



(19)
Bundesrepublik Deutschland
Deutsches Patent- und Markenamt

(10) **DE 698 14 471 T2 2004.04.08**

(12) **Übersetzung der europäischen Patentschrift**

(97) **EP 1 053 218 B1**

(51) Int Cl.7: **C07C 33/48**

(21) Deutsches Aktenzeichen: **698 14 471.6**

(86) PCT-Aktenzeichen: **PCT/EP98/07481**

(96) Europäisches Aktenzeichen: **98 965 684.8**

(87) PCT-Veröffentlichungs-Nr.: **WO 99/029645**

(86) PCT-Anmeldetag: **20.11.1998**

(87) Veröffentlichungstag
der PCT-Anmeldung: **17.06.1999**

(97) Erstveröffentlichung durch das EPA: **22.11.2000**

(97) Veröffentlichungstag
der Patenterteilung beim EPA: **07.05.2003**

(47) Veröffentlichungstag im Patentblatt: **08.04.2004**

(30) Unionspriorität:

MI972696 05.12.1997 IT

(84) Benannte Vertragsstaaten:

**AT, BE, CH, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LI,
LU, NL, PT, SE**

(73) Patentinhaber:

Zambon Group S.p.A., Vicenza, IT

(72) Erfinder:

**NAPOLETANO, Mauro, I-20127 Milano, IT; VILLA,
Marco, I-20125 Milano, IT; BELLI, Aldo, I-20040
Cornate D'Adda, IT; GRANCINI, Giancarlo, I-20054
Nova Milanese, IT; CONTINANZA, Biase, I-20125
Milano, IT**

(74) Vertreter:

**WINTER, BRANDL, FÜRNISS, HÜBNER, RÖSS,
KAISER, POLTE, Partnerschaft, 85354 Freising**

(54) Bezeichnung: **DIOL-VERBINDUNGEN ALS ZWISCHENVERBINDUNGEN FÜR DIE HERSTELLUNG VON ANTIMY-
KOTISCHEN VERBINDUNGEN**

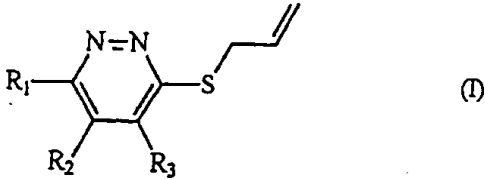
Anmerkung: Innerhalb von neun Monaten nach der Bekanntmachung des Hinweises auf die Erteilung des europäischen Patents kann jedermann beim Europäischen Patentamt gegen das erteilte europäische Patent Einspruch einlegen. Der Einspruch ist schriftlich einzureichen und zu begründen. Er gilt erst als eingelegt, wenn die Einspruchsgebühr entrichtet worden ist (Art. 99 (1) Europäisches Patentübereinkommen).

Die Übersetzung ist gemäß Artikel II § 3 Abs. 1 IntPatÜG 1991 vom Patentinhaber eingereicht worden. Sie wurde vom Deutschen Patent- und Markenamt inhaltlich nicht geprüft.

Beschreibung

TECHNISCHES GEBIET

[0001] Die vorliegende Erfindung betrifft ein neues Allylthiopyridazinderivat, dargestellt durch die Formel (I), welches eine überlegene Wirkung für die Vorbeugung und Behandlung von hepatitischen Krankheiten aufzeigt, die durch toxische Substanzen induziert sind und für den Schutz von humanen Geweben vor Strahlung:



oder ein pharmazeutisch akzeptables Salz davon, wobei R_1 ein Halogenatom, C_1 - C_4 Alkoxy, n-Pentyloxy, i-Pentyloxy, Dialkylaminoalkoxy, Hydroxyalkoxy, Phenoxy substituiert oder nicht substituiert mit Methyl, Benzyl-alkoxy oder Phenyl darstellt, und R_2 und R_3 unabhängig voneinander Wasserstoff oder Methyl oder R_2 und R_3 gemeinsam in einem Kohlenstoffatom mit welchem sie verbunden sind, einen gesättigten oder ungesättigten 6-gliedrigen Ring bilden, darstellen, vorausgesetzt, daß R_2 und R_3 nicht Wasserstoff sind, wenn R_1 Chlor ist.

[0002] Zusätzlich betrifft die Erfindung ein Verfahren zum Herstellen der Verbindung der Formel (I) wie oben, ein neues Intermediat, das bei diesen Verfahren verwendet wird und eine pharmazeutische Zusammensetzung, die die Verbindung der Formel (I) als effektiven Bestandteil enthält.

HINTERGRUND UND STAND DER TECHNIK

[0003] Oltipraz erhöht die Expressionsrate von mikrosomaler Epoxidhydrolase (mEH) und Glutathione S-Transferasen (GST), intrazellulären Oxidoreduktasen, und erhöht so deren Spiegel in Zellen. Oltipraz war bekannt dafür, das zelluläre Gewebe vor Strahlung zu schützen (siehe S. G. Kim, et al., *Molekular Pharmacology*, 51, 225–233, 1997; S. Y. Nam, et al., *Radiation Research*, 147, 613–620, 1997]. D. h., es kann bemerkt werden, daß der Anstieg der intrazellulären Expressionsrate von mEH und GST eng mit dem Schutz von Zellen vor Strahlung in Verbindung steht. Weiterhin wurde allgemein erkannt, daß der Anstieg der intrazellulären Expressionsrate von mEH und GST ebenso mit dem Schutz des menschlichen Körpers vor toxischen Substanzen in Verbindung steht [siehe Ansher et al., *Hepatology*, 3, 932–935, 1983; Lu & Miwa, *Annual Review of Pharmacology and Toxicology*, 20, 513–531, 1980].

[0004] Es wurde berichtet, daß der Gewebeschaden, der durch toxische Substanzen, so wie Acetaminophen oder Kohlenstofftetrachlorid induziert wurde, eine enge Beziehung zu der Aktivität von Cytochrom P450 2E1 hat, welches solche toxische Substanzen metabolisiert [siehe S. K. Kim et al., *J. Pharmacol. Exp. Therap.* 277, 1058, 1996]. Daher tritt ernsthafter hepatitischer Schaden sogar bei niedriger Konzentration von Kohlenstofftetrachlorid auf, wenn Laborratten mit Pyridin, einem Cytochrom P450 2E1-Derivat behandelt werden. Daher wurde erwartet, daß wenn die Aktivität von Cytochrom P450 2E1 effektiv inhibiert werden kann, daß dann der Gewebeschaden an menschlichen Organen (insbesondere Leber) aufgrund von toxischen Substanzen vermieden werden könnte und aus dem selben Grund könnte der menschliche Körper ebenso von oncogenen Substanzen, Strahlung, Antitumorchemotherapeutika, usw. gegenüber des Dünndarms, des Dickdarms, der Gallenblase, der Bronchien, der Bauchspeicheldrüse, der Brustdrüse und der Haut geschützt werden.

[0005] Als eines der therapeutischen Mittel, die gegenwärtig auf dem klinischen Gebiet für die Vorbeugung und Behandlung von hepatitischen Krankheiten, induziert durch toxische Substanzen, verwendet werden, wurde für Malotilat gezeigt, daß es eine gute Wirkung hinsichtlich des Vorbeugens und des Behandeln von hepatitischen Krankheiten, die durch Kohlenstofftetrachlorid und Acetaminophen induziert wurden, besitzt. Zusätzlich wurde ebenfalls erkannt, daß Diallylsulfid und Allicin als eine der aromatischen Substanzen in Knoblauchöl den Effekt des Inhibierens von Oncogenese aufgrund von 1,2-Dimethylhydrazin haben und die Leber vor der Hepatotoxizität des 1,2-Dimethylhydrazins schützen.

[0006] Da die vorliegenden Erfinder viel technisches Wissen über den konventionellen Stand der Technik haben, haben sie die Möglichkeit in Erwägung gezogen, daß die Allylthiogruppe eine wichtige Rolle beim Schützen von humanen Organen und vor toxischen Substanzen oder vor Strahlung spielen könnte, und daß durch Erhöhen der intrazellulären Expression von mEH und GST gleichzeitig die Aktivität von Cytochrom P450 2E1 wie oben erwähnt effektiv inhibiert wird. Daher haben wir ausführlich eine Studie ausgeführt, um eine Vielzahl von Verbindungen, die eine Allylthiogruppe aufweisen, neu zu synthetisieren und deren pharmakologische Aktivitäten zu untersuchen. Als ein Ergebnis haben wir identifiziert, daß die Verbindung der Formel (I), wie oben definiert, in welcher eine Allylthiogruppe als eine pharmakologisch aktive Gruppe in den Pyridazinnucleus eingeführt wird und ein Substituent, so wie Halogen, Alkoxy, usw. in die Para-Position der Allylthiogruppe einge-

führt wird, menschliche Gewebe vor Strahlung und aktiven toxischen Substanzen durch Erhöhen der Expression von mEH und GST und gleichzeitig durch Inhibieren der Expression von methabolischen Enzymen schützen kann.

OFFENBARUNG DER ERFINDUNG

[0007] Dementsprechend betrifft die vorliegende Erfindung eine neue Allylthiopyridazinverbindung der Formel (I) wie oben definiert oder ein pharmazeutisch akzeptables Salz davon.

[0008] Weiterhin betrifft die vorliegende Erfindung ein Verfahren zur Herstellung der Verbindung der Formel (I).

[0009] Zusätzlich betrifft die vorliegende Erfindung eine pharmazeutische Zusammensetzung für die Vorbeugung und Behandlung von hepatitischen Krankheiten, welche eine effektive Menge der Verbindung der Formel (I) oder dessen Salz gemeinsam mit einem pharmazeutisch akzeptablen Träger umfaßt.

[0010] Auch betrifft die vorliegende Erfindung eine pharmazeutische Zusammensetzung zum Schützen von humanen Geweben vor Strahlung, welche eine effektive Menge der Formel (I) oder deren Salz gemeinsam mit einem pharmazeutisch akzeptablen Träger umfaßt.

KURZE BESCHREIBUNG DER ZEICHNUNG

[0011] Für ein gründliches Verständnis der Natur und der Gegenstände der vorliegenden Erfindung sollte Bezug auf die folgende Beschreibung gemeinsam mit der begleitenden Zeichnung genommen werden, in welcher:

[0012] **Fig. 1** das Ergebnis einer Northern Blot Analyse zum Messen eines Anstiegs der mRNA von mikrosomaler Epoxydhydrolase in Lebergewebe 24 Stunden nach der Verabreichung der erfindungsgemäßen Verbindung zeigt;

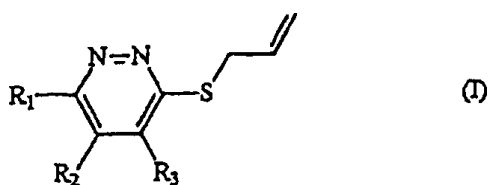
[0013] **Fig. 2** das Ergebnis einer Northern Blot Analyse zum Messen eines Anstiegs der mRNA von Glutation S-Transferase A2 in Lebergewebe 24 Stunden nach der Verabreichung der erfindungsgemäßen Verbindung zeigt; und

[0014] **Fig. 3** die Überlebensrate von Mäusen während 30 Tagen mit 8 Gy Bestrahlung zeigt, nachdem ihnen die Verbindung von Beispiel 4 (K6) oder Beispiel 8 (K16) gemäß der vorliegenden Erfindung verabreicht wurde.

BESTES VERFAHREN ZUM AUSFÜHREN DER ERFINDUNG

[0015] Hiernach wird die vorliegende Erfindung genauer erklärt werden.

[0016] Die vorliegende Erfindung betrifft eine neue Allylthiopyridazinverbindung, dargestellt durch die Formel (I), welche eine überlegene Wirkung bei der Vorbeugung und bei der Behandlung von hepatitischen Krankheiten aufzeigt, die durch toxische Substanzen induziert werden, und für den Schutz von humanen Geweben vor Strahlung aufzeigt:



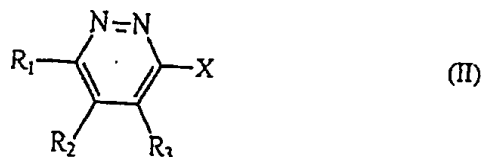
oder ein pharmazeutisch akzeptables Salz davon, in welchem R₁ ein Halogenatom, C₁-C₄ Alkoxy, n-Pentyloxy, i-Pentyloxy, Dialkylaminoalkoxy, Hydroxyalkoxy, Phenoxy substituiert oder nicht substituiert mit Methyl, Benzyl oder Phenyl darstellt, und R₂ und R₃ unabhängig voneinander Wasserstoff oder Methyl darstellen oder R₂ und R₃ gemeinsam mit einem Kohlenstoffatom, mit welchem sie verbunden sind, einen gesättigten oder ungesättigten 6-gliedrigen Ring bilden, vorausgesetzt, daß R₂ und R₃ anders als Wasserstoff sind, wenn er R₁ ein Chlor ist.

