

새로운 6-Substituted Pyridazin-3(2H)-one 유도체 및 토토머형의 합성

김채원 · 박명숙[#]

덕성여자대학교 약학대학

(Received June 17, 2013; Revised September 11, 2013; Accepted October 1, 2013)

Synthesis of its Tautomeric Forms and New 6-Substituted Pyridazin-3(2H)-one Analogs

Chaewon Kim and Myung-Sook Park[#]

College of Pharmacy, Duksung Women's University, Seoul 132-714, Korea

Abstract — The new pyridazinone analogs were synthesized for development of candidates to retain anticancer activity. Various 6-substituted pyridazin-3(2H)-ones were prepared from the pyridazinyl chloride **3a~d** via endothermic nucleophilic substitution with hydroxide ion as nucleophile for 2~48 h. Pyridazinyl chloride **3a~d** could be converted to hydroxypyridazines (or pyridazin-3(2H)ones) using 1~5 equivalents of water (or 1 equivalent of sodium hydroxide) at reflux in DMF. The tautomerism of lactim form to lactam form was also accomplished in pyridazine derivatives. Formation of pyridazinones **10** was undertaken with stirring using sodium hydroxide at reflux in DMF for 2 h. Synthetic compounds were identified using NMR spectrum.

Keywords □ pyridazinones, hydroxypyridazines, endothermic nucleophilic substitution, tautomeric forms

Pyridazinone의 moiety는 여러 종류의 유용한 화합물들에서 찾아볼 수 있고,¹⁾ 이들 유도체의 합성,²⁾ 그의 토토머형에 대한 연구³⁾와 항암,⁴⁾ 항염, 항결핵, 정신분열증 억제작용⁵⁾ 등 생리활성들이 보고되어 왔다. 항암작용을 나타내는 pyridazinone 유도체에는 pyrrolo[3,4-d]pyridazinone,⁶⁾ aryl(*p*-sulfamylphenyl)pyridazinone,⁷⁾ piperazinyl-6-phenylpyridazinone⁸⁾ 등이 있다. 이들 중에 4-arylphthalazones, phenylpyridazinones, 4-hydroxypyridazinones 및 pyrano[3.2-c]pyridazinone⁹⁾ 유도체가 신약 후보물질로 검토되고 있다(Fig. 1).

본 연구에서는 항암후보물질을 도출하기 위하여 alkylthio, alkylsulfone 및 alkylamino moiety를 가지고 있는 pyridazinone 유도체의 구조를 디자인하였다. 본 연구를 위해 선도물질로 이용한 phenylpyridazinone 유도체와 최종 목표화합물로 디자인한 alkylthio(혹은 alkylsulfone, alkylamino) pyridazinones은 모두 C6위에 치환기를 가지고 있는 pyridazine 고리의 화합물이다. 본 연구에서는 선도물질의 pyridazinone moiety가 항암활성과 관련이 있을 것으로 생각하여 목표화합물의 구조를 디자인하게 되었다.

본 연구에서는 잠재적 항암활성이 있는 안정한 pyridazine 화

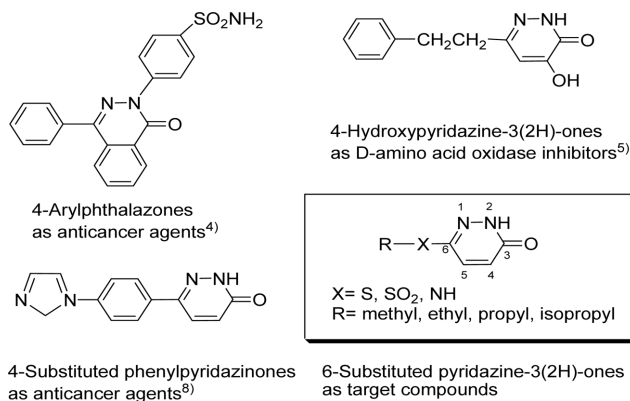


Fig. 1 – Reported pyridazin-3(2H)-one derivatives as anticancer agents and target compounds.

합물을 개발하기 위하여 신규 C6-위 치환된 pyridazinone 유도체들을 합성하기 위한 방법을 검토하고 이를 위한 친핵 치환반응에 대하여 보고하고자 한다.

