, або  $O(CH_2)_nNR^4R^5$ ,  $R^1$  може бути також гідрогеном,  $R^2$  - гідроген,  $R^3$  - метил чи  $NH_2$ ,  $R^4$  та  $R^5$  незалежно один від одного -  $C_{1-3}$ -алкіл, або разом з атомом нітрогену, до якого приєднані, вони утворюють 5-6-членне насичене кільце, а  $n = 1-3$ .

В рамках групи А запропоновано іншу групу сполук формули (I) (група A1), в яких:  $R^0$  - флуор, метил,  $C_{1-2}$ -алкоксил,  $OCHF_2$  або  $O(CH_2)_nNR^4R^5$ ,  $R^1$  - метилсульфоніл,  $OCHF_2$ ,  $O(CH_2)_nCO_2C_{1-4}$ -алкіл,  $O(CH_2)_nSCH_3$ ,  $(CH_2)_nNR^4R^5$ ,  $(CH_2)_nSCH_3$  чи  $C(O)NR^4R^5$ , або коли  $R^0$  - метил,  $C_{1-2}$ -алкоксил,  $OCHF_2$  або  $O(CH_2)_nN(CH_3)_2$ ,  $R^1$  може бути також гідрогеном,  $R^2$  - гідроген,  $R^3$  - метил чи  $NH_2$ ,  $R^4$  та  $R^5$  незалежно один від одного - метил, або разом з атомом нітрогену, до якого приєднані, вони утворюють 5-6-членне насичене кільце, а  $n = 1-2$ .

В рамках групи А запропоновано ще іншу групу сполук формули (I) (група A2), в яких:  $R^0$  - флуор,  $C_{1-3}$ -алкоксил або  $C_{1-3}$ -алкоксил, заміщений одним чи більше атомами флуору,  $R^1$  -  $C_{1-4}$ -алкілсульфоніл,  $C_{1-3}$ -алкоксил, заміщений одним чи більше атомами флуору, або коли  $R^0$  -  $C_{1-3}$ -алкоксил,  $C_{1-3}$ -алкоксил, заміщений одним чи більше атомами флуору,  $R^1$  може бути також гідрогеном,  $R^2$  - гідроген, а  $R^3$  - метил чи  $NH_2$ .

В групах А, A1 та A2  $R^0$ , переважно, знаходиться в позиції 3 чи 4 фенільного кільця, а  $R^1$  знаходиться в позиції 6 піридазинового кільця.

Треба розуміти, що до рамок винаходу включено усі ізомери сполук формули (I) та їх фармацевтично прийнятні похідні, включаючи геометричні таутомерні та оптичні форми і їх суміші, наприклад, рацемічні.

Особливо кращими сполуками згідно з винаходом є:

3-(4-метансульфонілфеніл)-2-(4-метоксифеніл)піразоло[1,5-b]піридазин,  
6-дифлуорметокси-2-(4-флуорфеніл)-3-(4-метансульфонілфеніл)піразоло[1,5-b]піридазин,  
2-(4-етоксифеніл)-3-(4-метансульфонілфеніл)піразоло[1,5-b]піридазин,  
2-(4-флуорфеніл)-6-метансульфоніл-3-(4-метансульфонілфеніл)піразоло[1,5-b]піридазин,  
2-(4-дифлуорметоксифеніл)-3-(4-метансульфонілфеніл)піразоло[1,5-b]піридазин,  
4-[2-(4-етоксифеніл)піразоло[1,5-b]піридазин-3-іл]бензолсульфонамід,  
6-дифлуорметокси-2-(3-флуорфеніл)-3-(4-метансульфонілфеніл)піразоло[1,5-b]піридазин,  
та їх фармацевтично прийнятні похідні.

Сполуки згідно з винаходом є потужними та селективними інгібіторами ЦОГ-2. Цю активність ілюструє їх здатність селективно інгібувати ЦОГ-2 на фоні ЦОГ-1.

З точки зору їх селективної інгібуючої активності стосовно ЦОГ-2 сполуки згідно з винаходом представляють інтерес для використання в медицині людини та ветеринарії, зокрема при лікуванні болю (хронічного та гострого), лихоманки та запалень при різноманітних станах та захворюваннях. Такі стани та захворювання добре відомі фахівцям і включають ревматичну лихоманку, симптоми, асоційовані з грипом чи такою іншою вірусною інфекцією, як загальна застуда, біль у шиї та спині, головний біль, зубний біль, перевтомі та розтяг зв'язок, міозити, невралгія, сінусіти, артрити, включаючи ревматоїдний артрит, дегенеративні хвороби суглобів, включаючи остеоартрити, подагричний та анкілозний спондиліти, тендиніти, бурсити, такі стани, пов'язані зі шкірою, як псоріаз, екзема, опіки та дерматит, травми, як-то спортивні та пов'язані з хірургічними чи стоматологічними операціями.

Сполуки згідно з винаходом можуть також бути корисними при лікуванні інших опосередкованих селективним інгібуванням ЦОГ-2 станів.

Наприклад, сполуки згідно з винаходом можуть інгібувати клітинні та неопластичні трансформації і ріст метастазів, а тому їх можна використовувати при лікуванні деяких видів раку, як-то раку товстої кишки.

Сполуки згідно з винаходом можуть також попереджати ураження нейронів інгібуванням утворення в нейронах вільних радикалів (а тому оксидативного стресу) і тому їх можна використовувати при лікуванні нападу, епілепсії та епілептичних нападів (включаючи сильні та слабкі напади, міоклонічну епілепсію та часткові напади).

Сполуки згідно з винаходом інгібують також простаноїд-індуковані скорочення гладенької мускулатури, а тому їх можна використовувати при лікуванні дисменореї та дострокових пологів.

Сполуки згідно з винаходом інгібують також процеси запалення, а тому їх можна використовувати при лікуванні астми, алергічних ринітів та синдрому респіраторного дистресу, таких шлунково-кишкових станів, як запалення кишечника, хвороба Крона, гастрит, синдром подразненого кишечника та невиразковий коліт, а також запалення при таких хворобах, як хвороби судин, мігрень, вузликовий періартеріт, тироїдит, апластична анемія, хвороба Ходжкіна, склеродома, діабет типу I, міастенія вагітних, розсіяний склероз, саркоїдоз, нефротичний синдром, синдром Бекета, поліміозит, гінгівіт, кон'юнктивіт та ішемія міокарду.

Сполуки згідно з винаходом можна також використовувати при лікуванні таких офтальмологічних захворювань, як ретиніт, ретинопатія, увеїт та гостре поранення тканини очей.

Сполуки згідно з винаходом можна також використовувати при лікуванні таких розладів пізнання, як слабоумство, часткове дегенеративне слабоумство (включаючи сенільне слабоумство, хвороби Альцгеймера, Піка, Паркінсона, Гренцфельда-Якоба, хорею Хантингтона) та судинне слабоумство (включаючи багатоінфарктне слабоумство), а також слабоумство, асоційоване з внутрішньочерепними ураженнями, травмами, інфекціями та спорідненими станами (включаючи ВІЛ-інфекцію), метаболізм, токсини, нестачу кисню та вітамінів, а також пов'язані з віком помірні погіршення пізнання, зокрема, пов'язане з віком погіршення пам'яті.

Згідно з подальшим аспектом винаходу запропоновано сполуку формули (I) чи її фармацевтично прийнятне похідне для використання в медицині людини чи ветеринарії.

Згідно з подальшим аспектом винаходу запропоновано сполуку формули (I) чи її фармацевтично прийнятне похідне для використання при лікуванні опосередкованих селективним інгібуванням ЦОГ-2 станів.