[0017] Unter den Verbindungen der Formel (I), die eine überlegene pharmakologische Wirkung haben, beinhalten die bevorzugten Verbindungen diejenigen, bei denen R₁ Chlor, Methoxy, Etoxy, n-Propoxy, 2-Propoxy, n-Butoxy, 2-Butoxy, t-Butoxy, n-Pentyloxy, i-Pentyloxy, 2-(N,N-Dimethylamino)ethoxy, 2-Hydroxyethoxy, Phenoxy, Benzyl, 4-Methylphenoxy, 3-Methylphenoxy, 2-Methylphenoxy oder Phenyl darstellt und R₂ und R₃ unabhängig voneinander Wasserstoff oder Methyl darstellen oder R₂ und R₃ gemeinsam mit dem Kohlenstoffatom mit welchem sie verbunden sind, einen gesättigten oder ungesättigten 6-gliedrigen Ring bilden.

[0018] Die pharmazeutisch akzeptablen Salze der Verbindung (I) gemäß der vorliegenden Erfindung können pharmazeutisch akzeptable Säureadditionssalze, so wie Asparaginat, Glukanat, Glutamat, p-Toluolsulfonat oder Citrat beinhalten, Salze mit Alkalimetallen, so wie Natrium, Kalium oder Lithium beinhalten oder Salze mit

anderen Säuren oder Basen beinhalten, von welchen bekannt ist, daß sie konventionell für Verbindungen, so wie Dialylsulfid, Allicin, usw. verwendet werden. Diese Salze können leicht durch konventionelle Transformationsverfahren aus der freien Verbindung der Formel (I) hergestellt werden.

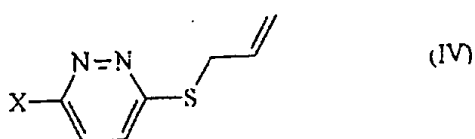
[0019] Zusätzlich kann die Verbindung der Formel (I) gemäß der vorliegenden Erfindung durch ein Verfahren hergestellt werden, das dadurch gekennzeichnet ist, daß (A) eine Verbindung der Formel (II):



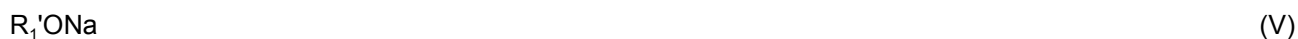
wobei R_1 , R_2 und R_3 definiert sind wie oben und X ein Chlor repräsentiert, mit einer Verbindung der Formel (III):



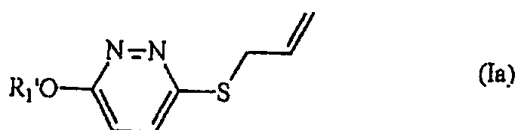
in einem Lösungsmittel in der Gegenwart einer Base umgesetzt wird, um die Verbindung der Formel (I) herzustellen; oder (b) eine Verbindung der Formel (IV):



wobei X Chlor repräsentiert, mit einer Verbindung der Formel (V):



umgesetzt wird, wobei R_1' $\text{C}_1\text{-C}_4$ Alkyl, n-Pentyl, i-Pentyl, Dialkylaminoalkyl, Hydroxyalkyl, Phenyl substituiert oder nicht substituiert mit Methyl oder Benzyl darstellt, in einem Lösungsmittel um eine Verbindung der Formel (Ia):



herzustellen, wobei R_1' wie oben definiert ist.

[0020] Dementsprechend ist ein anderer Zweck der vorliegenden Erfindung, solch ein Verfahren zum Herstellen der Verbindung der Formel (I) zur Verfügung zu stellen.

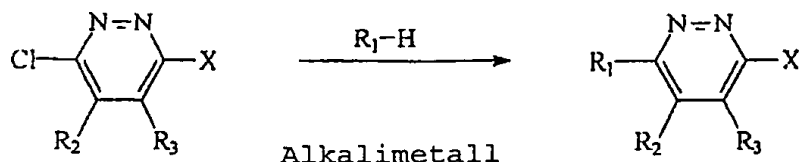
[0021] Bei der Variante (a) kann das Lösungsmittel aus Methanol, Ethanol, Aceton, Methylethylketon oder einer Mischung daraus ausgewählt werden; und die Base kann ausgewählt werden aus der Gruppe bestehend aus Alkalimetallen so wie Natrium, Kalium, Lithium, usw. vorzugsweise wird die Umsetzung für ein bis 24 Stunden unter Rückfluß unter Erhitzung ausgeführt.

[0022] Das Lösungsmittel, welches bei der Variante (b) verwendet werden kann, kann das selbe sein, wie diejenigen, die bei der Variante (a) oben erwähnt sind. Die Verbindung der Formel (V) verwendet als Reaktant bei diesem Verfahren, wird hergestellt durch Umsetzen von Natrium mit einer Verbindung der Formel $\text{R}_1'\text{OH}$ in dem Umsetzungsgefäß und wird dann augenblicklich für die Umsetzung mit der Verbindung der Formel (IV) verwendet. Die Umsetzung wird 24 Stunden lang unter Rückfluß mit Erhitzen ausgeführt.

[0023] Zwischenzeitlich ist die Verbindung der Formel (II), die als Ausgangsmaterial bei der Variante (a) verwendet wird, eine neue Verbindung. Daher ist weiterhin ein anderer Zweck der vorliegenden Erfindung, die neue Verbindung der Formel (III), wie oben definiert zur Verfügung zu stellen.

[0024] Die Verbindung der Formel (II) kann durch ein Verfahren hergestellt werden, das in den folgenden Umsetzungsschemas 1 und 2 gezeigt ist. Das spezifische Verfahren kann in den Herstellungsbeispielen, die hierunter beschrieben sind, gesehen werden.

Umsetzungsschema 1

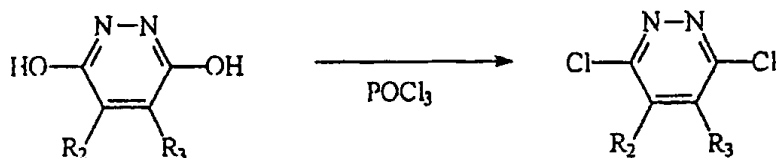


[0025] Bei dem obigen Umsetzungsschema sind R_1 , R_2 , R_3 und X wie oben definiert.

[0026] Bei dem obigen Umsetzungsschema 1 wird die Verbindung der Formel R_1H , die zu der Umsetzungslösung hinzugefügt wird, mit einem Alkalimetall umgesetzt, um das Alkalimetallsalz zu bilden, und das resultierende Alkalimetallsalz wird mit dem Ausgangsmaterial umgesetzt, um die Verbindung der Formel (II) herzustellen. Diese Umsetzung wird im Allgemeinen bei Raumtemperatur oder unter Erwärmen ausgeführt. Die Umsetzung kann innerhalb von 30 Minuten bis zu 12 Stunden abgeschlossen werden.

[0027] Alternativ kann die Verbindung der Formel (II), wobei die reaktive Abgangsgruppe Chlor ist und die R_1 Position ebenso mit Chlor substituiert ist, durch Umsetzen der Verbindung, wobei beide der 3- und 6-Positionen des Pyridazinsrings mit Hydroxyl substituiert sind mit Phosphoroxychlorid (POCl_3) hergestellt werden, wie gezeigt in dem folgenden Reaktionsschema 2. Bei diesem Verfahren wird die Umsetzung 5–10 Stunden unter Rückfluß mit Erhitzen ausgeführt.

Umsetzungsschema 2



[0028] Bei dem obigen Reaktionsschema sind R_2 und R_3 wie oben definiert.

[0029] Die Verbindung der Formel (IV) ($\text{X}=\text{Cl}$), verwendet als Ausgangsmaterial bei der Umsetzungsvariante (b) zum Herstellen der Verbindung der Formel (I), ist eine bekannte Verbindung und kann hergestellt werden unter Bezugnahme auf das Verfahren, daß in der Literatur offenbart ist [siehe M. Kocivar et al., Croat. Chem. Acta., 45, 457, 1973].

[0030] Um die Wirkung der Allylthiopyridazinderivate gemäß der vorliegenden Erfindung auf die Expressionsrate von mEH und GST zu bestätigen, haben die vorliegenden Erfinder die Menge der mRNA von mEH und GSTA2, die im Lebergewebe nach einer gewissen Zeitperiode ab der oralen Verabreichung der entsprechenden Verbindung an Mäuse gemäß Northern Blot Analyse (siehe **Fig. 1** und **2**) quantifiziert. Als ein Ergebnis konnten wir einen signifikanten Anstieg bei der Expressionsrate der mRNA beobachten. Solch eine mRNA erhöhende Wirkung der Verbindung der Formel (I) wird betrachtet als einen direkten Bezug zu der Wirkung für die Vorbeugung und Behandlung von hepatischen Krankheiten, die durch toxische Substanzen induziert sind, und zu dem Schutz von humanem Gewebe vor Bestrahlung habend. Daher haben die vorliegenden Erfinder das folgende Experiment ausgeführt, um die Wirkungen der Verbindung der Formel (I) für die Vorbeugung und für die Behandlung von hepatischen Krankheiten und zum Schutz von humanem Gewebe vor Bestrahlung zu bestimmen.

[0031] Zunächst wurden die Wirkungen des Allylthiopyridazinderivates der Formel (I) zur Vorbeugung und bei der Behandlung von hepatischen Krankheiten unter Verwendung des Kohlenstofftetrachloridmodells und des Acetaminophenmodells untersucht.

[0032] Das Kohlenstofftetrachloridmodell [siehe Philippe Letteron et al., Biochemical Pharmacology, 39, 12, 2027–2034, 1990] wird am häufigsten als ein experimentelles Modell für hepatische Fehlzustände verwendet und wurde auf der Basis der Tatsache etabliert, daß Kohlenstofftetrachlorid in freie Trichlormethylradikale ($\text{CCl}_3 \cdot$), ein sehr toxisches Metabolit, durch die Wirkung von Cytochrom P-450 im Körper umgewandelt wird. Dieser Metabolit bindet stark an Thiolgruppen von microsomalem Membranprotein in der Leber, um ein Lipidradikal zu produzieren, welches dann in ein Peroxidradikal in Gegenwart von Sauerstoff umgewandelt wird und dabei die Peroxidierungsumsetzung der Membranlipide stimuliert. D. h. Kohlenstofftetrachlorid inhibiert Proteinsynthese in der Leber, erhöht Blut ALT (Alaninaminotransferase) und verursacht zentrilobuläre Nekrose der Leberzellen.

[0033] Zusätzlich können die leberschützenden Wirkungen der Verbindung der vorliegenden Erfindung ebenso durch das Acetaminophenmodell bestätigt werden [siehe Wang et al., Toxicology and Applied Pharmacology, 136, 146–154, 1996]. Acetaminophen wird leicht durch CYP2E1 metabolisiert, um hepatische Toxizität zu verursachen, welche in struktureller und funktionalen Veränderungen in der zellulären Membran der Leber resultiert, was Nekrose in hepatischen Lobule, einen Anstieg an Blut ALT und des LDH (Lactatdehydrogenase)

Spiegels verursacht.