실험방법

시약 및 분석기기

3,6-Dichloropyridazine, mercaptane 유도체 등 대부분의 시약은 Aldrich사에서 구입했고, 용점측정은 Büchi 535 Melting

[#]본 논문에 관한 문의는 저자에게로
(전화) 02-901-8395 (팩스) 02-901-8386
(E-mail) mspark@duksung.ac.kr

Point apparatus를 사용하였다. Bruker사의 300 MHz NMR spectrometer를 사용하여 proton과 carbon nuclear resonance를 측정했다. 이때 모든 화학이동들은 TMS를 reference로 했으며 ppm단위로 기록했다. 반응의 진행은 silica gel 60F 254로 피막된 TLC plate를 이용하여 *n*-hexanes : ethyl acetate(5/1, 1/1)으로 전개시켰으며, spot은 UV light로 확인했다.

General synthetic procedure for 2a and 2b

Dimethylformamide(10 ml)에 3,6-dichloropyridazine 1(1 g, 6.7 mmol)을 가한 후, water(500 mol%)을 가하고 25시간 동안 환류하였다. TLC로 반응의 종결을 확인한 후, 반응혼합액을 separating funnel로 옮기고, 반응액에 ethyl acetate(50 ml)와 물(20 ml)을 넣어 추출한다. 다시 정제수(10 ml×2)을 가해 추출하여 수층을 합한다. 혼합한 수층에 methylene chloride(10 ml×3)로 재추출한 후 유기층을 모아 무수 sodium sulfate로 건조하여 여과한 후 감압농축하여 갈색의 액체를 얻었다. 이 잔류물을 column chromatography(silica gel, *n*-hexanes : ethyl acetate=5 : 1)로 분리하여 흰색결정 2a 및 2b를 얻었다.

6-Chloro-3-hydroxypyridazine (2a) – Yield: 41%, mp 138°C (lit¹⁰ 142°C). ¹H NMR(DMSO-*d*₆) δ 7.48(d, *J*=9.6 Hz, 1H, pyridazine), 7.17(d, *J*=9.6 Hz, 1H, pyridazine), 3.33(s, 1H, OH). ¹³C NMR(DMSO-*d*₆) δ 159.59, 145.30, 128.79, 115.72 (pyridazine). FT-IR(KBr) cm⁻¹ 3646(OH), 3000(aromatic), 2922(aromatic), 2360(N=N).

6-Chloropyridazine-3(2H)-one (2b) – Yield: 25%, mp 101°C. ¹H NMR(DMSO-*d*₆) δ 13.14(s, 1H, NH), 7.51(d, *J*=9.9 Hz, 1H, pyridazine), 6.97(d, *J*=9.9 Hz, 1H, pyridazine). ¹³C NMR(DMSO-*d*₆) δ 159.59, 145.30, 128.79, 115.72(pyridazine). FT-IR(KBr) cm⁻¹ 3618(NH), 3059(aromatic), 2922(aromatic), 1662(C=O).

General synthetic procedure for 4a and 4b

Dimethylformamide(5 ml)에 6-propylthio-3-chloropyridazine 3b(0.8 g, 4 mmol)을 가한 후, sodium hydroxide(100 mol%)을 약간의 물에 녹여 가하고 25시간 동안 환류시켰다. 반응의 진행을 TLC로 확인한 후, 반응혼합액을 separating funnel로 옮기고, 반응액에 ethyl acetate(50 ml)와 물(20 ml)을 넣어 추출한다. 다시 정제수(10 ml×2)을 가해 추출하여 수층을 합한다. 혼합한 수층에 methylene chloride(10 ml×3)로 재추출한 후 유기층을 모아 무수 sodium sulfate로 건조하여 여과한 후 감압농축하여 연갈색의 액체를 얻었다. 이 잔류물을 column chromatography (silica gel, *n*-hexanes : ethyl acetate=5 : 1)로 분리하여 4a와 4b를 얻었다.

6-Propylthio-3-hydroxypyridazine (4a) – Yield: 3%, ¹H NMR(DMSO-*d*₆) δ 7.06(d, *J*=9.6 Hz, 1H, pyridazine), 6.71(d,

J=9.6 Hz, 1H, pyridazine), 3.23(t, *J*=7.2 Hz, 2H, SCH₂), 1.73 (m, 2H, CH₂), 1.02(t, *J*=7.2 Hz, 3H, CH₃). ¹³C NMR(CDCl₃) δ 158.46, 149.76, 128.07, 113.15(pyridazine), 32.68, 22.85, 13.59(propyl).