Згідно з подальшим аспектом винаходу запропоновано спосіб лікування стражданих від опосередкованих селективним інгібуванням ЦОГ-2 станів тварин чи людини, який включає застосування стражданим ефективної кількості сполуки формули (I) чи її фармацевтично прийнятного похідного.

Згідно з подальшим аспектом винаходу запропоновано використання сполуки формули (I) чи її фармацевтично прийнятного похідного для виробництва терапевтичного засобу для лікування таких

опосередкованих селективним інгібуванням ЦОГ-2 станів, як запалення.

Згідно з подальшим аспектом винаходу запропоновано спосіб лікування страждаючих від запалення тварин чи людини, який включає застосування страждаючим ефективної кількості сполуки формули (I) чи її фармацевтично прийнятного похідного.

Треба розуміти, що лікування означає як лікування вже наявних симптомів, так і профілактику, якщо спеціально не визначено інше.

Треба розуміти, що сполуки згідно з винаходом можна переважно використовувати у сполученні з одним чи більше іншими терапевтичними засобами. Приклади придатних засобів для додаткової терапії включають такі болезаспокійливі, як антагоніст гліцину, інгібітор натрієвих каналів (наприклад, ламотригін), антагоніст субстанції Р каналів (наприклад, антагоніст NK<sub>1</sub>, ацетамінофен або фенацетин, інгібітор матричної металопротеїнази, інгібітор синтази оксиду нітрогену (COH) (наприклад, інгібітор i-COH або n-COH), інгібітор вивільнення чи дії фактору  $\alpha$  некрозу пухлин, терапію антитілами (наприклад, терапію моноклональними антитілами), стимулятор, включаючи кофеїн, такий H<sub>2</sub>-антагоніст, як ранітидин, такий інгібітор протонної помпи, як омепразол, такий антикислотний засіб, як гідроксид алюмінію чи магнію, такий вітрогінний засіб, як симетикон, такий протизастійний засіб, як фенілефрин, фенілпропаноламін, псевдоефедрин, оксиметазолін, епінефрин, нафтазолін, ксилометазолін, пропілгекседрин, або лево-дезоксіефедрин, такий засіб проти кашлю, як кодеїн, гідрокodon, карміфен, карбетакентан, або декстраметорфан, діуретик, або седативний чи нонседативний антигістамін. Треба розуміти, що в рамки винаходу включено використання сполуки формули (i) або її фармацевтично прийнятного похідного у сполученні з одним чи більше іншими терапевтичними засобами.

Сполуки формули (I) та їх фармацевтично прийнятні похідні зручно застосовувати у формі фармацевтичних композицій. Тому згідно з іншим аспектом винаходу запропоновано фармацевтичну композицію, що містить сполуку формули (I) або її фармацевтично прийнятне похідне, пристосовану для використання в медицині людини чи ветеринарії. Такі композиції зручно створювати для використання звичайними способами у суміші з одним чи більше фізіологічно прийнятним носієм чи розріджувачем.

Сполуки формули (I) та їх фармацевтично прийнятні похідні можна сформувати для використання будь-яким придатним способом. Наприклад, їх можна сформувати для місцевого застосування чи застосування інгаляцією, або краще, для перорального, трансдермального чи парентерального застосування. Фармацевтична композиція може бути у формі, що здатна ефективно регулювати вивільнення сполук формули (I) та їх фармацевтично прийнятних похідних.

Для перорального застосування фармацевтична композиція може мати форму, наприклад, виготовлених звичайними засобами з прийнятними наповнювачами таблеток (включаючи під'язичні), капсул, порошків, розчинів, сиропів чи суспензій.

Для трансдермального застосування фармацевтична композиція може мати форму такого трансдермального пластиру як електрофоретичний трансдермальний пластр.

Для парентерального застосування фармацевтична композиція може бути представленою для ін'єкцій чи безперервної інфузії (наприклад, внутрішньовенно, внутрішньосудинно чи підшкірно). Композиції можуть мати форму суспензії, розчину чи емульсії в масляному чи водному середовищі, і можуть містити такі формуючі засоби, як суспендувальні, стабілізуючі та/або диспергувальні. Для застосування ін'єкціями вони можуть бути представленими дозами одно- чи багаторазовими, краще з доданими консервантами.

Альтернативно, для парентерального застосування активний інгредієнт може бути у формі порошку для відтворення придатним середовищем.

Сполуки згідно з винаходом можна також сформувати як препарат для уповільненого вивільнення. Такі довгодіючі композиції можна імплантувати (наприклад, підшкірно чи внутрішньом'язово) або застосовувати внутрішньом'язовими ін'єкціями. Отже, наприклад, сполуки згідно з винаходом можна сформувати з придатними полімерними чи гідрофобними матеріалами (наприклад, як емульсію у прийнятному маслі) або іонообмінними смолами чи як розважно розчинні похідні, наприклад, як розважно розчинну сіль.

Як сказано вище, сполуки згідно з винаходом можна також використовувати у сполученні з іншими терапевтичними засобами. Тому згідно з подальшим аспектом винаходу запропоновано комбінацію, що включає сполуку формули (I) чи її фармацевтично прийнятне похідне разом з іншим терапевтичним засобом.

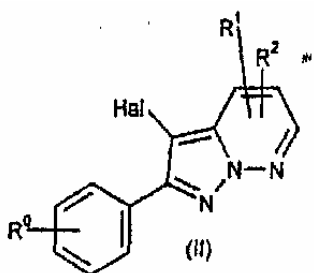
Вищезазначені комбінації зручно використовувати у формі фармацевтичних композицій і тому фармацевтичні композиції, що включають вищезазначені комбінації разом з фармацевтично прийнятним носієм чи розріджувачем складають подальший аспект винаходу. Окремі компоненти таких комбінацій можна застосовувати послідовно чи одночасно в окремих чи сполучених фармацевтичних композиціях.

Коли сполуку формули (I) чи її фармацевтично прийнятне похідне використовують разом з іншим терапевтичним засобом, що активний проти того ж самого хворобливого стану, доза кожної сполуки може відрізнятися від дози застосованої поодиноці сполуки. Прийнятні дози легко визначить фахівець. Запропонована добова доза сполуки формули (I) для лікування людини складає 0,01-500мг/кг, як-то 0,05-100мг/кг, наприклад, 0,1-50мг/кг, і може бути вжитою 1-4 дозами. Точні вживані дози залежатимуть від віку та стану пацієнта, а також від шляху застосування. Так, наприклад, придатною для систематичного застосування може бути добова доза 25мг/кг.

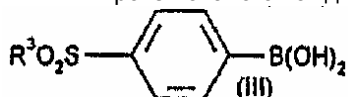
Сполуки формули (I) та їх фармацевтично прийнятні похідні можна виготовити будь-яким відомим способом виготовлення сполук аналогічної будови.

Придатні способи виготовлення сполук формули (I) та їх фармацевтично прийнятних похідних описано нижче. У нижченаведених формулах R<sup>0</sup>-R<sup>5</sup> та p визначено вище для формули (I), Hal - галоген, як-то Br чи I, X - протион, як-то I<sup>-</sup>, а алкіл визначено раніше.

Згідно з першим способом (A) сполуки формули (I) можна виготовити реакцією сполуки формули (II):

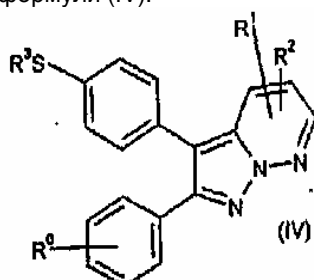


чи її протектованого похідного з бороновою кислотою формули (III):



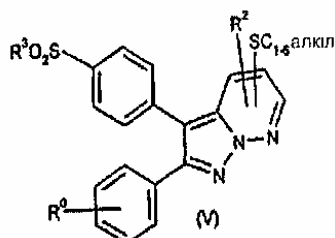
чи її придатним похідним у присутності придатного каталізатору перехідного металу. Придатні похідні формули (III) включають такі естери боронової кислоти, як описані R.Miyaura et al., J.Org.Chem., 1995, 60, 7508-7510. Зручно проводити реакцію в такому розчиннику, як етер (наприклад, 1,2-диметоксіетан), у присутності такої основи, як неорганічна (наприклад, карбонат натрію) та застосовувати такий паладієвий каталізатор, як тетракіс(трифенілфосфін)паладій(0).