[0034] In der vorliegenden Erfindung wurde der inhibierende Effekt der Verbindung der Formel (I) auf hepatische Fehlzustände, induziert durch Kohlentetrachlorid und Acetaminophen, nach dreitägiger oraler Verabreichung der neuen Verbindung gemäß der vorliegenden Erfindung an Mäuse als Versuchstiere bestimmt. Der Grad der Leberschädigung in dem entsprechenden Experimentiertier wurde bestimmt durch Messen der ALT und LDH Spiegel im Blut [siehe Biol. Pharm. Bull., 20, 4, 381–385, 1997; Toxicology and Applied Pharmacology, 95, 1–11, 1988] und weiterhin durch Entfernen der Leber, Färben ($\times 100$) der Leber mit Hematoxylin und Eosin und dann Beobachten der Leber mit einem Mikroskop um den Grad der Hepatozyten Nekrose zu untersuchen. Als ein Ergebnis dieses Experimentes wurde identifiziert, daß die Verbindung der Formel (I) gemäß der vorliegenden Erfindung eine überlegene leberschützende Wirkung sogar im Vergleich mit Silymarin hat, welches weithin als leberschützendes Mittel bekannt ist.

[0035] Weiterhin haben die vorliegenden Erfinder die schützende Wirkung des erfindungsgemäßen Allylthio-pyridazinderivats gegen Strahlung durch Verabreichen der aktiven Verbindung an Mäuse, Bestrahlen mit der Strahlung von 8 oder 9 Gy und nach einer gewissen Zeitperiode Messen der Überlebensrate der Mäuse bestätigt. Beispielsweise kann die Überlebensrate während 30-tägiger Bestrahlung mit 8 Gy aus **Fig. 3** ersehen werden, und das spezifische experimentelle Ergebnis ist in der folgenden Tabelle 7 beschrieben. Spezifisch, wenn 8 Gy Strahlung verwendet wird, beträgt die Überlebensrate während 30 Tagen in den Gruppen, bei denen nur Strahlung verwendet wurde, lediglich 48%, während die Überlebensrate während 30 Tagen in den Gruppen, an welche die Verbindungen der Beispiele 4 und 8 vorher verabreicht wurden 67% und 70% betrug. Daher kann bemerkt werden, daß der schützende Effekt der Verbindung gemäß der vorliegenden Erfindung gegen Strahlung bewiesen worden ist, eine sehr signifikante neue Entdeckung zu sein.

[0036] Darüberhinaus, als ein Ergebnis eines akuten Toxizitätstest unter Verwendung von Mäusen, um die generelle Toxizität der Verbindung gemäß der vorliegenden Erfindung zu evaluieren, wenn die Verbindung alleine auf oralem Wege verabreicht wurde, betrug der LD₅₀ Wert der entsprechenden Verbindung 3,5 g/kg oder mehr. Daher wurde bestimmt, daß die Verbindung der vorliegenden Erfindung sehr sicher ist.

[0037] Aus den obigen experimentellen Ergebnissen kann identifiziert werden, daß die Verbindung der Formel (I) gemäß der vorliegenden Erfindung sicher ist und eine ausgezeichnete Wirkung für die Vorbeugung und die Behandlung von hepatischen Krankheiten hat. Daher ist es ein weiterer Zweck der vorliegenden Erfindung, eine pharmazeutische Zusammensetzung für die Vorbeugung und Behandlung von hepatischen Krankheiten zur Verfügung zu stellen, welcher als einen effektiven Bestandteil die Verbindung der Formel (I) oder dessen pharmazeutisch akzeptables Salz enthält. Zusätzlich, da die Verbindung der vorliegenden Erfindung und dessen Salz als eine schützende Wirkung gegen Strahlung habend identifiziert wurden, ist die Zusammensetzung zum Schutz von humanen Geweben vor Strahlung, welche die Verbindung als einen effektiven Bestandteil umfaßt ebenso ein Gegenstand der vorliegenden Erfindung. Solche Wirkungen der pharmazeutischen Zusammensetzungen gemäß der vorliegenden Erfindung stehen mit dem Wirkmechanismus der Formel (I) in Verbindung, welcher die Expressionsrate von mEH und GST als Oxidoreduktasen erhöht und ebenso die Aktivität von Cytochrom P450 2E1 inhibiert. Wie oben erwähnt, da der Wirkmechanismus, welcher die Expressionsrate von mEH und GST erhöht und die Aktivität von Cytochrom P450 2E1 reduziert, mit den Wirkungen des Reduzierens der Toxizität von Antitumorchemotherapeutika und des Inhibierens der Oncogenese und von chemischen Substanzen, ebenso wie die Wirkungen des Vorbeugens und des Behandeln von hepatischen Krankheiten und des Schützens von humanem Gewebe vor Strahlung in Verbindung steht, könnte verstanden werden, daß die Verbindung der vorliegenden Erfindung ebenso solche Wirkungen aufzeigen könnte.

[0038] Bei der Verwendung der erfindungsgemäßen pharmazeutischen Zusammensetzung zu einem klinischen Zweck kann die Verbindung der Formel (I) in Kombination mit einem pharmazeutisch akzeptablen inerten Träger in eine feste, halbfeste oder flüssige pharmazeutische Präparation formuliert werden, welche für orale oder parenterale Verabreichung geeignet ist.

[0039] Pharmazeutisch akzeptable inerte Träger, welche zu diesem Zweck verwendet werden können, können fest oder flüssig sein und beinhalten ein Glied oder mehrere ausgewählt aus einer Gruppe bestehend aus Verdünnungsmitteln, Geschmacksmitteln, Solubilisierungsmitteln, Befeuchtungsmitteln, Suspensionsmitteln, Bindemitteln, Tablettenanschwellmitteln, usw. Als ein spezifisches Beispiel für den geeigneten festen oder flüssigen Träger, welcher in der vorliegenden Erfindung verwendet werden kann, können Stärke, Lactose, Zellosoederivate (Avicel®), Zucker, usw. erwähnt werden.

[0040] Wenn die pharmazeutische Zusammensetzung gemäß der vorliegenden Erfindung zum Zwecke des Vorbeugens und des Behandeln von hepatischen Krankheiten und zum Schützen der Leber vor Bestrahlung verwendet wird, beträgt die tägliche Dosis der aktiven Verbindung gemäß der vorliegenden Erfindung vorzugsweise 1 bis 500 mg/kg Körpergewicht, im initialen Stadium. Jedoch sollte verstanden werden, daß die Dosierung variiert werden kann, abhängig vom Bedarf des Patienten, der Schwere der Krankheit, die behandelt wird, der Art der verwendeten Verbindung, usw., und die optimale Dosierung kann gemäß dem bekannten Verfahren durch einen Fachmann bestimmt werden. Im Allgemeinen wird die therapeutische Prozedur bei einem Dosierungsniveau initiiert, welches niedriger ist, als die optimale Dosierung der Verbindung, und dann wird die Do-

sierung graduell erhöht, abhängig vom Zustand, bis die optimale Wirkung erhalten wird. Wenn angemessen kann die tägliche Dosierung in einige Teile unterteilt werden und dann über einer eintägige Zeitperiode verabreicht werden.

[0041] Die vorliegende Erfindung wird genauer durch die folgenden Herstellungen und Beispiele beschrieben werden. Jedoch sollte verstanden werden, daß diese Herstellungen und Beispiele nur dafür vorgesehen sind, beim Verständnis der vorliegenden Erfindung zu helfen, aber die vorliegende Erfindung wird nicht durch diese Beispiele in irgendeiner Art und Weise limitiert.

Herstellung 1

Synthese von 3,6-Dihydroxy-4,5-dimethylpyridazin

[0042] 50 ml auf gereinigtes Wasser wurde zu 3,4 ml (0,07 mol) Hydrazinmonohydrat hinzugefügt, und dann wurden 14 ml (0,14 mol), konzentrierte Salzsäure tropfenweise hinzugefügt. Dann wurde die Umsetzungslösung bis zum Kochen erwärmt. Als die Umsetzungsmischung begann, unter Rückfluß zu sieden, wurden 8,83 g (0,07 mol) 2,3-Dimethylmaleinsäureanhydrid hinzugegeben. Die Umsetzungslösung wurde kontinuierlich unter Rückfluß 3 Stunden lang erhitzt und dann abgekühlt. Die präzipitierten weißen Kristalle wurden gefiltert, mit auf gereinigtem Wasser gewaschen, gelöst in aufgereinigtem kochenden Wasser um unlösliches Material zu entfernen und dann unkristallisiert, um die Titelverbindung als einen amorphen weißen Kristall zu erhalten.

Ausbeute: 9,10 g (92,8%)

Schmelzpunkt: 298–300°C (Zersetzung)

Umkristallisationslösungsmittel: Wasser

NMR (CDCl₃ + DMSO-d₆, δ): 2,00 (s, 3H × 2, CH₃), 3,30 (s, 1H × 2, OH)

Herstellung 2

Synthese von 1,4-Dihydroxy-5,6,7,8-tetrahydrophthalazin

[0043] 25 ml aufgereinigtes Wasser wurde zu 1,7 ml (0,35 mol) Hydrazinmonohydrat hinzugegeben, und dann wurden 7 ml (0,07 mol) konzentrierte Salzsäure tropfenweise hinzugegeben. Dann wurde die Umsetzungslösung zum Kochen erwärmt. Als die Umsetzungslösung begann, unter Rückfluß zu sieden, wurden 5,33 g (0,035 mol) 3,4,5,6-Tetrahydrophthalsäureanhydrid hinzugegeben. Die Umsetzungslösung wurde kontinuierlich unter Rückfluß 3 Stunden lang erhitzt und dann abgekühlt. Dann wurde die Umsetzungslösung auf die selbe Art und Weise wie Herstellung 1 behandelt, um die Titelverbindung als einen weißen Nadelkristall zu erhalten.

Ausbeute: 5,47 g (94,0%)

Schmelzpunkt: 298–300°C

Umkristallisationslösungsmittel: Wasser

NMR (CDCl₃ + DMSO-d₆, δ): 1,65 (s, 2H × 2, CH₂), 2,35 (s 2H × 2, CH₂), 3,30 (s, 1H × 2, OH)

Herstellung 3

Synthese von 3,6-Dichlor-4,5-dimethylpyridazin

[0044] 2,80 g (0,02 mol) vollständig getrocknetes 3,6-Dihydroxy-4,5-dimethylpyridazin (erhalten aus Herstellung 1) wurden zu 20 ml Phosphoroxichlorid (POCl₃) hinzugegeben und die Umsetzungsmischung wurde unter Rückfluß 7 Stunden lang erhitzt. Zu diesem Zeitpunkt wurde der Punkt, bei dem die farblose Reaktionslösung sich lila färbte als der Endpunkt der Umsetzung erwogen. Die Umsetzungslösung wurde unter reduziertem Druck konzentriert, um überschüssiges Phosphoroxidchlorid zu entfernen. Die kleine Menge Eiswasser wurde zu dem Rückstand hinzugegeben und dann wurde gerührt, um eine Suspension zu bilden. 28%-ige wäßrige Ammoniumhydroxidlösung wurde zu der Suspension hinzugegeben, bis die Suspension alkalisch wurde, um braunes Präzipitat zu produzieren. Das Präzipitat wurde gefiltert und dann in heißem Ethanol gelöst, um unlösliches Material zu entfernen. Aktivkohle wurde zu der resultierenden Lösung hinzugefügt, und die Mischung wurde 5 Minuten lang unter Rückfluß erhitzt, entfärbt durch Laufenlassen durch Siliziumdioxid und dann destilliert unter reduziertem Druck, um überschüssiges Ethanol zu entfernen. Auf diese Art und Weise wurde die Titelverbindung als weiße nadelförmige Kristalle erhalten.

Ausbeute: 2,45 g (69,2%)

Schmelzpunkt: 109–111°C

Umkristallisationslösungsmittel: Ethanol

NMR (CDCl₃, δ): 2,05 (s, 3H × 2, CH₃)

Herstellung 4

Synthese von 1,4-Dichlor-5,6,7,8-tetrahydrophthalazin

[0045] 3,32 g (0,02 mol) vollständig getrocknetes 1,4-Dihydroxy-5,6,7,8-tetrahydrophthalazin (erhalten aus Herstellung 2) wurde zu 20 ml Phosphoroxidchlorid hinzugegeben. Dann wurde die Umsetzung auf die selbe Art und Weise ausgeführt wie Herstellung 3, um die Titelverbindung als weiße nadelförmige Kristalle zu erhalten.