6-Propylthiopyridazine-3(2H)-one (4b) – Yield: 3%, mp 92~94°C. ¹H NMR(DMSO-*d*₆) δ 12.96(s, 1H, NH), 7.33(d, *J*=9.6 Hz, 1H, pyridazine), 6.80(d, *J*=9.6 Hz, 1H, pyridazine), 2.97(t, *J*=7.2 Hz, 2H, SCH₂), 1.65(m, 2H, CH₂), 0.95(t, *J*=7.2 Hz, 3H, CH₃). ¹³C NMR(DMSO-*d*₆) δ 159.97, 144.43, 134.07, 130.35(pyridazine), 32.39, 22.29, 13.49(propyl). FT-IR (KBr) cm⁻¹ 3440(NH), 3081(aromatic), 2923(aromatic), 1668 (C=O).

6-Methylsulfonylpyridazine-3(2H)-one (7)

Acetic acid(15 ml)에 3-chloro-6-methylthiopyridazine 3a (1.12 g, 7 mmol)을 가한 후, 35% hydrogen peroxide(100 mol%)을 가하고 실온에서 72시간 동안 교반하였다. TLC로 반응의 종결을 확인한 후, 반응액에 ether(30 ml)을 넣어 반응액을 희석한다. 다시 정제수(15 ml)을 가해 separating funnel에 옮겨 추출한다. Ether 층을 분리하여 1N-NaOH 용액(15 ml)으로 3회 추출한다. 수층을 모아 dichloromethane(50 ml)으로 3회 재추출한 후 유기층을 모아 무수 sodium sulfate로 건조하여 여과한 후 감압농축하여 황색의 고체를 얻었다. 이 잔류물을 column chromatography(silica gel, *n*-hexanes : ethyl acetate=1 : 1)로 분리하여 흰색결정 7을 얻었다.

mp 180°C. ¹H NMR(DMSO-*d*₆) δ 13.8(s, 1H, NH), 7.86(d, *J*=8.1 Hz, 1H, pyridazine), 7.1(d, *J*=7.5 Hz, 1H, pyridazine), 3.29(s, 3H, -SCH₃, methyl). ¹³C NMR(DMSO-*d*₆) δ 160.64 (C=O), 146.63, 131.58, 129.63(pyridazine), 41.12(methyl). FT-IR(KBr) cm⁻¹ 3435(NH, amide), 3081(aromatic), 2922 (aromatic), 1652(C=O).

6-Isopropylsulfonyl-3-chloropyridazine (8)

Acetic acid(10 ml)에 3-chloro-6-isopropylthiopyridazine 3c (1.32 g, 7 mmol)을 가한 후, 35% hydrogen peroxide(200 mol%)을 가하고 실온에서 22시간 동안 교반하였다. TLC로 반응의 종결을 확인한 후, 반응액에 sodium carbonate로 중화한 후 ether(70 ml)을 넣어 반응액을 정제수로 추출한다. 수층을 모아 ether(10 ml)으로 재추출한 후 유기층을 모아 무수 sodium sulfate로 건조하여 여과한 후 감압농축하여 황색의 액체를 얻었다. 이 잔류물을 column chromatography(silica gel, *n*-hexanes : ethyl acetate=1 : 1)로 분리하여 흰색결정 8을 얻었다.

Yield: 20%, mp 116~118°C TLC[*n*-hexanes : ethyl acetate (1 : 1)] R_f 0.5 ¹H NMR(CDCl₃) δ 8.18(d, *J*=8.8 Hz, 1H, CH,

pyridazine), 7.86(d, $J=8.8$ Hz, 1H, CH, pyridazine), 4.04(m, 1H, CH), 1.41(d, 3H \times 2, -CH₃). ¹³C NMR(CDCl₃) δ 160.16, 159.80, 129.98, 127.82(pyridazine), 52.91(CH), 14.99(methyl).