За іншим способом (B) сполуки формули (I), де  $R^3$  -  $C_{1-6}$ алкіл, можна виготовити окисненням сполуки формули (IV):



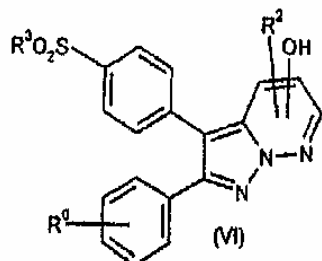
чи її придатного похідного в звичайних умовах. Зручно здійснювати окиснення таким моно-персульфатом, як пероксимоносульфат калію (відомий як Oxone™), а реакцію проводити в такому розчиннику, як водний спирт (наприклад, водний метанол) при температурі від  $-78^{\circ}\text{C}$  до зовнішньої.

Згідно з іншим способом (C) сполуки формули (I), де  $R^1$  -  $C_{1-6}$ алкілсульфоніл, можна виготовити окисненням сполуки формули (V):



чи її протектованого похідного в звичайних умовах. Зручно здійснювати окиснення як описано вище у способі (B).

Згідно з іншим способом (D) сполуки формули (I), де  $R^1$  -  $C_{1-6}$ алкоксил, заміщений одним чи більше атомами флуору, можна виготовити реакцією спирту формули (VI):



чи його протектованого похідного з галогенфлуоралканом в звичайних умовах. Зручно здійснювати реакцію у такому розчиннику, як полярний (наприклад, N,N-диметилформамід), у присутності такої основи, як неорганічний гідрид (наприклад, гідрид натрію), при приблизно зовнішній температурі, і використовуючи прийнятний для отримання потрібної сполуки формули (I) бромфлуоралкан.

Згідно з іншим способом (E) сполуки формули (I) можна виготовити конверсією, використовуючи інші сполуки формули (I) як попередники. Нижченаведене ілюструє придатні способи конверсії.

Сполуки формули (I), в яких  $R^1$  чи  $R^2$  -  $C_{1-6}$ алкіл, заміщений одним чи більше атомами флуору, можна виготовити з прийнятої сполуки формули (I), де  $R^1$  чи  $R^2$  -  $C_{1-6}$ гідроксіалкіл,  $C(O)H$  чи  $C(O)C_{1-6}$ алкіл, обробкою придатним джерелом флуору. Придатне джерело флуору включає, наприклад, трифлуорид діаміноетилсульфуру. Зручно здійснювати реакцію у такому розчиннику, як галогенований вуглеводень

(наприклад, дихлорметан) при зниженій температурі, як-то  $-78^{\circ}\text{C}$ .

Сполуки формули (I), в яких  $\text{R}^1$  чи  $\text{R}^2$  -  $\text{C}(\text{O})\text{H}$ , можна виготовити з відповідної сполуки формули (I), де  $\text{R}^1$  чи  $\text{R}^2$  -  $\text{CH}_2\text{OH}$ , окисненням. Придатним окисником є, наприклад, оксид мангану(IV). Зручно здійснювати окиснення у такому розчиннику, як галогенований вуглеводень (наприклад, хлороформ) при підвищеній температурі (наприклад, під зворотним холодильником).

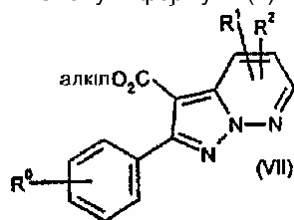
Сполуки формули (I), в яких  $\text{R}^1$  чи  $\text{R}^2$  -  $\text{C}_{1-6}$ гідроксіалкіл, і де гідроксил приєднаний до атома карбону, з'єднаного з піридазиновим кільцем, можна виготовити відновленням сполуки формули (I), де  $\text{R}^1$  чи  $\text{R}^2$  - відповідна альдегідна чи кетонна група. Придатними відновниками є, наприклад, такі гібридні відновники, як гібрид діізобутилалюмінію. Зручно здійснювати відновлення у такому розчиннику, як галогенований вуглеводень (наприклад, дихлорметан) при зниженій температурі, як-то  $-78^{\circ}\text{C}$ .

Як повинні розуміти фахівці, на будь-якій стадії синтезу сполуки формули (I) можлива необхідність чи бажаність протектування одної чи більше реакційних груп у молекулі, щоб перешкодити небажаним побічним реакціям.

Наступний спосіб (F) виготовлення сполук формули (I) тому включає депротектування протектованих похідних сполук формули (I).

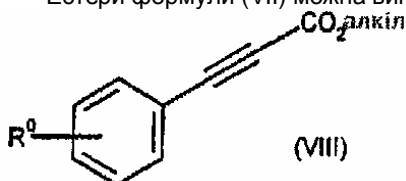
Використовувані при виготовленні сполук формули (I) протектувальні групи можна застосовувати звичайними способами, див., наприклад, "Protective Groups in Organic Synthesis", Theodora W.Green and Peter G.M.Wuts, II ed, (John Wiley and Sons, 1991), де також описано способи видалення таких груп.

Сполуки формули (II) можна виготовити галогенуванням сполук формули (VII) звичайними засобами.

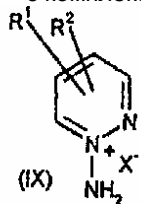


Отже, естери формули (VI) спочатку гідролізують до відповідних кислот, наприклад, обробкою сильною основою (наприклад, гідроксидом натрію) у присутності розчинника (наприклад, етанолу) при підвищеній температурі. Відповідну кислоту далі обробляють галогенуючим засобом, зручніше при температурі довкілля та у розчиннику (наприклад, хлорованому вуглеводні), в таких умовах відбувається галогенування та декарбоксилювання кислот. Зручним галогенуючим засобом є такий бромуючий засіб, як бром у присутності сильної кислоти (наприклад, гідрогенброміду в оцтовій кислоті) або N-бромсукцинімід, з утворенням відповідної сполуки формули (II), в якій  $\text{Hal}$  - бром.

Естери формули (VII) можна виготовити реакцією сполуки формули (VIII):



з комплексом амінопіридазинію формули (IX):



у звичайних умовах. Зручно проводити реакцію у присутності такої основи, як карбонат калію, у такому розчиннику, як N,N-диметилформамід, при зовнішній температурі.

Воронові кислоти формули (III) відомі, або їх можна виготовити такими способами, як наприклад, описаними в публікації EPA № 533268.

Сполуки формул (IV), (V) та (VI) можна виготовити способами, аналогічними описаним для виготовлення сполуки формули (I) зі сполуки формули (II).

Сполуки формули (VIII) відомі, або їх можна виготовити такими способами, як наприклад, описаними D.H.Wadsworth et al., J.Org.Chem., 1987, 52(16), 3662-8 та J.Morris and D.G.Wishka, Synthesis., 1994, 1, 43-6.

Сполуки формули (IX) відомі, або їх можна виготовити такими способами, як наприклад, описаними Y.Kobayashi et al., Chem.Pharm.Bull., 1971, 19(10), 2106-15, T.Tsuchiya, J.Kurita and K.Takayama Chem.Pharm.Bull., 1980, 28(9), 2676-2681 та K.Novitskii et al., Khim.Geterotskil Soedin, 1970, 2, 57-62.