Ausbeute: 2,68 g (66,0%)

Schmelzpunkt: 148–150°C

Umkristallisationslösungsmittel: Ethanol

NMR (CDCl₃, δ): 1,85 (s, 2H × 2, CH₂), 2,75 (s, 2H × 2, CH₂)

Herstellung 5

Synthese von 3-Methoxy-4,5-dimethyl-6-chlorpyridazin

[0046] 0,46 g (0,02 mol) metallisches Natrium wurden in 30 ml absolutem Ethanol gelöst und dann wurden 3,54 g (0,02 mol) 3,6-Dichlor-4,5-dimethylpyridazin, erhalten aus Herstellung 3, hinzugegeben und vollständig gelöst. Die Umsetzungslösung wurde eine Stunde bei Raumtemperatur gerührt und unter reduziertem Druck filtriert, um überschüssiges Methanol zu entfernen. 100 ml Diethylether wurde zu dem Rückstand hinzugegeben, und dann wurde 10 Minuten lang heftig gerührt. Die diethyletherunlöslichen Materialien wurden entfernt und die verbleibende Lösung wurde zweimal mit 50 ml gereinigtem Wasser gewaschen, getrocknet über wasserfreiem Natriumsulfat und dann unter reduziertem Druck konzentriert, um Diethylether zu entfernen. Auf diese Art und Weise wurde die Titelverbindung als weiße nadelförmige Kristalle erhalten.

Ausbeute: 2,63 g (76,2%)

Schmelzpunkt: 80–82°C

Umkristallisationslösungsmittel: Ethanol

Herstellung 6

Synthese von 1-Methoxy-4-chlor-5,6,7,8-tetrahydrophthalazin

[0047] 0,34 g (0,015 mol) metallisches Natrium wurden in 30 ml absolutem Methanol gelöst und dann wurden 3,05 g (0,015 mol) 1,4-Dichlor-5,6,7,8-tetrahydrophthalazin, erhalten aus Herstellung 4, hinzugefügt und vollständig gelöst. Die Umsetzungslösung wurde eine Stunde lang bei Raumtemperatur gelöst und dann auf die selbe Art und Weise wie bei Herstellung 5 behandelt, um die Titelverbindung als weiße nadelförmige Kristalle zu erhalten.

Ausbeute: 1,78 g (59,7%)

Schmelzpunkt: 117–119°C

Umkristallisationslösungsmittel: Ethanol

Herstellung 7

Synthese von 1-Methoxy-4-chlorphthalazin

[0048] 0,23 g (0,01 mol) metallisches Natrium wurden in 50 ml absolutem Methanol gelöst, und dann wurden 1,99 g (0,01 mol) 1,4-Dichlorphthalazin hinzugegeben und vollständig gelöst. Die Umsetzungslösung wurde eine Stunde lang bei Raumtemperatur gelöst und dann auf die selbe Art und Weise behandelt wie bei Herstellung 5, um die Titelverbindung als amorphe weiße Kristalle zu erhalten.

Ausbeute: 1,81 g (92,8%)

Schmelzpunkt: 92–94°C

Umkristallisationslösungsmittel: Ethanol

NMR (CDCl₃, δ): 4,28 (s, 3H, OCH₃), 7,90–8,25 (m, 1H × 4, aromatisch)

Herstellung 8

Synthese von 3-Ethoxy-4,5-dimethyl-6-chlorpyridazin

[0049] 0,69 g (0,03 mol) metallisches Natrium wurden in 100 ml absolutem Methanol gelöst und dann wurden

5,31 g (0,03 mol) 3,6-Dichlor-4,5-dimethylpyridazin zugegeben und vollständig gelöst. Die Umsetzungslösung wurde 4 Stunden lang bei Raumtemperatur gerührt und dann auf die selbe Art und Weise behandelt wie in Herstellung 5, um die Titelverbindung als einen blaß-weißen Kristall zu erhalten.

Ausbeute: 4,22 g (75,4%)

Schmelzpunkt: 60–62°C

Umkristallisationslösungsmittel: Ethanol

NMR (CDCl₃, δ): 1,42 (t, 3H, CH₃), 2,20 (s, 3H, CH₃), 2,32 (s, 3H, CH₃), 4,52 (q, 2H, OCH₃)

Herstellung 9

Synthese von 1-Ethoxy-4-chlor-5,6,7,8-tetrahydrophthalazin

[0050] 0,69 g (0,03 mol) metallisches Natrium wurden in 100 ml absolutem Ethanol gelöst und dann wurden 6,09 g (0,03 mol) 1,4-Dichlor-5,6,7,8-tetrahydrophthalazin, erhalten aus Herstellung 4, zugegeben und vollständig gelöst. Die Umsetzungslösung wurde 4 Stunden bei Raumtemperatur gerührt und dann auf die selbe Art und Weise, wie in Herstellung 5, behandelt, um die Titelverbindung als einen blaß-weißen Kristall zu erhalten.

Ausbeute: 5,98 g (93,7%)

Schmelzpunkt: 105–107°C

Umkristallisationslösungsmittel: Ethanol

NMR (CDCl₃, δ): 1,40 (t, 3H, CH₃), 1,80–2,53 (m, 2H × 4, aromatisch), 4,52 (q, 2H, OCH₂)

Herstellung 10

Synthese von 1-Ethoxy-4-chlorphthalazin

[0051] 0,69 g (0,03 mol) metallisches Natrium wurden in 100 ml absolutem Methanol gelöst, und dann wurden 5,97 g (0,03 mol) 1,4-Dichlorphthalazin hinzugegeben und vollständig gelöst. Die Umsetzungslösung wurde eine Stunde lang bei 50 ± 10°C gerührt und dann auf die selbe Art und Weise wie bei Herstellung 5 behandelt, um die Titelverbindung als weiße nadelförmige Kristalle zu erhalten.

Ausbeute: 5,02 g (80,2%)

Schmelzpunkt: 76–78°C

Umkristallisationslösungsmittel: Ethanol

NMR (CDCl₃, δ): 1,55 (t, 3H, CH₃), 4,70 (q, 2H, OCH₂), 7,92–8,20 (m, 1H × 4, aromatisch)

Beispiel 1

Synthese von 3-Chlor-4,5-Dimethyl-6-Allylthiopyridazin

[0052] 0,23 g (0,01 mol) metallisches Natrium wurden in 40 ml absolutem Methanol gelöst, und die resultierende Lösung wurde mit 0,93 ml (0,01 mol) Allylmercaptan (CH₂=CH-CH₂-SH) gemischt. Zu dieser Mischung wurden 1,77 g (0,01 mol) 3,6-Dichlor-4,5-dimethylpyridazin, erhalten aus Herstellung 3, hinzugefügt, und die Umsetzungslösung wurde unter Rückfluß eine Stunde lang erhitzt und dann unter reduziertem Druck konzentriert, um Methanol zu entfernen. 50 ml Diethylether wurden zu dem Rückstand hinzugegeben, und es wurde kräftig 10 Minuten lang gerührt. Diethyletherunlösliche Materialien wurden entfernt, und die verbleibende Lösung wurde zweimal mit 30 ml gereinigtem Wasser gewaschen, getrocknet über wasserfreiem Natriumsulfat und unter reduziertem Druck konzentriert, um den Rückstand als ein gelbes Öl zu erhalten. Der erhaltene Rückstand wurde TLC ausgesetzt, um 5 Punkte (R_f = 0,8, 0,6, 0,5, 0,2, 0,1) zu erhalten. Unter ihnen wurde die Titelverbindung mit einem R_f-Wert von 0,5 durch Silikagel-Säulenchromatographie (Eluent: n-Hexan-Ethylacetat = 5/1, v/v) abgetrennt. Der Eluent wurde unter reduziertem Druck entfernt und der Rückstand wurde konzentriert, um ein weißes Öl zu erhalten, welches zwei Stunden lang unter Hochvakuum getrocknet wurde, um die Titelverbindung als einen gefrorenen weißen Kristall zu erhalten.

Ausbeute: 1,16 g (54,0%)

Schmelzpunkt: 51–53°C

NMR (CDCl₃, δ): 2,25 (s, 3H, CH₃), 2,35 (s, 3H, CH₃), 3,95 (d, 2H, SCH₂), 5,25 (dd, 2H, CH₂), 6,00 (m, 1H, CH)

Beispiel 2

Synthese von 1-Chlor-4-allylthio-5,6,7,8-tetrahydrophthalazin

[0053] 0,23 g (0,01 mol) metallisches Natrium wurde in 30 ml absolutem Methanol gelöst und dann mit 0,93

ml (0,01 mol) Allylmercaptan gemischt. Zu dieser Mischung wurden 2,0 g (0,01 mol) 1,4-Dichlor-5,6,7,8-tetrahydrophthalazin, erhalten aus Herstellung 4, hinzugefügt. Die Umsetzungslösung wurde eine Stunde lang unter Rückfluß erhitzt und dann auf die selbe Art und Weise wie Beispiel 1 behandelt, um die Titelverbindung als einen gefrorenen weißen Kristall zu erhalten.

Ausbeute: 1,81 g (75%)

Schmelzpunkt: 43–45°C

NMR (CDCl₃, δ): 1,85–2,65 (m, 2H × 4, aromatisch), 3,95 (d, 2H, SCH₂), 5,25 (dd, 2H, CH₂), 6,00 (m, 1H, CH)

Beispiel 3

Synthese von 1-Chlor-4-allylthiophthalazin

[0054] 0,23 g (0,01 mol) metallisches Natrium wurden in 30 ml absolutem Methanol gelöst und dann mit 0,93 ml (0,01 mol) Allylmercaptan gemischt. Zu dieser Mischung wurden 1,99 g (0,01 mol) 1,4-Dichlorphthalazin hinzugefügt. Die Umsetzungslösung wurde unter Rückfluß 24 Stunden lang erhitzt und dann auf die selbe Art und Weise behandelt, wie Beispiel 1, um die Titelverbindung als blasse weiße nadelförmige Verbindung zu erhalten.

Ausbeute: 1,27 g (53,6%)

Schmelzpunkt: 76–78°C

NMR (CDCl₃, δ): 4,15 (d, 2H, SCH₂), 5,30 (dd, 2H, CH₂), 6,10 (m, 1H, CH), 8,10 (m, 1H × 4, aromatisch)

Beispiel 4

Synthese von 3-Methoxy-6-Allylthiopyridazin

[0055] 1,15 g (0,05 mol) metallisches Natrium wurden in 50 ml absolutem Methanol gelöst und dann mit 4,98 ml (0,05 mol) Allylmercaptan gemischt. Zu dieser Mischung wurden 7,23 g (0,05 mol) 3-Methoxy-6-chlorpyridazin hinzugefügt. Die Umsetzungslösung wurde unter Rückfluß 24 Stunden lang erhitzt und dann auf die selbe Art und Weise behandelt, wie Beispiel 1, um die Titelverbindung als einen gefrorenen blassen weißen Kristall zu erhalten.

Ausbeute: 3,99 g (53,7%)

Schmelzpunkt: 25–27°C

NMR (CDCl₃, δ): 3,95 (d, 2H, SCH₂), 4,08 (s, 3H, OCH₃), 5,25 (dd, 2H, CH₂), 6,00 (m, 1H, CH), 6,80–7,30 (dd, 1H × 2, CH)

Beispiel 5,

Synthese von 3-Methoxy-4,5-dimethyl-6-allylthiopyridazin

[0056] 0,23 g (0,01 mol) metallisches Natrium wurden in 30 ml absolutem Methanol gelöst und dann mit 0,93 ml (0,01 mol) Allylmercaptan gemischt. Zu dieser Mischung wurden 1,73 g (0,01 mol) 3-Methoxy-4,5-dimethyl-6-chlorpyridazin erhalten aus Herstellung 5 hinzugefügt. Die Umsetzungslösung wurde unter Rückfluß 24 Stunden lang erhitzt und dann auf die selbe Art und Weise behandelt, wie Beispiel 1, um die Titelverbindung als gefrorene blasse weiße Kristalle zu erhalten.

Ausbeute: 0,67 g (31,9%)

Schmelzpunkt: 51–53°C

Beispiel 6

Synthese von 1-Methoxy-4-allylthio-5,6,7,8-tetrahydrophthalazin

[0057] 0,23 g (0,01 mol) metallisches Natrium wurden in 30 ml absolutem Methanol gelöst und dann mit 0,93 ml (0,01 mol) Allylmercaptan gemischt. Zu dieser Mischung wurden 1,99 g (0,01 mol) 1-Methoxy-4-Chlor-5,6,7,8-Tetrahydrophthalazin, erhalten aus Beispiel 6, hinzugefügt. Die Umsetzungslösung wurde unter Rückfluß 1 Stunde lang erhitzt und dann auf die selbe Art und Weise behandelt, wie Beispiel 1, um die Titelverbindung als einen gefrorenen blassen weißen Kristall zu erhalten.