General synthetic procedure for 9 and 10

Dimethylformamide(5 ml)에 6-isopropylsulfonyl-3-chloropyridazine 8(0.1 g, 0.5 mmol)을 가한 후, sodium hydroxide(100 mol%)을 약간의 물에 녹여 가하고 2시간 동안 환류하였다. 반응이 진행됨에 따라 노란색에서 주황색으로 다시 갈색으로 반응액이 변화되었고, 반응의 진행은 TLC로 확인하였다. 반응혼합액을 separating funnel로 옮기고, 반응액에 ethyl acetate(30 ml)와 물(10 ml)을 넣어 추출한다. 다시 정제수(5 ml \times 2)을 가해 추출하여 수층을 합한다. 혼합한 수층에 methylene chloride(10 ml \times 3)로 재추출한 후 유기층을 모아 무수 sodium sulfate로 건조하여 여과한 후 감압농축하여 연갈색의 액체를 얻었다. 이 잔류물을 column chromatography(silica gel, *n*-hexanes : ethyl acetate = 5 : 1)로 분리하여 9와 10을 얻었다(Scheme 2 참조).

6-Hydroxysulfonyl-3-hydroxypyridazine (9) – Yield: 16%, ¹H NMR(DMSO-*d*₆) δ 7.51(d, $J=9.6$ Hz, 1H, pyridazine), 6.96(d, $J=9.6$ Hz, 1H, pyridazine), 1.22(s, 2H, OH \times 2).

6-Isopropylsulfonylpyridazine-3(2H)-one (10) – Yield: 8%, ¹H NMR(DMSO-*d*₆) δ 13.12(s, 1H, NH), 8.20(d, $J=9.0$ Hz, 1H, pyridazine), 8.09(d, $J=9.0$ Hz, 1H, pyridazine), 3.36(m, 1H, SCH), 1.29(d, $J=7.2$ Hz, 3H, CH₃), 0.98(d, $J=7.2$ Hz, 3H, CH₃). ¹³C NMR(DMSO-*d*₆) δ 160.55, 153.15, 133.03, 131.33(pyridazine), 54.35(CH), 16.48(CH₃).

6-Methylamino-3-hydroxypyridazine (12)

6-Allylthio-3-chloropyridazine 3d(0.75 g, 4 mmol)에 *n*-butanol(10 ml)를 가하고 교반하면서 녹인 후 ammonium chloride(0.21 g, 4 mmol)와 40% methyl amine(1.04 ml, 12 mmol)를 넣고 48시간 동안 환류시켰다. 반응종결 후 과량의 *n*-butanol을 감압농축하여 제거하고 농축액을 10% K₂CO₃(50 ml)로 녹인 후 ethyl acetate(40 ml \times 2) 추출했다. 유기층을 10% citric acid로 추출하고, 다시 수용액층을 K₂CO₃로 약알칼리성으로 변화시킨 후 ethyl acetate(40 ml \times 2)로 추출하였다. 유기층을 무수 sodium sulfate로 건조하여 감압여과하고, 감압농축한 후 황색의 oil상 물질을 얻었다. 이 잔류물을 column chromatography(silica gel, *n*-hexanes : ethyl acetate = 1 : 1)로 분리하여 황색 고체 12을 얻었다.

Yield: 6%, mp 194~197°C. ¹H NMR(DMSO-*d*₆) δ 7.34(d, $J=7.0$ Hz, 1H, pyridazine), 7.0(s, -NH, amino), 6.88(d, $J=7.0$ Hz, 1H, pyridazine), 3.36(s, 1H, -OH, hydroxy), 2.84(s, 3H, -CH₃, methyl). ¹³C NMR(DMSO-*d*₆) δ 159.27, 145.52, 128.87,

118.52(pyridazine), 28.39(methyl). FT-IR(KBr) cm⁻¹ 3646 (OH), 3439(NH), 3081(aromatic), 2923(aromatic).

6-Ethylamino-3-hydroxypyridazine (14)

6-Allylthio-3-chloropyridazine(0.75 g, 4 mmol)에 *n*-butanol(10 ml)를 가하고 교반하면서 녹인 후 ammonium chloride(0.21 g, 4 mmol)와 70% ethyl amine(0.97 ml, 12 mmol)를 넣고 48시간 환류시켰다. 12와 유사한 방법으로 workup하여 미황색 고체 14를 얻었다.