Деякі вищеописані інтермедіати є новими сполуками, треба розуміти, що всі нові інтермедіати створюють подальший аспект винаходу. Сполуки формули (II) є ключовими інтермедіатами і представляють особливий аспект винаходу.

Зручно виділяти сполуки згідно з винаходом у формі основ з подальшою обробкою. Фармацевтично прийнятні кислотно-адитивні солі сполук згідно з винаходом можна виготовити з використанням звичайних засобів.

Сольвати (наприклад, гідрати) сполуки згідно з винаходом можна створити протягом обробки на одній з вищезгаданих операцій виконання способу.

Нижченаведені приклади ілюструють винахід, ніяк не обмежуючи його. Температура дана в  $^{\circ}\text{C}$ . Флеш-

хроматографію (ФХ) проводили на колонці з діоксидом силіцію Merck 9385. Тонкошарову хроматографію (ТШХ) проводили на платах з діоксиду силіцію. ЯМР проводили на спектрометрі Bruker 250 МГц. Хімічні зсуви (δ) надано відносно тетраметилсилану як внутрішнього стандарту хімічного зсуву у частинах на мільйон (чм). Використано скорочення: Me - метил, s - синглет, d - дублет, t - триплет, а m- мультиплет.

Приклад 1 6-дифлуорметокси-2-(4-флуорфеніл)-3-(4-метансульфонілфеніл)піразоло[1,5-b]піридазин

(i) Метилловий естер 6-метокси-2-(4-флуорфеніл)піразоло(1,5-b)піридазин-3-карбонової кислоти

3,39мл 1,8-діазабіцикло[5,4,0]ундец-7-ену додали до суміші 3,36г метилового естеру 3-(4-флуорфеніл)проп-2-інової кислоти та 6,1419г мезитиленсульфонату 1-аміно-3-метоксипіридазин-1-іуму<sup>1</sup> у 125мл ацетонітрилу і перемішували при кімнатній температурі протягом 48 годин. Протягом перших 2 годин через реакційну суміш пропускали струм повітря. Суміш концентрували у вакуумі, розчиняли в 150мл етилацетату, тричі по 25мл промивали водою, сушили сульфатом магнію, фільтрували та випарювали у вакуумі, одержавши 4,77г потрібної сполуки як тверду коричневу речовину.

<sup>1</sup>H ЯМР (CDCl<sub>3</sub>): 8,4 (d, 1H, J=10Гц), 7,85-7,90 (m, 2H), 7,1-7,2 (m, 2H), 6,9-7,0 (d, 1H, J=10Гц), 4,1 (s, 3H), 3,9 (s, 3H).

MN<sup>+</sup> 302

Посил:<sup>1</sup> T.Tsuchiya, J.Kurita and K.Takayama Chem.Pharm.Bull., 1980, 28(9), 2676-2681. (ii) 6-метокси-2-(4-флуорфеніл)піразоло[1,5-b]піридазин-3-карбонова кислота

Суміш 4,469г метилового естеру 6-метокси-2-(4-флуорфеніл)піразоло[1,5-b]піридазин-3-карбонової кислоти, 50мл 2Н гідроксиду натрію та 90мл метанолу гріли під зворотним холодильником протягом 2 годин. Охолоджений розчин додавали до 200мл 2Н гідрохлоридної кислоти і фільтрували, одержавши 3,639г потрібної сполуки як тверду бежеву речовину.

<sup>1</sup>H ЯМР (CDCl<sub>3</sub>): 12,8 (br.s, 1H), 8,4 (d, 1H, J=10Гц), 7,8-7,90 (m, 2H), 7,21-7,32 (m, 2H), 7,15-7,2 (d, 1H, J=10Гц), 4,0 (s, 3H).

MN<sup>+</sup> 288

(iii) 2-(4-флуорфеніл)-3-(4-метансульфонілфеніл)-6-метоксипіразоло[1,5-b]піридазин

Суміш 0,869г 6-метокси-2-(4-флуорфеніл)піразоло[1,5-b]піридазин-3-карбонової кислоти та 0,756г гідрокарбонату натрію у 10мл диметилформаміду обробляли 0,587г N-бромсукциніміду та перемішували при кімнатній температурі протягом 1 години, потім додавали 50мл води і тричі по 50мл екстрагували етилацетатом, сушили сульфатом магнію, фільтрували та випарювали у вакуумі. Одержані 1,612г твердої коричневої речовини розчиняли у 20мл диметоксітану і додавали 10мл водного 2Н розчину карбонату натрію разом з 660мг 4-(метансульфоніл)фенілборонової кислоти та 100мг тетракіс(трифенілфосфін)паладію(0), суміш гріли під зворотним холодильником протягом 20 годин, потім виливали у 50мл води і тричі по 100мл екстрагували дихлорметаном. Поєднані органічні фази сушили сульфатом магнію і випарювали під вакуумом, одержавши 1,116г сполуки як тверду коричневу речовину, яку очищали флеш-хроматографією на колонці з силікагелем, елюючи циклогексаном/етилацетатом (4:1, потім 2:1), одержавши 390мг потрібної сполуки як тверду жовту речовину.

ТШХ, R<sub>f</sub> 0,3 (циклогексан/етилацетат 1:1), визначення УФ.

MN<sup>+</sup> 398

(iv) 2-(4-флуорфеніл)-3-(4-метансульфонілфеніл)піразоло[1,5-b]піридазин-6-ол

Суміш 0,321г 2-(4-флуорфеніл)-3-(4-метансульфонілфеніл)-6-метоксипіразоло[1,5-b]піридазину та 1,4г гідрохлориду піридину гріли у герметизованій посудині (Reactivial™) при 200°C протягом 3 годин. Охолоджену суміш виливали у 20мл води і тричі по 30мл екстрагували етилацетатом. Поєднані органічні фази сушили сульфатом магнію і випарювали під вакуумом, одержавши тверду речовину, яку розтирали з діетиловим етером, одержавши 119мг потрібної сполуки як тверду бежеву речовину.

ТШХ, R<sub>f</sub> 0,07 (циклогексан/етилацетат 1:2), визначення УФ.

MN<sup>+</sup> 384

(v) 6-дифлуорметокси-2-(4-флуорфеніл)-3-(4-метансульфонілфеніл)піразоло[1,5-b]піридазин

Розчин 0,2г 2-(4-флуорфеніл)-3-(4-метансульфонілфеніл)піразоло[1,5-b]піридазин-6-олу в мл безводного диметилформаміду обробляли 0,046г (60% дисперсія у мінеральному маслі) гідриду натрію, після закінчення виділення газу протягом 30 хвилин через суміш пропускали струм газуватого бромдифлуорметану при кімнатній температурі. Реакційну суміш виливали у 50мл води і екстрагували 50мл етилацетату. Органічну фазу тричі по 50мл промивали водою, сушили сульфатом магнію і концентрували у вакуумі, а залишок очищали хроматографією, одержавши 119мг потрібної сполуки як тверду білу речовину.

<sup>1</sup>H ЯМР (CDCl<sub>3</sub>): 8,05-8,0 (d, 2H, J=10Гц), 8,0-7,95 (d, 1H, J=10Гц), 7,6-7,5 (m, 4H), 7,8-7,2 (t, 1H, J=70Гц) 7,1-7,05 (t, 2H, J=11Гц), 6,9-6,85 (d, 1H, J=10Гц), 3,15 (s, 3H).

ТШХ, R<sub>f</sub> 0,35 (циклогексан/етилацетат 1:1), визначення УФ.