Ausbeute: 1,37 g (58,1%)

Schmelzpunkt: 46–48°C

Beispiel 7

Synthese von 1-Methoxy-4-allylthiophthalazin

[0058] 0,23 g (0,01 mol) metallisches Natrium wurden in 30 ml absolutem Methanol gelöst und dann mit 0,93 ml (0,01 mol) Allylmercaptan gemischt. Zu dieser Mischung wurden 1,95 g (0,01 mol) 1-Methoxy-4-chlorphthalazin, erhalten aus Herstellung 7 hinzugefügt. Die Umsetzungslösung wurde unter Rückfluß 1 Stunde lang erhitzt und dann auf die selbe Art und Weise behandelt, wie Beispiel 1, um die Titelverbindung als einen gefrorenen blassen weißen Kristall zu erhalten.

Ausbeute: 1,58 g (68,1%)

Schmelzpunkt: 32–34°C

NMR (CDCl₃, δ): 4,08 (d, 2H, SCH₂), 4,20 (s, 3H, OCH₃), 5,26 (dd, 2H, CH₂), 6,10 (m, 1H, CH), 7,82–8,17 (m, 1H × 4, aromatisch)

Beispiel 8

Synthese von 3-Ethoxy-6-allylthiopyridazin

[0059] 0,57 g (0,025 mol) metallisches Natrium wurden in 40 ml absolutem Methanol gelöst und dann mit 2,49 ml (0,025 mol) Allylmercaptan gemischt. Zu dieser Mischung wurden 3,96 g (0,025 mol) 3-Methoxy-6-chlorpyridazin, hinzugegeben. Die Umsetzungslösung wurde unter Rückfluß 24 Stunden lang erhitzt und dann auf die gleiche Art und Weise behandelt, wie Beispiel 1, um die Titelverbindung als einen gefrorenen blassen weißen Kristall zu erhalten.

Ausbeute: 1,85 g (37,7%)

Schmelzpunkt: 28–30°C

NMR (CDCl₃, δ): 1,35 (t, 3H, CH₃), 4,45 (q, 2H, OCH₂), 5,15 (dd, 2H, CH₂), 5,95 (m, 1H, CH), 6,70–7,15 (dd, 1H × 2, CH)

Beispiel 9

Synthese von 3-Ethoxy-4,5-dimethyl-6-allylthiopyridazin

[0060] 0,23 g (0,01 mol) metallisches Natrium wurden in 100 ml absolutem Methanol gelöst und dann mit 0,93 ml (0,01 mol) Allylmercaptan gemischt. Zu dieser Mischung wurden 1,87 g (0,01 mol) 3-Ethoxy-4,5-dimethyl-6-chlorpyridazin, erhalten aus Beispiel 8, hinzugefügt. Die Umsetzungslösung wurde unter Rückfluß 3 Stunden lang erhitzt und dann auf die gleiche Art und Weise behandelt, wie Beispiel 1, um die Titelverbindung als einen gefrorenen weißen Kristall zu erhalten.

Ausbeute: 0,15 g (6,7%)

Schmelzpunkt: 29–31°C

Beispiel 10

Synthese von 1-Ethoxy-4-allylthio-5,6,7,8-tetrahydrophthalazin

[0061] 0,23 g (0,01 mol) metallisches Natrium wurden in 100 ml absolutem Methanol gelöst und dann mit 0,93 ml (0,01 mol) Allylmercaptan gemischt. Zu dieser Mischung wurden 2,13 g (0,01 mol) 1-Ethoxy-4-chlor-5,6,7,8-tetrahydrophthalazin, erhalten aus Herstellung 9 hinzugefügt. Die Umsetzungslösung wurde unter Rückfluß 3 Stunden lang erhitzt und dann auf die gleiche Art und Weise behandelt, wie Beispiel 1, um die Titelverbindung als einen gefrorenen weißen Kristall zu erhalten.

Ausbeute: 0,36 g (14,4%)

Schmelzpunkt: 39–41°C

Beispiel 11

Synthese von 1-Ethoxy-4-allylthiophthalazin

[0062] 0,23 g (0,01 mol) metallisches Natrium wurden in 100 ml absolutem Methanol gelöst und dann mit 0,93 ml (0,01 mol) Allylmercaptan gemischt. Zu dieser Mischung wurden 2,09 g (0,01 mol) 1-Ethoxy-4-chlorphthalazin, erhalten aus Herstellung 10, hinzugefügt. Die Umsetzungslösung wurde unter Rückfluß 3 Stunden lang erhitzt und dann auf die selbe Art und Weise behandelt, wie Beispiel 1, um die Titelverbindung als gefrorene

weiße Kristalle zu erhalten.
 Ausbeute: 0,79 g (32,1%)
 Schmelzpunkt: 44–46°C

Beispiel 12

Synthese von 3-(n-Propoxy)-6-allylthiopyridazin

[0063] 1,15 g (0,05 mol) metallisches Natrium wurden in 75 ml absolutem Methanol gelöst und dann mit 4,98 ml (0,05 mol) Allylmercaptan gemischt. Zu dieser Mischung wurden 8,63 g (0,05 mol) 3-(n-Propoxy)-6-chlorpyridazin hinzugefügt. Die Umsetzungslösung wurde unter Rückfluß 24 Stunden lang erhitzt und dann auf die selbe Art und Weise behandelt, wie Beispiel 1, um die Titelverbindung als einen blaß-gelben öligen Rückstand zu erhalten.

Ausbeute: 3,11 g (29,6%)

NMR (CDCl₃, δ): 1,10 (t, 3H, CH₃), 1,82 (q, 2H, CH₂), 3,95 (d, 2H, SCH₂), 4,40 (q, 2H, OCH₂), 5,25 (dd, 2H, CH₂), 6,00 (m, 1H, CH), 6,75–7,30 (dd, 1H × 2, CH)

Beispiel 13

Synthese von 3-(2-Propoxy)-6-allylthiopyridazin

[0064] 2,30 g (0,1 mol) metallisches Natrium wurden in 150 ml absolutem Methanol gelöst und dann mit 9,28 ml (0,1 mol) Allylmercaptan gemischt. Zu dieser Mischung wurden 17,26 g (0,1 mol) 3-(2-Propoxy)-6-chlorpyridazin hinzugefügt. Die Umsetzungslösung wurde unter Rückfluß 24 Stunden lang erhitzt und dann auf die selbe Art und Weise behandelt, wie Beispiel 1, um die Titelverbindung als ein blaß-gelbes Öl zu erhalten.

Ausbeute: 4,39 g (20,9%)

NMR (CDCl₃, δ): 1,35 (d, 3H × 2, CH(CH₃)₂), 3,90 (d, 2H, SCH₂), 5,20 (dd, 2H, CH₂), 5,45 (m, 1H, OCH), 5,95 (m, 1H, CH), 6,70–7,20 (dd, 1H × 2, CH)

Beispiel 14

Synthese von 3-(n-Butoxy)-6-allylthiopyridazin

[0065] 1,15 g (0,05 mol) metallisches Natrium wurden in 75 ml absolutem Methanol gelöst und dann mit 4,98 ml (0,05 mol) Allylmercaptan gemischt. Zu dieser Mischung wurden 9,33 g (0,05 mol) 3-(n-Butoxy)-6-chlorpyridazin hinzugefügt. Die Umsetzungslösung wurde unter Rückfluß 24 Stunden lang erhitzt und dann auf die selbe Art und Weise behandelt, wie Beispiel 1, um die Titelverbindung als ein blaß-gelbes Öl zu erhalten.

Ausbeute: 2,24 g (20,2%)

NMR (CDCl₃, δ): 0,90 (t, 3H, CH₃), 1,42 (q, 2H, CH₂), 1,75 (q, 2H, CH₂), 3,85 (d, 1H, SCH₂), 4,40 (t, 2H, OCH₂), 5,18 (dd, 2H, CH₂), 5,18 (dd, 2H, CH₂), 6,00 (m, 1H, CH), 6,70–7,20 (dd, 1H × 2, CH)

Beispiel 15

Synthese von 3-(2-Butoxy)-6-allylthiopyridazin

[0066] 0,92 g (0,04 mol) metallisches Natrium wurden in 120 ml absolutem Methanol gelöst und dann mit 3,98 ml (0,04 mol) Allylmercaptan gemischt. Zu dieser Mischung wurden 7,47 g (0,04 mol) 3-(2-Butoxy)-6-chlorpyridazin hinzugefügt. Die Umsetzungslösung wurde unter Rückfluß 24 Stunden lang erhitzt und dann auf die selbe Art und Weise behandelt, wie Beispiel 1, um die Titelverbindung als ein blaß-gelbes Öl zu erhalten.

Ausbeute: 1,19 g (13,3%)

NMR (CDCl₃, δ): 0,90 (t, 3H, CH₃), 1,30 (d, 3H, CH₃), 1,70 (m, 2H, CH₂), 3,90 (d, 2H, SCH₂), 5,15 (dd, 2H, CH₂), 5,30 (m, 1H, OCH₂), 5,98 (m, 1H, CH), 6,70–7,15 (dd, 1H × 2, CH)

Beispiel 16

Synthese von 3-(t-Butoxy)-6-allylthiopyridazin

[0067] 0,46 g (0,02 mol) metallisches Natrium wurden in 30 ml absolutem Methanol gelöst und dann mit 1,99 ml (0,02 mol) Allylmercaptan gemischt. Zu dieser Mischung wurden 3,57 g (0,02 mol) 3-(t-Butoxy)-6-chlorpyridazin hinzugefügt. Die Umsetzungslösung wurde unter Rückfluß 24 Stunden lang erhitzt und dann auf die sel-

be Art und Weise behandelt, wie Beispiel 1, um die Titelverbindung als ein blaß-gelbes Öl zu erhalten.

Ausbeute: 1,13 g (25,1%)

NMR (CDCl₃, δ): 1,60 (s, 3H × 3, C(CH₃)₃), 3,92 (d, 2H, SCH₂), 5,20 (dd, 2H, CH₂), 6,00 (m, 1H, CH), 6,65–7,20 (dd, 1H × 2, CH)

Beispiel 17

Synthese von 3-(n-Pentyloxy)-6-allylthiopyridazin

[0068] 1,15 g (0,05 mol) metallisches Natrium wurden in 75 ml absolutem Methanol gelöst und dann mit 4,98 ml (0,05 mol) Allylmercaptan gemischt. Zu dieser Mischung wurden 10,03 g (0,05 mol) 3-(n-Pentyloxy)-6-chlorpyridazin hinzugefügt. Die Umsetzungslösung wurde unter Rückfluß 24 Stunden lang erhitzt und dann auf die selbe Art und Weise behandelt, wie Beispiel 1, um die Titelverbindung als blaß-gelbe nadelförmige Kristalle zu erhalten.

Ausbeute: 4,21 g (35,3%)

Schmelzpunkt: 39–42°C

NMR (CDCl₃, δ): 0,95 (t, 3H, CH₃), 1,40 (t, 2H × 2, CH₂), 1,80 (q, 2H, CH₂), 3,95 (d, 2H, SCH₂), 4,45 (m, 2H, OCH₂), 5,22 (dd, 2H, CH₂), 6,00 (m, 1H, CH), 6,75–7,30 (m, 1H × 2, CH)

Beispiel 18

Synthese von 3-Isopentaloxy-6-allylthiopyridazin

[0069] 1,15 g (0,05 mol) metallisches Natrium wurden in 150 ml absolutem Methanol gelöst und dann mit 4,98 ml (0,05 mol) Allylmercaptan gemischt. Zu dieser Mischung wurden 10,03 g (0,05 mol) 3-Isopentyloxy-6-chlorpyridazin hinzugefügt. Die Umsetzungslösung wurde unter Rückfluß 24 Stunden lang erhitzt und dann auf die selbe Art und Weise behandelt, wie Beispiel 1, um die Titelverbindung als ein blaß-gelbes Öl zu erhalten.