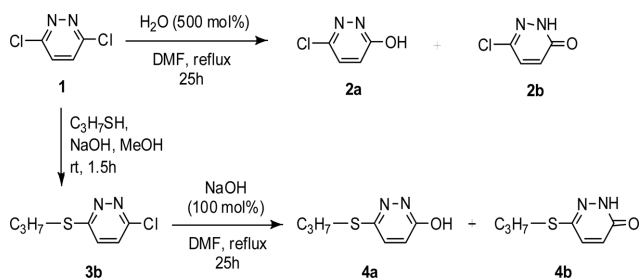
Yield: 5%, ¹H NMR(CDCl₃) δ 7.15(d, $J=9.0$ Hz, 1H, pyridazine), 6.70(d, $J=9.3$ Hz, 1H, pyridazine), 5.10(s, 1H, -NH), 3.42(q, 2H, -CH₂), 2.09(s, 1H, -OH), 1.28(t, 3H, -CH₃). ¹³C NMR(CDCl₃) δ 158.83, 146.75, 129.32, 116.59(pyridazine), 37.30, 14.93(ethyl).

실험결과 및 고찰

본 연구에서는 목표화합물인 3-hydroxypyridazine과 pyridazin-3(2H)-one 유도체를 얻기 위해 원료물질로 상업적으로 이용 가능한 3,6-dichloropyridazine를 이용하였다. 1961년 Taft 등이 최초 보고한 6-chloro-3-hydroxypyridazine에 대한 합성법은 0.6 N hydrochloric acid 시약을 이용하여 환류시킨 방법이었다.¹⁰ 본 연구에서는 3,6-dichloropyridazine 1에 nucleophile 시약으로 정제수(500 mol%)를 넣고 dimethylformamide(DMF) 용매 하에서 25시간 동안 환류시켜 2a와 2b를 얻었다. 2a의 융점은 138°C로써 Taft 등이 보고한 142°C와는 약간의 차이가 있다.

Alkylthio-3-hydroxypyridazine 4a 및 alkylthiopyridazinone 4b을 합성하기 위해서는 3,6-dichloropyridazine으로부터 alkylthiolation과 nucleophilic substitution을 이용하였다. 우선, alkyl mercaptane을 이용하여 alkylthiolation 반응으로 methylthio 중간체 3a, propylthio 중간체 3b, isopropylthio 중간체 3c, 그리고 allylthio 중간체 3d를 제조하였다. 이 alkylthio 중간체의 합성반응은 이미 보고된 방법을 응용하였다.¹¹ Proton NMR spectrum에서는 도입된 alkylthio기의 alkyl(methyl, propyl, isopropyl 및 allyl) peak의 출현으로 alkylthiolation의 성공 여부를 확인할 수 있었다. 합성한 3b에 sodium hydroxide(100 mol%)를 넣고 DMF 용매 하에서 25시간 동안 환류하여 4a와 4b를 얻었다(Scheme 1).

3-Chloro-6-methylsulfonylpyridazine 6은 화합물 3a에 acetic acid 용매 하에서 35% hydrogen peroxide(300 mol%)를 천천히 가하고 실온에서 18시간 동안 반응시켜 얻었다. 이 산화반응의 결과물에서 예상과는 다르게 methylsulfonylpyridazinone 7을 수득하였다. 이 7은 산화제로 사용한 35% hydrogen peroxide를 구성하고 있는 물이 nucleophilic substitution을 일으켜서 C3위

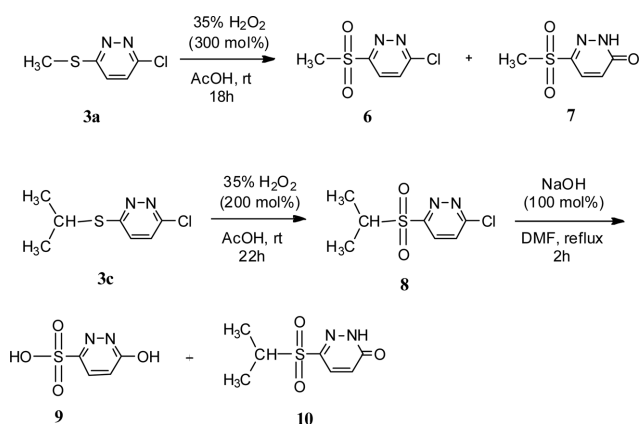


Scheme 1 – Synthetic route for 6-chloropyridazinone and 6-alkylthiopyridazinone analogs.