MN<sup>+</sup> 434

Приклад 2 3-(4-метансульфонілфеніл)-2-(4-метоксифеніл)піразоло[1,5-b]піридазин

(i) Метилловий естер 2-(4-метоксифеніл)піразоло[1,5-b]піридазин-3-карбонової кислоти

22,76мл (2екв) 1,8-діазабіцикло[5,4,0]ундец-7-ену під азотом краплями додали до розчину 14,46г (76мМ) метилового естеру 3-(4-метоксифеніл)проп-2-інової кислоти<sup>1</sup> та 2екв. йодиду 1-амінопіридазиніуму<sup>2</sup> у ацетонітрилі і перемішували протягом 6 годин. Очисткою хроматографією на колонці з силікагелем, елюючи толуолом, а потім толуолом/етилацетатом 9:1 одержали 2,76г потрібної сполуки як тверду коричневу речовину.

<sup>1</sup>H ЯМР (CDCl<sub>3</sub>): 3,87 (s, 3H), 3,9 (s, 3H), 7,0 (d, 2H, J=9Гц), 7,25 (dd, 1H, J=9 та 4Гц), 7,90 (d, 2H, J=9Гц), 8,45 (dd, 1H, J=4 та 2Гц), 8,55 (dd, 1H, J=9 та 2Гц).

MN<sup>+</sup> 284

Посил:<sup>1</sup> J.Morris and D.G.Wishka, Synthesis., 1994, 1, 43-6.

Посил:<sup>2</sup> Y.Kobayashi et al., Chem.Pharm.Bull., 1971, 19(10), 2106-15.

(ii) 3-(4-метансульфонілфеніл)-2-(4-метоксифеніл)піразоло[1,5-b]піридазин

2,76мл метилового естеру 2-(4-метоксифеніл)піразоло[1,5-b]піридазин-3-карбонової кислоти та 30мл водного 2Н гідроксиду натрію в 30мл етанолу під азотом гріли під зворотним холодильником протягом 2 годин. Охолоджену суміш підкислювали 2Н гідрохлоридною кислотою і фільтруванням відділяли 2,53г білої твердої речовини, яку розчинили в ДМФ та додали 2,67г (3,3екв) гідрокарбонату натрію, а потім порціями 1,88г (1,88екв) N-бромсукциніміду. Після перемішування протягом 1 години під азотом додавали воду і двічі по 25мл екстрагували етилацетатом. Висушену органічну фазу концентрували і залишок переносили в 60мл диметилетаноламіну, додавали 15мл водного 2Н карбонату натрію, потім 3,12г 4-(метансульфоніл)фенілборонової кислоти та 250мг тетракіс(трифенілфосфін)паладію(0), суміш гріли під зворотним холодильником протягом 18 годин, потім охолоджували, виливали у воду і двічі по 25мл екстрагували етилацетатом. Поєднані органічні фази сушили і концентрували над силікагелем. Хроматографією на колонці з силікагелем, елюючи толуолом/етилацетатом (8:1), одержали після концентрування 3,58г потрібної сполуки як тверду кремову речовину.

<sup>1</sup>H ЯМР (ДМСО): 3,25 (s, 3H), 3,75 (s, 3H), 6,95 (d, 2H, J=8,5Гц), 7,25 (dd, 1H, J=9 та 5Гц), 7,45 (d, 2H, J=8,5Гц), 7,60 (d, 2H, J=8Гц), 7,9 (d, 2H, J=8,5Гц), 8,15 (dd, 1H, J=9 та 2Гц), 8,49 (dd, 1H, J=5 та 2Гц).

MN<sup>+</sup> 380

Приклад 3 2-(4-етоксифеніл)-3-(4-метансульфонілфеніл)піразоло[1,5-b]піридазин

(i) 4-[3-(4-метансульфонілфеніл)піразоло[1,5-b]піридазин-2-іл]фенол

1М розчин в дихлорметані (2,1екв) триброміду бору при -70°C додали до розчину 3,58г 3-(4-метансульфонілфеніл)-2-(4-метоксифеніл)піразоло[1,5-b]піридазину у дихлорметані і перемішували протягом 10 хвилин, потім нагріли до 0°C і перемішували протягом ночі. Суміш підлужували карбонатом калію, потім підкислювали 2 М гідрохлоридною кислотою, виливали у воду і екстрагували дихлорметаном. Органічну фазу сушили, фільтрували та концентрували, одержавши 1,87г потрібної сполуки як тверду жовту речовину.

<sup>1</sup>H ЯМР (ДМСО): 3,30 (s, 3H), 6,80 (d, 2H, J=8,5Гц), 7,30 (dd, 1H, J=9 та 5Гц), 7,35 (d, 2H, J=8,5Гц), 7,60 (d, 2H, J=8Гц), 8,0 (d, 2H, J=8,5Гц), 8,20 (dd, 1H, J=9 та 2Гц), 8,55 (dd, 1H, J=5 та 2Гц), 9,75 (s, 1H).

MN<sup>+</sup> 366

(i) 2-(4-етоксифеніл)-3-(4-метансульфонілфеніл)піразоло[1,5-b]піридазин

663мг (1,82) 4-[3-(4-метансульфонілфеніл)піразоло[1,5-b]піридазин-2-іл]фенолу, йодетан (1екв) та карбонат калію (2екв) у 30мл ацетонітрилу гріли під зворотним холодильником протягом 18 годин під азотом. Охолоджену реакційну суміш розподіляли між 30мл води та 30мл етилацетату. Органічну фазу сушили і очищали хроматографією, одержавши 547мг потрібної речовини як кремову піну.

<sup>1</sup>H ЯМР (ДМСО): 1,45 (t, 3H, J=7Гц), 3,10 (s, 3H), 4,1 (q, 2H, J=7Гц), 6,87 (d, 2H, J=9Гц), 7,08 (dd, 1H, J=9 та 5Гц), 7,55 (t, 4H, J=9Гц), 7,92 (dd, 1H, J=9 та 2Гц), 7,95 (d, 2H, J=9Гц), 8,20 (dd, 1H, J=9 та 2Гц), 8,32 (dd, 1H, J=5 та 2Гц).

MN<sup>+</sup> 394

Приклад 4 2-(4-флуорфеніл)-6-метансульфоніл-3-(4-метансульфонілфеніл)піразоло[1,5-b]піридазин

(i) Метильовий естер 2-(4-флуорфеніл)-6-метансульфанілпіразоло[1,5-b]піридазин-3-карбонової кислоти

7,8г т-бутоксикарбоніл-О-мезитилсульфонілгідроксиламіну<sup>1</sup> 1-аміно-3-метоксипіридазин-1-іуму<sup>1</sup> додали порціями протягом 10 хвилин до 25мл трифлуороцтової кислоти і перемішували протягом ще 20 хвилин. Розчин виливали на приблизно 200мл льоду і залишали до розплавлення льоду, утворену білу речовину відфільтровували, промивали водою та розчиняли у 100мл диметилетаноламіну. Розчин сушили над молекулярними ситами 4А протягом 1,5 годин, фільтрували і додавали до розчину 2,6г 3-метилтіопіридазину<sup>2</sup> у 35мл дихлорметану та перемішували при кімнатній температурі протягом 20 годин. Проміжну сіль відфільтровували як світлокоричневі кристали (3,87г), суспендували в 100мл ацетонітрилу та додавали 2,02г метилового естеру 3-(4-флуорфеніл)проп-2-інової кислоти. Краплями додали 2,21мл 1,8-діазабіцикло[5,4,0]ундец-7-ену і перемішували при кімнатній температурі протягом 20 годин, утворений кристалічний осад (770мг) відфільтровували, промивали водою та сушили. Концентруванням фільтрату одержали ще 430мг. Залишок розподіляли між 100мл води та 100мл етилацетату і екстрагували водний шар 20мл етилацетату. Поєднані органічні фази промивали водою, розсолотом та сушили. Видаленням розчиннику одержали коричневе масло, яке залишок очищали хроматографією на колонці з силікагелем (300г), елюючи циклогексаном/етилацетатом (3:1), одержавши ще 247 г продукту. Три партії продукту об'єднували, одержавши потрібну сполуку як світлокоричневу тверду речовину (1,45г).