Ausbeute: 1,13 g (25,1%)

Schmelzpunkt: 39–42°C

NMR (CDCl₃, δ): 0,92 (d, 3H × 2, C(CH₃)₂), 1,70 (m, 1H&2H, CHCH₂), 3,90 (q, 2H, SCH₂), 4,45 (t, 2H, OCH₂), 5,15 (dd, 2H, CH₂), 5,95 (m, 1H, CH), 6,70–7,20 (dd, 1H × 2, CH)

Beispiel 19

Synthese von 3-(2-N,N-dimethylaminoethoxy)-6-allylthiopyridazin

[0070] 0,46 g (0,02 mol) metallisches Natrium wurden in 30 ml absolutem 2-Dimethylaminoethanol gelöst. Zu der resultierenden Lösung wurden 3,73 g (0,02 mol) 3-Chlorallylthiopyridazin hinzugefügt. Die Umsetzungslösung wurde 2 Stunden bei Raumtemperatur gerührt und auf die selbe Art und Weise, wie Beispiel 1, behandelt, um die Titelverbindung als gelbe nadelförmige Kristalle zu erhalten.

Ausbeute: 0,25 g (5,2%)

Schmelzpunkt: 36–38°C NMR (CDCl₃, δ): 1,88 (d, 3H × 2, N(CH₃)₂), 1,95 (d, 2H&2, OCH₂CH₂) 4,00 (d, 2H, SCH₂), 5,25 (dd, 2H, CH₂), 6,10 (m, 1H, CH), 6,85–7,20 (m, 1H × 2, CH)

Beispiel 20

Synthese von 3-(2-Hydroxyethoxy)-6-allylthiopyridazin

[0071] 0,23 g (0,01 mol) metallisches Natrium wurden in 30 ml absolutem Methanol gelöst und dann mit 1,00 ml (0,01 mol) Allylmercaptan gemischt. Zu dieser Mischung wurden 1,75 g (0,01 mol) 3-(2-Hydroxyethoxy)-6-chlorpyridazin hinzugefügt. Die Umsetzungslösung wurde unter Rückfluß 24 Stunden lang erhitzt und dann auf die selbe Art und Weise behandelt, wie Beispiel 1, um die Titelverbindung als ein blasse nadelförmige Kristalle zu erhalten.

Ausbeute: 1,24 g (58,5%)

Schmelzpunkt: 38–40°C

NMR (CDCl₃, δ): 3,92 (d, 2H, SCH₂), 4,10 (s, 2H&2, OCH₂CH₂O) 5,22 (dd, 2H, CH₂), 6,00 (m, 1H, CH), 6,80–7,25 (dd, 1H × 2, CH)

Beispiel 21

Synthese von 3-Phenoxy-6-allylthiopyridazin

[0072] 0,11 g (0,005 mol) metallisches Natrium wurden in 30 g trockenem Phenol gelöst. Zu der resultierenden Lösung wurden 0,93 g (0,005 mol) 3-Chlor-6-allylthiopyridazin hinzugefügt, und dann wurde die Umsetzungslösung 3 Stunden lang bei $160 \pm 5^\circ\text{C}$ gerührt. Nachdem es der Reaktion erlaubt wurde zu stoppen, wurde die Reaktion abgekühlt und auf einen alkalischen pH-Wert (pH 14) mit 2-N-NaOH eingestellt, wobei die Kristalle präzipitierten. Die präzipitierten Kristalle wurden mit Diethylether extrahiert und dann auf die selbe Art und Weise wie Beispiel 1, behandelt, um die Titelverbindung als Kristall zu erhalten.

Ausbeute: 0,42 g (34,5%)

Schmelzpunkt: 71–73°C

NMR (CDCl_3 , δ): 3,95 (d, 2H, SCH_2), 5,22 (dd, 2H, CH_2), 6,00 (m, 1H, CH), 6,80–7,10 (m, 1H \times 2, CH), 7,15–7,45 (m, 1H \times 5, aromatisch)

Beispiel 22

Synthese von 3-Benzoyloxy-6-allylthiopyridazin

[0073] 0,11 g (0,005 mol) metallisches Natrium wurden in 20 ml trockenem Benzylalkohol gelöst. Zu der resultierenden Lösung wurden 0,93 g (0,005 mol) 3-Chlor-6-Allylthiopyridazin hinzugefügt, und dann wurde die Umsetzungslösung 2 Stunden lang bei $80 \pm 5^\circ\text{C}$ gerührt. Um überschüssigen Benzylalkohol und das unlösliche Material (NaCl) zu entfernen, wurde die Umsetzungsmischung mit Silikagel Säulenchromatographie aufgereinigt (Eluent: n-Hexan-Ethylacetat = 40/1, v/v), um die Titelverbindung als nadelförmige Kristalle zu erhalten.

Ausbeute: 0,92 g (71,3%)

Schmelzpunkt: 56–58°C

Umkristallisationslösungsmittel: Ethanol

NMR (CDCl_3 , δ): 4,00 (d, 2H, SCH_2), 5,25 (dd, 2H, CH_2), 5,55 (s, 2H, OCH_2), 6,05 (m, 1H, CH), 6,85–7,30 (dd, 1H \times 2, CH), 7,35–7,65 (m, 1H \times 5, aromatisch)

Beispiel 23

Synthese von 3-(4-Methylphenoxy)-6-allylthiopyridazin

[0074] 0,23 g (0,01 mol) metallisches Natrium wurden in 30 ml trockenem p-Cresol gelöst. Zu der resultierenden Lösung wurden 1,87 g (0,01 mol) 3-Chlor-6-Allylthiopyridazin hinzugefügt, und dann wurde die Umsetzungslösung 5 Stunden lang bei $100 \pm 5^\circ\text{C}$ gerührt. Nachdem es der Umsetzung erlaubt wurde zu stoppen, wurde die Umsetzungslösung abgekühlt und auf einen alkalischen pH-Wert (pH 14) mit 150 ml 2-N-NaOH eingestellt, wobei die Kristalle präzipitierten. Die präzipitierten Kristalle wurden mit Diethylether extrahiert und zweimal mit aufgereinigtem Wasser gewaschen, über wasserfreiem Magnesiumsulfat getrocknet und dann konzentriert, um Diethylether zu entfernen. Der resultierende ölige Rückstand wurde langsam abgekühlt, um die Titelverbindung als einen blaß-weißen amorphen Kristall zu erhalten.

Ausbeute: 1,07 g (41,5%)

Schmelzpunkt: 115–117°C

NMR (CDCl_3 , δ): 2,35 (s, 3H, CH_3), 3,95 (d, 2H, SCH_2), 5,20 (dd, 2H, CH_2), 6,00 (m, 1H, CH), 6,98–7,10 (dd, 1H \times 2, CH), 7,18–7,35 (m, 1H \times 4, aromatisch)

Beispiel 24

Synthese von 3-(3-Methylphenoxy)-6-allylthiopyridazin

[0075] 0,23 g (0,01 mol) metallisches Natrium wurden in 30 ml trockenem m-Cresol gelöst. Zu der resultierenden Lösung wurden 1,87 g (0,01 mol) 3-Chlor-6-allylthiopyridazin hinzugefügt. Die Reaktionslösung wurde 5 Stunden lang bei $100 \pm 5^\circ\text{C}$ gerührt und dann auf die selbe Art und Weise, wie Beispiel 23 behandelt, um die Titelverbindung als blaß-weiße nadelförmige Kristalle zu erhalten.

Ausbeute: 0,94 g (36,4%)

Schmelzpunkt: 48–50°C

NMR (CDCl_3 , δ): 2,30 (s, 3H, CH_3), 3,90 (d, 2H, SCH_2), 5,15 (dd, 2H, CH_2), 5,95 (m, 1H, CH), 6,95 (m, 1H \times 2, CH), 7,22 (m, 1H \times 4, aromatisch)

Beispiel 25

Synthese von 3-(2-Methylphenoxy)-6-allylthiopyridazin

[0076] 0,23 g (0,01 mol) metallisches Natrium wurden in 30 ml trockenem o-Cresol gelöst. Zu der resultierenden Lösung wurden 1,87 g (0,01 mol) 3-Chlor-6-Allylthiopyridazin hinzugefügt. Die Umsetzungslösung wurde 5 Stunden lang bei $100 \pm 5^\circ\text{C}$ gerührt und dann auf die selbe Art und Weise, wie Beispiel 23, behandelt, um die Titelverbindung als blaß-weiße nadelförmige Kristalle zu erhalten.

Ausbeute: 0,48 g (18,6%)

Schmelzpunkt: $78\text{--}80^\circ\text{C}$

NMR (CDCl_3 , δ): 2,20 (s, 3H, CH_3), 3,92 (d, 2H, SCH_2), 5,20 (dd, 2H, CH_2), 6,00 (m, 1H, CH), 7,00–7,35 (m, 1H \times 2, & 1H \times 4, CH & aromatisch)

Beispiel 26

Synthese von 3-Phenyl-6-allylthiopyridazin

[0077] 0,23 g (0,01 mol) metallisches Natrium wurden in 30 ml absolutem Methanol gelöst und dann mit 0,93 ml (0,01 mol) Allylmercaptan gemischt. Zu dieser Mischung wurden 1,90 g (0,01 mol) 6-Chlor-3-phenylpyridazin hinzugefügt. Die Umsetzungslösung wurde 5 Stunden lang unter Rückfluß erhitzt und unter reduzierten Druck konzentriert, um Methanol zu entfernen. 100 ml Diethylether wurde zu dem Rückstand hinzugegeben und es wurde 10 Minuten lang heftig gerührt. Die in Diethylether unlöslichen Materialien wurden entfernt und die verbleibende Lösung wurde zweimal mit 50 ml auf gereinigtem Wasser gewaschen, getrocknet über wasserfreiem Magnesiumsulfat und dann unter reduziertem Druck konzentriert, um Diethylether zu entfernen. Auf diese Weise wurde die Titelverbindung als ein weißer Kristall erhalten.

Ausbeute: 2,18 g (95,6%)

Schmelzpunkt: $96\text{--}98^\circ\text{C}$

NMR (CDCl_3 , δ): 4,08 (d, 2H, SCH_2), 5,28 (dd, 2H, CH_2), 6,08 (m, 1H, CH), 7,48 (m, 1H \times 2, CH)

Experiment 1

Akuter Toxizitätstest

[0078] Der akute Toxizitätstest wurde ausgeführt, um die Toxizität, welche innerhalb einer kurzen Zeitperiode nach einer einfachen Verabreichung der Testverbindung am Experimentiertier auftritt, qualitativ und quantitativ zu untersuchen.

[0079] Bei diesem Experiment wurde der akute Toxizitätstest ausgeführt unter Verwendung von 5–6 Wochen alten ICR männlichen Mäusen, erhalten vom Korea Experimental Animal Center. Die Mäuse fasteten von 6 Uhr abends am Tag vor der Verabreichung der Testverbindung bis 9 Uhr morgens am Tag, an dem die Testverbindung verabreicht wird. Die Testverbindung wurde gemahlen und in Maisöl suspendiert, und dann in der Dosis von 1000–6000 mg/kg dem Experimentiertier verabreicht. Für jede Dosis wurden 6 Tiere verwendet. Die Testverbindung wurde an einem Tag hergestellt und verwendet und wurde einmal auf oralem Wege mittels einer Nadel verabreicht. Nachdem die Verbindung von Beispiel 4 als typisches Beispiel der erfindungsgemäßen Verbindung verabreicht wurde, wurden die überlebenden und gestorbenen Tiere 14 Tage beobachtet. Das Resultat davon ist in der folgenden Tabelle 1 gezeigt. Entsprechend der Analyse dieses Ergebnisses durch das Litchfield-Wilcoxon-Verfahren wurde gezeigt, daß der LD_{50} -Wert der Verbindung 3,95 g/kg beträgt (95% Vertrauensintervall: 3,26–4,78 g/kg).