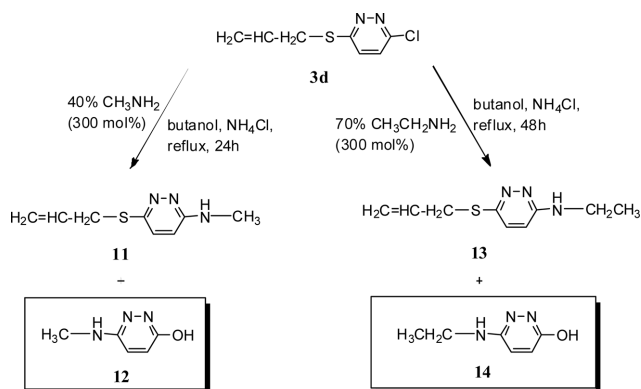
의 chlorine이 탈리되고 hydroxy기가 도입되었다. 이 반응으로 우선 생성된 3-hydroxypyridazine 유도체가 tautomeric form인 7로 빠르게 전환된 것으로 생각된다.

다른 한편으로, 3c에서 얻은 산화물 3-chloro-6-isopropylsulfonylpyridazine 8에 sodium hydroxide를 넣고 DMF 용매 하에서 2시간 동안 환류시켜 isopropyl기가 탈리된 sulfonic acid 유도체 9와 pyridazinone 유도체 10을 얻었다. 이 산화물 8의 합성반응은 이미 보고된 방법을 응용하였다.¹²⁾ 이 반응에서 sulfonic acid 유도체 9와 같은 예상 밖의 화합물이 생성되었다. 즉, 3-hydroxypyridazine과 pyridazinone 유도체가 아닌 sulfonic acid 유도체 9를 얻게 된 것이다. 이 9는 처음 생성되었을 hydroxypyridazine 중간체가 바로 hydroxide ion의 공격으로 C-S 결합이 분해되어 생성된 것으로 보인다(Scheme 2).

화합물 3-allylthio-6-methylaminopyridazine 11은 중간체 3d에 butanol 용매 하에서 40% methylamine(300 mol%)를 천천히 가하고 ammonium chloride를 촉매로 24시간 환류시켜 얻었다. 이 중간체 11 및 13의 합성반응은 이미 보고된 방법을 응용하였다.^{13,14)} Scheme 3에서 보는바와 같이 amination 반응의 결과물에서 예상 밖으로 3-hydroxy-6-methylaminopyridazine 12를 수득하였다. 이 12는 amine화제로 사용한 40% methylamine을 구성하고 있는 물이 11에 nucleophilic substitution을 일으켜서



Scheme 2 – Synthetic route for 6-alkylsulfonylpyridazinone analogs.



Scheme 3 – Synthetic route for 6-alkylamino-3-hydroxypyridazine analogs.

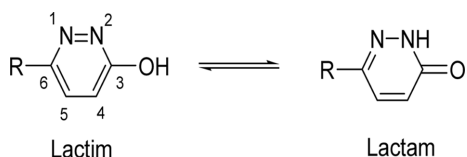
allylthio기가 탈리되고 hydroxy기가 도입된 것이었다. 이 반응은 pyridazine 고리의 C3위와 C6위에 도입되어 있는 allylthio기와 methylamino기의 상대적인 탈리도에 영향을 받는 것으로 보인다. 즉, nucleophile의 공격에 대해 allylthio기가 methylamino기 보다 상대적으로 좋은 leaving 기임을 나타낸 것이다.

이 반응은 화합물 3-allylthio-6-ethylaminopyridazine 13을 합성하는 과정에서도 동일하게 진행되었다. 화합물 13은 중간체 3d에 butanol 용매 하에서 70% ethylamine(300 mol%)를 이용하여 48시간 환류시켜 얻었다. 이 amination 반응의 결과물에서도 화합물 13 이외에 3-hydroxy-6-ethylaminopyridazine 14을 얻게 되었다. 이 화합물 14는 amine 화제로 사용한 70% ethylamine을 구성하고 있는 물이 목적물 13에 nucleophilic substitution을 일으켜서 allylthio기가 탈리되고 hydroxy기가 도입된 것이다(Scheme 3).