<sup>1</sup>H ЯМР (CDCl<sub>3</sub>): 2,70 (s, 3H), 3,88 (s, 3H), 7,08-7,18 (m, 3H), 7,84 (m, 2H), 8,31 (d, 1H, J=10Гц)

MN<sup>+</sup> 318

Посил:<sup>1</sup> K. Novitskii et al., Khim. Geterotskil Soedin, 1970, 2, 57-62.

Посил:<sup>2</sup> G. B. Barlin, W. V. Brown, J. Chem. Soc, 1968, (12), 1435-45.

(ii) 2-(4-флуорфеніл)-3-(4-метансульфонілфеніл)-6-метилсульфанілпіразоло[1,5-b]піридазин

Суміш метилового естеру 2-(4-флуорфеніл)-6-метансульфанілпіразоло[1,5-b]піридазин-3-карбонової кислоти та 663мг карбонату калію у 40мл метанолу та 14мл води гріли під зворотним холодильником при перемішуванні протягом 20 годин під азотом. Розчинник видаляли і утворений твердий залишок розподіляли між 250мл води та 50мл етилацетату. Водний шар підкислювали до pH 1 (2М HCl) і відфільтровували тверду фазу (1,0г, MN<sup>+</sup> 304), суміш 1,0г якої з 557мг гідрокарбонату натрію та 594мг NBS перемішували при кімнатній температурі протягом 4 годин. Суміш виливали у 150мл води і тричі по 50мл екстрагували етилацетатом. Поєднані органічні фази промивали 50мл води, 20мл розсолу та сушили і концентрували. Утворену тверду фазу (1,015г, MN<sup>+</sup> 338,340), 740мг карбонату натрію, 902мг 4-(метансульфоніл)фенілборонової кислоти та 175мг тетракіс(трифенілфосфін)паладію(0), гріли у 30мл диметилетаноламіну та 15мл води при перемішуванні під зворотним холодильником протягом 48 годин, потім виливали у воду і тричі по 50мл екстрагували етилацетатом. Поєднані органічні фази сушили і видаляли розчинник, одержавши тверду коричневу речовину, яку очищали на 300г силікагелю, елюючи циклогексаном/етилацетатом (1:1), одержавши 713мг потрібної сполуки як тверду жовту речовину.

<sup>1</sup>H ЯМР (ДМСО): 2,65 (s, 3H), 3,28 (s, 3H), 7,20-7,30 (m, 3H), 7,55 (m, 2H), 7,62 (d, 4H, J=8,5Гц), 7,95-8,05 (m,

3H).

MN<sup>+</sup> 414

(iii) 2-(4-флуорфеніл)-6-метансульфоніл-3-(4-метансульфонілфеніл)піразоло[1,5-b]піридазин

Суспензію 60мг (0,145) 2-(4-флуорфеніл)-6-метансульфоніл-6-(метилтіо)піразоло[1,5-b]піридазину у 5мл метанолу та 2мл води перемішували з 196мг (0,32) оксону протягом 20 годин. Утворений розчин виливали у 50 мл води і тричі по 20 мл екстрагували хлороформом. Поєднані органічні фази сушили і видаляли розчинник. Залишок перекристалізовували з метанолу, одержавши 60мг потрібної сполуки як тверду білу речовину.

MN<sup>+</sup> 446

<sup>1</sup>H ЯМР (DMCO-d<sub>6</sub>): δ 3,34 (s, 3H), 3,53 (s, 3H), 7,33 (t, 2H, J=9Гц), 7,62 (m, 2H), 7,68 (d, 1H, J=8,5Гц), 8,04 (d, 1H, J=10Гц), 8,52 (d, 1H, J=9Гц).

ТШХ, R<sub>f</sub> 0,24 (гексан/етилацетат 1:1), визначення УФ.

Приклад 5 2-(4-дифлуорметоксифеніл)-3-(4-метансульфонілфеніл)піразоло[1,5-b]піридазин

0,046г (60% дисперсія у мінеральному маслі) гідриду натрію додали до розчину 200мг (0,55ммоль) 4-[3-(4-метансульфонілфеніл)піразоло[1,5-b]піридазин-2-іл]фенолу в 5мл безводного диметилформаміду і протягом 20 хвилин через суміш обережно пропускали струм газуватого бромдифлуорметану, потім розбавляли 30мл дихлорметану, обробляли водою і очищали хроматографією на колонці з силікагелем, елюючи дихлорметаном/етилацетатом (10:1), одержавши 63мг (28%) потрібної сполуки як тверду білу речовину.

<sup>1</sup>H ЯМР (CDCl<sub>3</sub>): δ 8,38 (dd, 1H, J=4Гц), 8,01 (d, 2H, J=8,5Гц), 7,94 (dd, 1H, J=9Гц), 7,65 (d, 2H, J=8,5Гц), 7,10 (m, 3H), 6,87-6,27 (t, 1H, J=7,4Гц), 3,15 (s, 3H).

MN<sup>+</sup> 416

Приклад 6 4-[2-(4-етоксифеніл)піразоло[1,5-b]піридазин-3-іл]бензолсульфонамід

(i) Метилловий естер 2-(4-етоксифеніл)піразоло[1,5-b]піридазин-3-карбонової кислоти

1,47мл (2екв) 1,8-діазабіцикло[5,4,0]ундец-7-ену під азотом краплями додали до розчину 1,0г метилового естеру 3-(4-метоксифеніл)проп-2-інової кислоти та 2,19г йодиду 1-амінопіридазиніуму<sup>2</sup> у 10мл ацетонітрилу і перемішували протягом 5 годин. Концентруванням та водною обробкою одержали 1,2г потрібної сполуки як липку коричневу речовину.

MN<sup>+</sup> 298

(ii) 2-(4-етоксифеніл)піразоло[1,5-b]піридазин-3-карбонова кислота

Суміш 1,2г метилового естеру 2-(4-етоксифеніл)піразоло[1,5-b]піридазин-3-карбонової кислоти, 10мл етанолу та 10мл 2Н гідроксиду натрію гріли при 80°C протягом 1,5 годин, давали охолонути і підкислювали до pH 1 2 Н гідрохлоридною кислотою. Фільтруванням одержали 716мг (63%) потрібної сполуки як тверду коричневу речовину.

MN<sup>+</sup> 284

(iii) 2-(4-етоксифеніл)-3-іодпіразоло[1,5-b]піридазин

Суміш 710мг 2-(4-етоксифеніл)піразоло[1,5-b]піридазин-3-карбонової кислоти, 678мг N-йодсукциніміду та 717мг гідрокарбонату натрію у 8мл диметилформаміду перемішували протягом 4 годин, додали ще 100мг N-йодсукциніміду і перемішували протягом ще 2 годин. Водною обробкою одержали тверду темно-коричневу речовину, яку очищали за допомогою SPE, елюючи дихлорметаном, одержавши 429мг (47%) потрібної сполуки як тверду оранжево-коричневу речовину.

MN<sup>+</sup> 366

(iv) 4-[2-(4-етоксифеніл)піразоло[1,5-b]піридазин-3-іл]бензолсульфонамід

Суміш 311мг 4-йодбензолсульфонаміду, 279мг дипінаколдиборану<sup>1</sup>, 486мг ацетату калію 450мг хлоридного комплексу [1,1'-біс(дифенілфосфіно)фероцен]паладію(II) з дихлорметаном гріли у 8мл диметилформаміду при 80°C під азотом протягом 2 годин, суміші давали охолонути і концентрували її у вакуумі, а залишок суспендували у 10мл 1,2-диметоксетану, додавали 400мг 2-(4-етоксифеніл)-3-іодпіразоло[1,5-b]піридазину разом з 4мл 2Н карбонату натрію та 20мг тетракіс(трифенілфосфін)паладію(0) і гріли під зворотним холодильником протягом 18 годин під азотом, потім охолоджували, виливали у 60мл води і тричі по 60мл екстрагували етилацетатом. Поєднані органічні фази сушили сульфатом натрію і концентрували. Залишок очищали хроматографією, елюючи дихлорметаном/етилацетатом (3:1), одержавши 116мг (27%) потрібної сполуки як тверду жовту речовину.