Tabelle 1

Dosis (mg/kg)	1000	2000	3000	4000	5000	6000
D/T	0/6	0/6	1/6	3/6	4/6	6/6

Bemerkung: D/T = Anzahl der gestorbenen Tiere / Anzahl der Testtiere

Experiment 2

Wirkung der erfindungsgemäßen Verbindung auf die Expressionsrate von mEH und GST

[0080] Um die Wirkung des erfindungsgemäßen Allylthiopyridazinderivates auf die Expressionsrate von mEH und GST zu bestätigen, wurde die entsprechende Verbindung oral 5–6 Wochen an SD männliche Ratte in der Dosis von 100 mg/kg verabreicht. Nachdem 24 Stunden seit der Verabreichung vergangen waren, wurden die mRNA Mengen für mEH und GSTA2, die im Lebergewebe produziert wurden gemäß der Northern Blot Analyse quantifiziert. Die erhaltenen Resultate sind in **Fig. 1** und **2** hinsichtlich des relativen Anstiegs um ein Mehrfaches im Vergleich zu der nicht behandelten Gruppe dargestellt. Aus **Fig. 1** und **2** kann geschlossen werden, daß alle Testverbindungen zweifache oder größere Anstiege in der Expressionsrate zeigen, und einige Verbindungen zeigen einen außergewöhnlichen Anstieg in der Expressionsrate.

Experiment 3

Wirkung des Inhibierens von hepatischen

[0081] Fehlzuständen, induziert durch Kohlenstofftetrachlorid Der schützende Effekt für die Leber der erfindungsgemäßen Verbindung wurde untersucht nach dem bekannten Verfahren, wie spezifisch hierunter beschrieben [siehe Philippe Letteron et al., Biochemical Pharmacology, 39, 12, 2027–2034, 1990].

[0082] Die erfindungsgemäße Verbindung wurde in Maisöl suspendiert, und die resultierende Suspension wurde in einer Menge von 1,0 mg/kg verabreicht. Jede Gruppe war aus 3–10 männlichen ICR-Mäusen (5–10 Wochen) zusammengesetzt, und die Testverbindung wurde oral 3 Tage lang in der Dosis von 50 mg/kg pro Tag verabreicht. Nachdem die Testverbindung verabreicht wurde, wurde Kohlenstofftetrachlorid intraperitoneal in einer Menge von 100 µl/kg injiziert. Bei diesem Experiment wurde Silymarin als Vergleichsverbindung verwendet. Nach 24 Stunden seit der Verabreichung von Kohlenstofftetrachlorid wurde Blut aus dem Testtier durch Kardialperforation entnommen und ein ALT-Wert im Serum wurde bestimmt. Das erhaltene Ergebnis ist in der folgenden Tabelle 2 beschrieben (in welcher der ALT-Wert durch den Mittelwert \pm Standardabweichung dargestellt ist). Die ALT-Einheit im Serum wurde bestimmt durch Zentrifugieren des Blutes, um Serum als Überstand abzutrennen, und dann wurde das abgetrennte Serum dem Reitman-Frankel-Verfahren mittels eines kommerziell erhältlichen Kits (BC101-O,P, Youngdong Pharm.) ausgesetzt. D. h. DL-Aalanin und α -Ketoglutarat wurden als Substratlösung verwendet, zu welcher 2,4-Dinitrophenylhydrazin hinzugegeben wurde, um Hydrazon herzustellen. Dann wurde Natriumhydroxyd zum Hydrazon zur Farbgebung hinzugegeben und die Absorption wurde bei 505 nm gemessen.

[0083] Zusätzlich wurde die Leber aus den Testtieren entfernt, gefärbt ($\times 100$) mit Hematoxylin und Eosin und dann mittels eines Mikroskops beobachtet. Der Grad der Hepatozytennekrose wurde gemäß den folgenden 5 Graden evaluiert: 0 keine Läsion, 1 milde Läsion, 2 moderate Läsion, 3 schwere Läsion und 4 diffuse Läsion. Das Resultat, wie erhalten, ist beschrieben in der folgenden Tabelle 3. Gemäß der statistischen Analyse der Resultate, beschrieben in Tabellen 2 und 3 kann erkannt werden, daß nur die nicht-behandelte Gruppe und die Gruppe, die mit der Verbindung aus Beispiel 4 behandelt wurden, signifikant von mit der CCl_4 behandelten Gruppe abweicht ($p < 0,01$).

Tabelle 2

	Anzahl der Testtiere	Serum ALT-Wert (KA Einheit/l)	Inhibierungsrate in %
nicht behandelte Gruppe	3	175 \pm 48	100
CCl_4 behandelte Gruppe	9	9086 \pm 1017	0

Verbindung aus Beispiel 12 + CCl ₄ behandelte Gruppe	9	5585 ± 705	40
Verbindung aus Beispiel 8 + CCl ₄ behandelte Gruppe	7	6123 ± 2230	33
Verbindung aus Beispiel 4 + CCl ₄ behandelte Gruppe	10	3966 ± 1116	57
Silymarin + CCl ₄ behandelte Gruppe	10	7602 ± 662	17

Tabelle 3

	Anzahl der Testtiere	Grad der Necrose				
		0	1	2	3	4
nicht behandelte Gruppe	3	3	0	0	0	0
CCl ₄ behandelte Gruppe	9	0	0	0	0	9
Verbindung aus Beispiel 12 + CCl ₄ behandelte Gruppe	9	0	0	2	3	4
Verbindung aus Beispiel 8 + CCl ₄ behandelte Gruppe	7	0	1	2	1	3
Verbindung aus Beispiel 4 + CCl ₄ behandelte Gruppe	10	0	1	5	2	2
Silymarin + CCl ₄ behandelte Gruppe	10	0	0	1	7	2

Experiment 4

Wirkung des Inhibierens von hepatischen Fehlzuständen, induziert durch Acetaminophen (APAP)

[0084] Der leberschützende Effekt der Verbindung gemäß der vorliegenden Erfindung wurde untersucht entsprechend bekannter Verfahren, wie spezifisch hierunter beschrieben [siehe Wang et al., Toxicology and applied Pharmacology, 136, 146–154, 1996].

[0085] Die erfindungsgemäße Verbindung wurde in Maisöl suspendiert und die resultierende Suspension wurde in einer Menge von 1,0 mg/kg verabreicht. Jede Gruppe war aus 3–10 männlichen ICR-Mäusen (5–6 Wochen) zusammengesetzt, und die Testverbindung wurde oral 3 Tage lang in der Dosis von 50 mg/kg pro Tag verabreicht. Nach 2 Stunden ab der letzten Verabreichung der Testverbindung wurde Acetaminophen oral in einer Menge von 0,5 g/kg verabreicht. Bei diesem Experiment wurde Silymarin als Vergleichsverbindung verwendet. Nach 22 Stunden ab der Verabreichung von Acetaminophen wurde Blut aus dem individuellen Testtier entnommen und ALT- und LDH-Werte im Serum wurden bestimmt. Die Resultate, wie erhalten, sind in den folgenden Tabellen 4 und 5 beschrieben (in welchen ALT und LDH-Werte dargestellt sind als Mittelwert ± Standardabweichung). Zusätzlich wurde die Leber aus den Testtieren entfernt und dann auf die selbe Art und Weise,

wie in Experiment 3 beobachtet, um dem Grad der Hepatozytennekrose zu evaluieren. Das Resultat, wie erhalten ist beschrieben in der folgenden Tabelle 6. Gemäß der statistischen Analyse der Resultate, die in Tabellen 4–6 beschrieben sind, konnte erkannt werden, daß nur die nicht behandelte Gruppe und die Gruppen, die mit den Verbindungen der Beispiele 4 und 8 behandelt wurden, signifikant von der APAP behandelten Gruppe abwich ($p < 0,01$).

Tabelle 4

	Anzahl der Testtiere	Serum ALT-Wert (KA Einheiten/l)	Inhibierungsrate in %
nicht behandelte Gruppe	3	64 ± 3	100
APAP behandelte Gruppe	10	3666 ± 825	0
Verbindung aus Beispiel 12 + APAP behandelte Gruppe	10	2749 ± 1352	25
Verbindung aus Beispiel 8 + APAP behandelte Gruppe	9	98 ± 26	99
Verbindung aus Beispiel 4 + APAP behandelte Gruppe	10	186 ± 118	97
Silymarin + APAP behandelte Gruppe	10	2562 ± 712	31

Tabelle 5

	Anzahl der Testtiere	Serum LDH-Wert (KA Einheiten/l)	Inhibierungsrate in %
nicht behandelte Gruppe	3	680 ± 46	100
APAP behandelte Gruppe	10	12375 ± 2598	0
Verbindung aus Beispiel 12 + APAP behandelte Gruppe	10	5480 ± 2346	59
Verbindung aus Beispiel 8 + APAP behandelte Gruppe	9	1193 ± 546	95,6

Verbindung aus Beispiel 4 + APAP behandelte Gruppe	10	703 ± 83	99,8
Silymarin + APAP behandelte Gruppe	10	8095 ± 3534	37

Tabelle 6

	Anzahl der Testtiere	Grad der Necrose				
		0	1	2	3	4
nicht behandelte Gruppe	6	6	0	0	0	0
APAP behandelte Gruppe	5	0	0	0	0	5
Verbindung aus Beispiel 12 + APAP behandelte Gruppe	6	0	1	1	1	3
Verbindung aus Beispiel 8 + APAP behandelte Gruppe	9	7	0	2	0	0
Verbindung aus Beispiel 4 + APAP behandelte Gruppe	10	5	4	1	0	0
Silymarin + APAP behandelte Gruppe	10	0	0	2	3	5

Experiment 5

Schützender Effekt gegen Strahlungsschaden

[0086] Um den schützenden Effekt der erfindungsgemäßen Verbindung gegen Strahlungsschaden zu bestätigen, wurde der folgende Test ausgeführt.

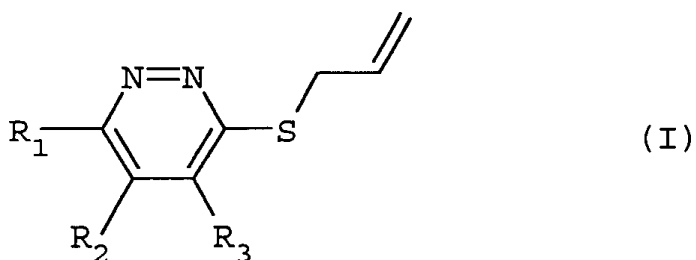
[0087] Männliche ICR-Mäuse wurden in einer Kammer gezogen, in der eine sterile Atmosphäre zur Verfügung gestellt wird, bei einer inneren Temperatur von 20–23°C und relativer Luftfeuchtigkeit von 50% mit ausreichend Wasser und Futtermitteln. Als das Gewicht der Maus 20–25 g erreichte, wurde die erfindungsgemäße Verbindung in Maisöl suspendiert und dann 2 Tage lang in der Dosis von 100 mg/kg (1 mg/kg) pro Tag verabreicht. Nach 3 Stunden seit der letzten Verabreichung der Testverbindung wurde die Maus mit 8 oder 9 Gy Strahlung bestrahlt. Spezifisch wurde die Maus in eine Kiste eingeführt, die aus Acryl gefertigt war, welche ihre Bewegung limitierte; und dann wurde der gesamte Körper mit Strahlung, die mit ⁶⁰CO radioaktivem Material produziert wurde, bei einer Bestrahlungsrate von 115,8 cGy/min bestrahlt. Die Dimension der Acrylbox war 31 × 31 cm², welches der mit der Strahlung betrahlten Fläche entspricht. 7 Tage nach der Bestrahlung mit γ-Strahlen wurde die Maus geopfert, um histopathologische Beobachtungen auszuführen. Die Resultate des Untersuchens der Überlebensrate während 30-tägiger Bestrahlung mit 8 Gy Bestrahlung ist in **Fig. 3** gezeigt, und das Ergebnis des Bestimmens der Überlebensrate nach einer gewissen Zeitperiode (10, 13 oder 30 Tage) durch die Bestrahlung mit 8 oder 9 Gy Strahlung ist in der folgenden Tabelle 7 beschrieben.