Pyridazinone 유도체의 lactam 및 lactim tautomer들은 상호 전환될 수 있다. 이들 tautomeric form들은 화학적 및 생물학적 성질과 밀접하게 연관되어 있어 중요하다. 이러한 분자배열의 차이는 이들 화합물들의 생체 내 동태 뿐 아니라 생리활성에도 영향을 미치게 될 수 있다. A. Katrusiak 등^{1,15)}은 이와 같은 pyridazine ring의 tautomerism에 대해 보고한 바 있다. 본 연구에서는 Scheme 1에서 보는 것처럼 2a, 2b 및 4a, 4b와 같은 lactim-lactam 구조를 나타내고 있는 tautomerism에 대해 관찰하였다. Tautomeric 구조는 pyridazine ring의 nitrogen(N2)과 oxygen (C3) 사이의 hydrogen atom의 이동으로 인해 생성된다.

본 연구에서는 pyridazinyl chloride 유도체들(3b 및 8)을 같은 조건으로 반응시켜 비교하였다. Sodium hydroxide를 사용하여 nucleophilic substitution을 시켰을 때 3b에서는 lactam 4b가 lactim 4a보다 안정성이 높아 더 많이 생성되었다. 이는 4a로 생성되었다가 서서히 다시 4b로 전환되었을 것으로 보인다. 8을 출발물질로 한 반응에서는 lactim D형의 유리 없이 lactam 10만을 얻을 수 있었다. 이 같은 결과는 3b와 8의 구조적 차이

에서 비롯된 것으로 보인다. **3b**은 C6위에 electron donating 기인 alkylthio기가 도입된 반면에 **8**에서는 C6위에 electron withdrawing기인 alkylsulfonyl기가 도입되어 있는 구조를 가지고 있다. 즉, electron withdrawing기로 인해 ring에 tautomerism이 빠르게 일어나 lactim구조 없이 lactam구조만을 분리할 수 있었던 것으로 보인다.



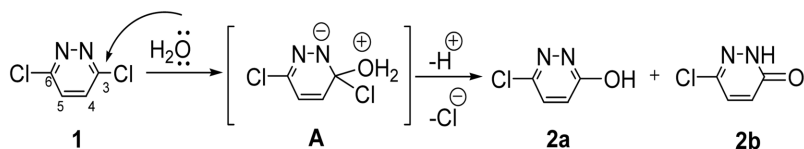
본 연구에서 관찰한 nucleophilic substitution은 물이나 sodium hydroxide에서 비롯된 hydroxide ion의 nucleophilic attack으로 이루어진다. 화합물 3,6-dichloropyridazine **1**은 C3위 및 C6위에 좋은 leaving기인 chlorine이 도입되어 있다. 반응 첫 단계로 물이 nucleophile로 작용하여 C3위에 addition이 일어나 중간체 **A**형이 만들어 진다. 연이어 C3위 C-Cl 결합이 끊어지고, proton이 chloride anion과 탈리된 후 rearomatization이 일어나 6-chloro-3-hydroxypyridazine **2a**가 만들어 지는 것으로 보인다.

연이어 **2a**에서 proton의 이동으로 tautomeric form인 **2b**가 생성된 것으로 보인다(Scheme 4의 a. 반응).

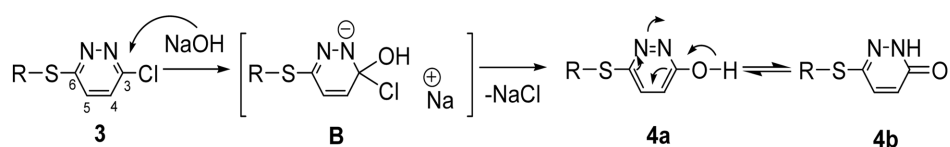
화합물 3-chloro-6-alkylthiopyridazine **3**은 C3위에 좋은 leaving기인 chlorine이 그리고 C6위에 electron donating기인 alkylthio기가 도입되어 있다. 반응 첫 단계로 sodium hydroxide에서 해리된 hydroxide가 nucleophile로 작용하여 C3위에 addition이 일어나 중간체 **B**형이 만들어 진다. 연이어 C3위 C-Cl 결합이 끊어지고, chloride anion이 sodium ion과 탈리된 후 rearomatization이 일어나 6-alkylthio-3-hydroxypyridazine **4a**이 만들어진다. 연이어서 proton이 이동하여 6-alkylthiopyridazinone **4b**으로 전환되어진다. 본 연구에서는 이 반응조건에서 **4a**보다 **4b**를 더 많이 얻게 되었는데, 이는 **4b**가 안정성이 더 높기 때문으로 생각된다(Scheme 4의 b. 반응).