<sup>1</sup>H ЯМР (CDCl<sub>3</sub>): δ 8,32 (del, 1H, J=4 та 2Гц), 7,97 (d, 2H, J=8Гц), 7,89 (dd, 1H, J=9 та 2Гц), 7,54 (m, 4H), 7,04 (dd, 1H, J=9 та 4Гц), 6,88 (d, 2H, J=9Гц), 1,43 (t, 3H, J=7Гц).

MN<sup>+</sup> 395

Посил:<sup>1</sup> R.Miyaura et al., J.Org.Chem., 1995, 60, 7508-7510.

Приклад 7 6-дифлуорметокси-2-(3-флуорфеніл)-3-(4-метансульфонілфеніл)піразоло[1,5-b]піридазин

(i) 1-(2,2-дибромфеніл)-3-флуорбензол

До охолодженого льодом з сіллю розчину 48,82г тетраброміду карбону у 200мл безводного дихлорметану протягом 3 хвилин порціями додали 77,1г трифенілфосфіну, підтримуючи температуру нижче 10°C. Утворену оранжеву суспензію перемішували при 0°C протягом 1 години, а потім додали 7,8мл 3-флуорбензальдегіду і перемішували суспензію при 0°C протягом 1 години, після чого гасили додаванням 75 мл води. Органічну фазу відокремлювали, промивали 75мл розсолу, сушили сульфатом натрію та випарювали досуха. Гумоподібний залишок переносили у 1л циклогексану і перемішували протягом 30 хвилин. Органічну фазу декантували, а залишок переносили у дихлорметан і виливали у 1л циклогексану. Цю операцію повторювали ще двічі, поєднані органічні фази концентрували приблизно до 100мл і пропускали через силікагель. Фільтрат концентрували, одержавши 24г (100%) потрібної сполуки як рідке жовте масло.

<sup>1</sup>H ЯМР (CDCl<sub>3</sub>): δ 7,05 (tm, 1H, J=9Гц), 7,3 (m, 3H), 7,45 (s, 1H).

MN<sup>+</sup> 280, MN<sup>+</sup> 279

(II) Метилловий естер (3-флуорфеніл)пропінової кислоти

До охолодженого до -78°C розчину 23,8г 1-(2,2-дибромвініл)-3-флуорбензолу в 350мл безводного

тетрагідрофурану краплями при перемішуванні додали протягом 30 хвилин 1,6М розчин н-бутиллітію(2,2екв) в гексані, перемішували ще 30 хвилин і при -78°C додали 11,6г (9,5мл) метилхлорформіату, утвореній суміші протягом 1 години дали нагрітися до 0°C, а потім розбавили її 100мл 1:1 насиченого водного розчину гідрокарбонату натрію:хлориду амонію і двічі по 100мл екстрагували ефіром. Поєднані органічні фази промивали 25мл розсолу, сушили сульфатом натрію та випарювали досуха, одержавши 16,7г (100%) потрібної сполуки як коричневе масло.

<sup>1</sup>H ЯМР (CDCl<sub>3</sub>): δ 7,4-7,1 (m, 4H), 3,85 (s, 3H, COOMe).

MN<sup>+</sup> 173

(iii) Метилловий естер 2-(3-флуорфеніл)-6-метоксипіразоло[1,5-b]піридазин-3-карбонової кислоти

5мл 1,8-діазабіцикло[5,4,0]ундец-7-ену при перемішуванні додали до охолодженої суміші 2,67г метилового естеру (3-флуорфеніл)пропінової кислоти та 4,89г мезитиленсульфонату 1-аміно-3-метоксипіридазин-1-іуму у 80мл ацетонітрилу і перемішували при 0°C протягом 1 години, а потім при кімнатній температурі протягом 18 годин. Суміш концентрували у вакуумі та розподіляли між 150мл води та 150мл етилацетату. Водну фазу відділяли і двічі по 100мл екстрагували етилацетатом. Поєднані органічні фази двічі по 50мл промивали водою 25мл розсолу, сушили сульфатом магнію, фільтрували та випарювали у вакуумі, одержавши тверду речовину, яку розтирали і безводному ефірі:петролейному ефірі (2:1), одержавши 2,4г (53%) потрібної сполуки як тверду коричневу речовину.

<sup>1</sup>H ЯМР (CDCl<sub>3</sub>): δ 12,8 (br.s, 1H) 8,4 (d, 1H, J=10Гц), 7,6-7,7 (m, 2H), 7,42 (q, 1H, J=8Гц), 7,15 (td, 1H, J=8 та 3Гц), 6,95 (d, 1H, J=10Гц), 4,1 (s, 3H), 3,88 (s, 3H).

MN<sup>+</sup> 302

(iv) 2-(3-флуорфеніл)-6-метоксипіразоло[1,5-b]піридазин-3-карбонова кислота

50мл 2 Н гідроксиду натрію додали до розчину 2,3г метилового естеру 2-(3-флуорфеніл)-6-метоксипіразоло[1,5-b]піридазин-3-карбонової кислоти в 50мл абсолютного етанолу і гріли під зворотним холодильником протягом 3 годин. Охолоджену суміш повільно виливали у 300мл 2 Н розчину гідрохлоридної кислоти і утворену суспензію перемішували при кімнатній температурі протягом 1 години, фільтрували і промивали фільтр водою, а потім сушили у вакуумі при 60°C, одержавши 2,0г (91%) потрібної сполуки як тверду білувату речовину.

<sup>1</sup>H ЯМР (DMCO): δ 8,45 (d, 1H, J=10Гц), 7,67 (m, 2H), 7,5 (q, 1H, J=7Гц), 7,3 (td, 1H, J=7 та 2Гц), 7,21 (d, 1H, J=10Гц), 4,0 (s, 3H).

MN<sup>+</sup> 288

(v) 3-бром-2-(3-флуорфеніл)-6-метоксипіразоло[1,5-b]піридазин

При перемішуванні до розчину 2,0г метилового естеру 2-(3-флуорфеніл)-6-метоксипіразоло[1,5-b]піридазин-3-карбонової кислоти у 20мл безводного диметилформаміду додали 1,78г н-бромсукциніміду і розчин перемішували при кімнатній температурі протягом 3 годин, потім розбавляли суміш 800 мл етилацетату і промивали послідовно водою, 10 разів по 100мл, 35мл насич.розсолу, сушили сульфатом натрію та концентрували, одержавши 2,1г (93%) потрібної сполуки як тверду темно-жовту речовину.

<sup>1</sup>H ЯМР (CDCl<sub>3</sub>): δ 7,9 (m, 2H), 7,8 (q, 1H, J=10Гц), 7,45 (m, 1H), 7,1 (td, 1H, J=8 та 2Гц), 6,78 (d, 1H, J=10Гц), 4,1 (s, 3H).