Tabelle 7

		Bestrahlung	Verbindung von Beispiel 4 + Bestrahlung	Verbindung von Beispiel 8 + Bestrahlung
30 Tage mit 8Gy Bestrahlung	Überlebens- zahl	11/23	18/23	16/23
	Überlebens- rate in %	48	78	70
10 Tage mit 9Gy Bestrahlung	Überlebens- zahl	7/23	16/23	17/23
	Überlebens- rate in %	30	70	74
13 Tage mit 9Gy Bestrahlung	Überlebens- zahl	0/23	3/23	5/23
	Überlebens- rate in %	0	13	22

Patentansprüche

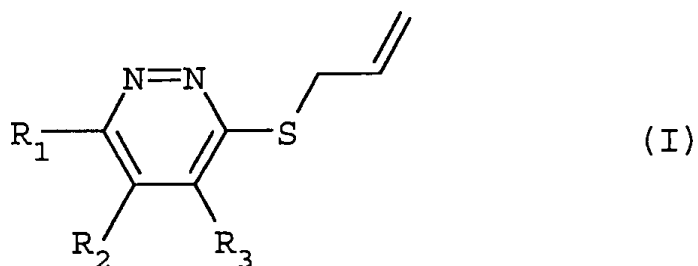
1. Allylthiopyridazinverbindung, die durch die folgende Formel (I) dargestellt wird:



oder ein pharmazeutisch akzeptables Salz davon, in welcher R_1 für ein Halogenatom, C_1 - C_4 -Alkoxy, n-Pentyloxy, i-Pentyloxy, Dialkylaminoalkoxy, Hydroxyalkoxy, Phenoxy, substituiert oder nicht substituiert mit Methyl, Benzyloxy oder Phenyl steht, und R_2 und R_3 unabhängig voneinander für Wasserstoff oder Methyl stehen oder R_2 und R_3 zusammen mit dem Kohlenstoffatom, an dem sie gebunden sind, einen gesättigten oder ungesättigten 6-gliedrigen Ring bilden, vorausgesetzt, daß R_2 und R_3 von Wasserstoff verschieden sind, wenn R_1 gleich Chlor ist.

2. Verbindung nach Anspruch 1, wobei R_1 für Chlor, Methoxy, Ethoxy, n-Propoxy, 2-Propoxy, n-Butoxy, 2-Butoxy, t-Butoxy, n-Pentyloxy, i-Pentyloxy, 2-(N,N-Dimethylamino)ethoxy, 2-Hydroxyethoxy, Phenoxy, Benzyloxy, 4-Methylphenoxy, 3-Methylphenoxy, 2-Methylphenoxy oder Phenyl steht und R_2 und R_3 unabhängig voneinander für Wasserstoff oder Methyl stehen oder R_2 und R_3 zusammen mit dem Kohlenstoffatom, an dem sie gebunden sind, einen Tetrahydrophthalazinring bilden.

3. Verfahren zur Herstellung einer Verbindung der Formel (I)

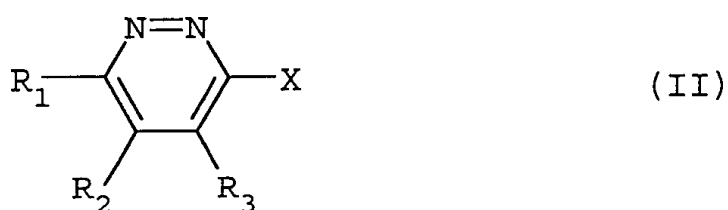


in welcher

R_1 für ein Halogenatom, C_1 - C_4 -Alkoxy, n-Pentyloxy, i-Pentyloxy, Dialkylaminoalkoxy, Hydroxyalkoxy, Phenoxy, substituiert oder nicht substituiert mit Methyl, Benzyloxy oder Phenyl steht, und

R_2 und R_3 unabhängig voneinander für Wasserstoff oder Methyl stehen oder R_2 und R_3 zusammen mit dem Kohlenstoffatom, an dem sie gebunden sind, einen gesättigten oder ungesättigten 6-gliedrigen Ring bilden, vorausgesetzt, daß R_2 und R_3 von Wasserstoff verschieden sind, wenn R_1 gleich Chlor ist, dadurch gekennzeichnet, daß

(a) eine Verbindung der Formel (II):

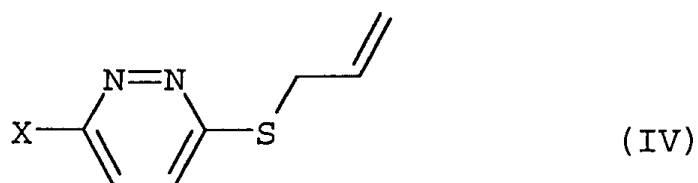


wobei R_1 , R_2 und R_3 wie oben definiert sind und X für Chlor steht, umgesetzt wird mit einer Verbindung der Formel (III)



in einem Lösungsmittel in der Gegenwart einer Base, um die Verbindung der Formel (I) herzustellen; oder

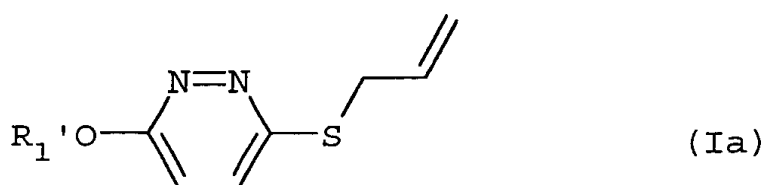
(b) eine Verbindung der Formel (IV)



wobei X für Chlor steht, umgesetzt wird mit einer Verbindung der Formel (V):



wobei R_1' für C_1 - C_4 -Alkyl, n-Pentyl, i-Pentyl, Dialkylaminoalkyl, Hydroxyalkyl, Phenyl, substituiert oder nicht substituiert mit Methyl, oder Benzyl steht, in einem Lösungsmittel zur Herstellung einer Verbindung der Formel (Ia):



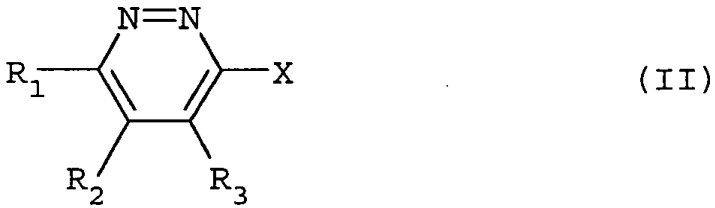
wobei R_1' wie oben definiert ist.

4. Verfahren nach Anspruch 3, wobei das Lösungsmittel in den Varianten (a) und (b) ausgewählt ist aus Methanol, Ethanol, Aceton, Methylethylketon oder einer Mischung davon.

5. Verfahren nach Anspruch 3, wobei die Base in der Variante (a) ein oder mehrere Metalle umfaßt, die aus der aus Natrium, Kalium und Lithium bestehenden Gruppe ausgewählt sind.

6. Verfahren nach Anspruch 3, wobei die Verbindung der Formel (V) hergestellt wird durch Umsetzen von Natriummetall mit einer Verbindung der Formel $R_1'OH$, wobei R_1' wie in Anspruch 3 definiert ist.

7. Verbindung, dargestellt durch die Formel (II):



in welcher R_1 , R_2 und R_3 wie in Anspruch 1 definiert sind und X für Chlor steht.

8. Pharmazeutische Zusammensetzung zur Vorbeugung und Behandlung von hepatitischen Erkrankungen oder zum Schutz von menschlichen Geweben vor Strahlung, welche eine wirksame Menge der wie in Anspruch 1 definierten Verbindung der Formel (I) zusammen mit einem pharmazeutisch akzeptablen Träger umfaßt.

9. Zusammensetzung nach Anspruch 8, wobei der pharmazeutisch akzeptable Träger ausgewählt ist aus Stärke, Lactose, Cellulosederivaten, Zucker oder einer Mischung davon.

Es folgen 3 Blatt Zeichnungen

Fig. 1

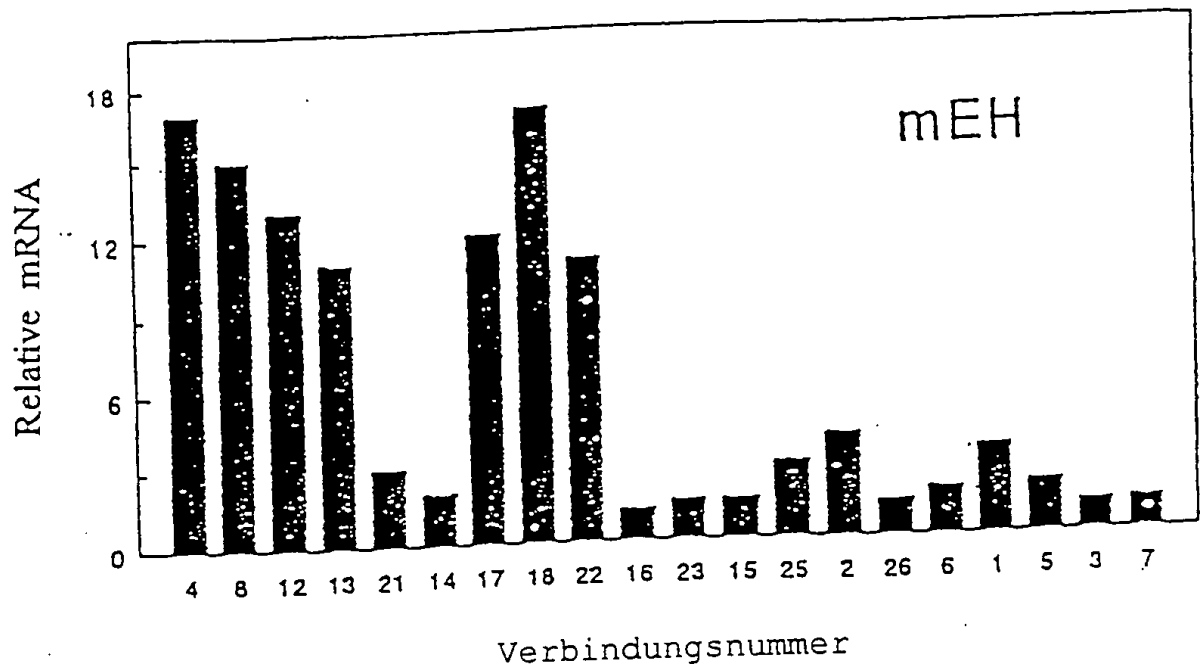


Fig. 2

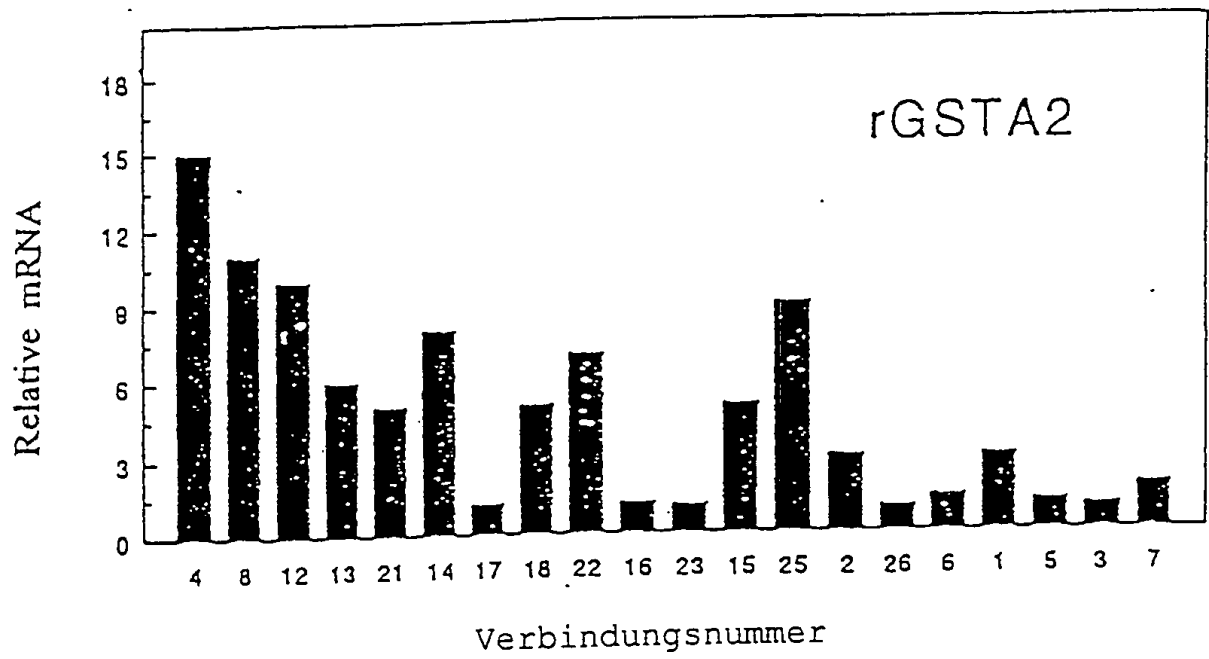


Fig. 3