MN<sup>+</sup> 323, MN<sup>-</sup> 321

(vi) 6-дифлуорметокси-2-(3-флуорфеніл)піразоло[1,5-b]піридазин

Частинами (400мг, усього 2,1г) 3-бром-2-(3-флуорфеніл)-6-метоксипіразоло[1,5-b]піридазину ввели в окремі реакційні посудини з магнітними мішалками і додали до кожної по 10екв. гідрохлориду піридину, посудини герметизували і гріли при 300°C протягом 3 годин, давали посудинам охолонути приблизно до 140°C, відкривали їх і виливали вміст у воду з льодом. Утворену суміш тричі по 100мл екстрагували етилацетатом, поєднані органічні фази промивали водою, 7 разів по 75мл, сушили сульфатом натрію та концентрували, одержавши 1,0г (MN<sup>+</sup> 230) твердої коричневої речовини, яку розчиняли в 10мл безводного диметилформаміду та порціями додавали по 200мг (60% дисперсія у мінеральному маслі) гідриду натрію, перемішували при кімнатній температурі протягом 20 хвилин і переносили у невеликий охолоджений автоклав, куди додавали 5мл попередньо конденсованого при -30°C бромдифлуорметану, автоклав, герметизували, давали нагрітися до кімнатної температури та перемішували протягом 36 годин. Реакційну суміш розбавляли 200мл етилацетату. Органічну фазу 10 разів по 20мл промивали водою, сушили сульфатом натрію і концентрували, а гумоподібний залишок очищали флеш-хроматографією з циклогексаном/етилацетатом як елюентом, одержавши 652мг (60%) потрібної сполуки як тверду речовину.

MN<sup>+</sup> 280, MN<sup>-</sup> 278

<sup>1</sup>H ЯМР (DMCO): δ 8,42 (d, 1H, J=10Гц), 7,85 (d, 1H, J=8Гц), 7,78 (t, 1H, J=70Гц), 7,55 (q, 1H, J=8Гц), 7,38 (s, 1H), 7,25 (m, 1H), 7,17 (d, 1H, J=10Гц).

(vii) 3-бром-6-дифлуорметокси-2-(3-флуорфеніл)піразоло[1,5-b]піридазин

195мг N-бромсукциніміду додали до розчину 251мг 6-дифлуорметокси-2-(3-флуорфеніл)-3-(4-метансульфонілфеніл)піразоло[1,5-b]піридазину та 185мг гідрокарбонату натрію у 10мл безводного диметилформаміду і перемішували протягом 18 годин, розбавляли суміш 300мл етилацетату та 10 разів по 20мл промивали водою, 20мл розсолу, сушили сульфатом натрію і концентрували, одержавши 293мг (91%) потрібної сполуки як тверду речовину.

MN<sup>+</sup> 359, MN<sup>-</sup> 356/357

<sup>1</sup>H ЯМР (DMCO): δ 8,36 (d, 1H, J=10Гц), 7,88 (d, 1H, J=8Гц), 7,78 (t, 1H, J=70Гц, OCH<sub>2</sub>F<sub>2</sub>), 7,77 (dm, 1H, J=10Гц), 7,62 (dt, 1H, J=8 та 6Гц), 7,38 (dt, 1H, J=9 та 2Гц), 7,3 (d, 1H, J=10Гц).

(viii) 6-дифлуорметокси-2-(3-флуорфеніл)-3-(4-метансульфонілфеніл)піразоло[1,5-b]піридазин

При перемішуванні до розчину 286мг 6-дифлуорметокси-2-(3-флуорфеніл)піразоло[1,5-b]піридазину у 20мл диметилформаміду додали 10мл водного 2 Н розчину карбонату натрію, а далі 180мг 4-(метансульфоніл)фенілборонової кислоти та 34мг тетракіс(трифенілфосфін)паладію(0), суміш при

перемішуванні гріли під зворотним холодильником протягом 18 годин, потім розбавляли 300мл етилацетату, органічну фазу 10 разів по 30мл промивали водою, 30мл розсолу, сушили сульфатом натрію і випарювали, одержавши гумоподібну речовину, яку очищали флеш-хроматографією на колонці з силікагелем, елюючи хлороформом/етилацетатом (50:1→5:1), одержавши комбінуванням прийнятних фракцій та концентруванням 132мг (37%) потрібної сполуки як тверду білувату речовину.

$MH^+$  434

$^1H$  ЯМР ( $CDCl_3$ ):  $\delta$  8,02 (d, 1H,  $J=9$ Гц), 7,95 (d, 2H,  $J=10$ Гц), 7,58 (d, 1H,  $J=9$ Гц), 7,52 (t, 1H,  $J=70$ Гц), 7,32 (m, 3H), 7,08 (m, 1H), 6,9 (d, 1H,  $J=9$ Гц), 3,15 (s, 3H).

Біологічні дані

Інгібуючу активність проти ЦОГ-1 та ЦОГ-2 людина визначали на COS-клітинах, які були стійко трансфетовані кДНК для ЦОГ-1 людини та ЦОГ-2 людини. За 24 години до експерименту COS-клітини переносили зі склянки на 175мл, в якій вони росли, на 24-коміркові планшети клітинної культури таким способом. Інкубаційне середовище (модифіковане яєчне середовище Дульбекко (МЯСД), доповнене інактивованою термообробкою сироваткою зародка теляти (10% за масою), пеніциліном (100од/мл), стрептоміцином (100мкг/мл) та геметицином (600мкг/мл)) видаляли зі склянки з розвиненими клітинами (1 склянка при розвиненні містить приблизно  $1 \times 10^7$  клітин). Для промивки клітин в склянку додавали 10мл буферованого фосфатом фізіологічного розчину (БФР). Після відділення БФР клітини промивали 10мл трипсину протягом 20с, після чого трипсин видаляли і склянку переносили в інкубатор (37°C) на 1-2 хвилини, поки клітини не відділялися від стінок. Потім склянку видаляли з інкубатору і клітини ресуспендували в 10мл свіжого інкубаційного середовища. Вміст склянки переносили у стерильний контейнер на 250мл та доводили об'єм інкубаційного середовища до 100мл. 1мл суспензії клітин переносили піпеткою у кожну комірку 4×24-коміркових планшетів клітинної культури. Далі планшети переносили в інкубатор (37°C, 95% повітря/5%  $CO_2$ ) на ніч. За потребою більше 1 склянки з клітинами, клітини з кожної склянки перед переносом на 24-коміркові планшети об'єднували.

Після інкубування протягом ночі інкубаційне середовище з 24-коміркових планшетів клітинної культури повністю видаляли та заміщували 250мкл свіжого МЯСД (37°C). Концентрація досліджуваних сполук була 250×тестовою концентрацією в ДМСО і її додавали у комірки в об'ємі 1мкл. Планшети далі обережно перемішували крученням і розміщали на 1 годину в інкубаторі (37°C, 95% повітря/5%  $CO_2$ ), після цього до кожної комірки додавали 10мкл (750мкМ) арахідонової кислоти, отримуючи кінцеву концентрацію арахідонової кислоти 30мкМ. Планшети далі інкубували ще 15 хвилин, після цього інкубаційне середовище з кожної комірки планшета видаляли і зберігали при -20°C до визначення вмісту простагландину  $E_2$  (ПГЕ2) ферментним імуноаналізом. Інгібувальну потужність тест-сполук вражали величинами  $IK_{50}$  - концентрації сполуки, при якій вивільнення ПГЕ2 з клітини інгібується на 50%. Селективне співвідношення інгібування ЦОГ-1 у порівнянні з ЦОГ-2 розраховували порівнянням відповідних значень  $IK_{50}$ .

Нижченаведені значення  $IK_{50}$  інгібування ЦОГ-1 та ЦОГ-2 отримані для сполук згідно з винаходом.

№ прикладу	ЦОГ-2: $IK_{50}$ (нМ)	ЦОГ-1: $IK_{50}$ (нМ)
1(v)	35	>100000
2(ii)	<10	3880
3(ii)	3	>100000
4(iii)	370	>100000
5	21	>100000
6(iv)	0,44	3828
7(viii)	16	>55200