화합물 3-chloro-6-alkylsulfonylpyridazine **8**은 C3위에 좋은 leaving기인 chlorine이 그리고 C6위에 electron withdrawing기인 alkylsulfonyl기가 도입되어 있다. 반응 첫 단계로 sodium hydroxide에서 해리된 hydroxide가 nucleophile로 작용하여 C3위에 addition이 일어나 중간체 **C**형이 만들어 진다. 연이어 C3위 C-Cl 결합이 끊어지고, chloride anion이 sodium ion과 탈리

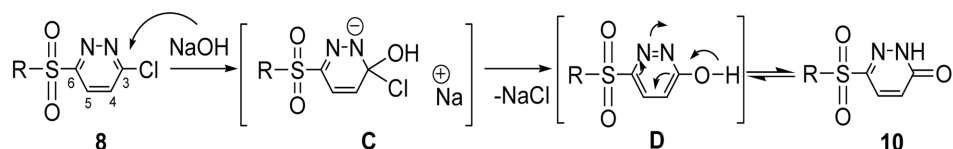
a. 3,6-substitution moiety: electron withdrawing group and good leaving group



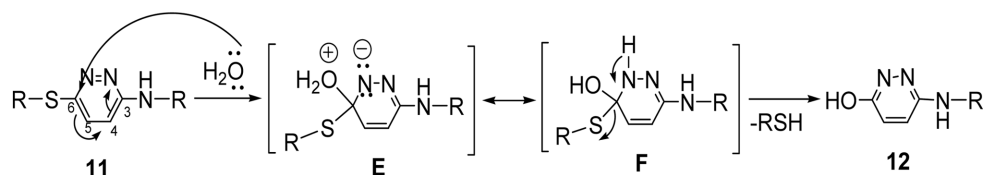
b. 6-substitution moiety: electron donating group, 3-substitution moiety: good leaving group



c. 6-substitution moiety: electron withdrawing group, 3-substitution moiety: good leaving group



d. 3,6-substitution moiety: electron donating group and relative reactivity



Scheme 4 – Proposed mechanism for SN_1 and SN_2 of pyridazine analogs using nucleophile.

된 후 rearomatization이 일어나 중간체 **D**형이 만들어 지는 것으로 보인다. 또다시 중간체 **D**에서 proton의 이동으로 tautomeric form인 **10**이 생성된다. 이 반응의 결과물에서는 중간체 **D**형을 얻을 수 없었다. 이는 electron withdrawing기인 alkylsulfony기의 영향으로 더 안정한 keto형인 **10**으로 대부분 전환되었기 때문으로 생각된다(Scheme 4의 c. 반응).

화합물 3-alkylthio-6-alkylaminopyridazine **11**은 C3위에 alkylthio기, C6위에 alkylamino기가 도입되어있는 구조이다. 고리에 이미 도입되어있는 두 치환기는 모두 electron donating기로서 pyridazine 고리에 비슷한 영향을 미치는 것으로 생각된다. 본 연구에서 반응시약으로 사용된 40% methylamine 및 70% ethylamine의 시약 중에 혼합되어 있는 물이 nucleophile로 작용하여 hydrolysis 반응이 일어났기 때문이다. 따라서 상대적으로 더 좋은 leaving기인 alkylthio기 쪽으로 물 nucleophile이 작용하여 중간체 **E**형이 만들어진다. Tetrahedral carbon을 가진 중간체 **E**형에서 resonance형인 **F**형이 만들어 질것으로 보인다. 분자 내 전자의 재배열로 곧이어 methylmercaptane(또는 ethylmercaptan)의 탈리가 일어난 후, 반응 결과물로서 6-alkylamino-3-hydroxypyridazine **12**을 얻게 되었다(Scheme 4의 d. 반응).

본 연구에서는 다양한 hydroxypyridazine 및 pyridazinone 유도체의 합성 반응을 Scheme 4에서와 같이 제안하고자 한다. Pyridazine의 친핵 치환반응을 통해 C6위에 electron donating기인 alkylthio기가 도입된 경우에는 lactim **4a**가 우선 생성되었다가 분자 내 전자의 재배열로 lactam **4b**로 전환되었다. C6위에 electron withdrawing기인 alkylsulfonyl기가 도입된 경우에는 lactim형의 유리 없이 빠르게 전환된 lactam **10**만을 얻을 수 있었다. C3위와 C6위 양쪽에 electron donating기인 alkylthio기와 alkylamino기가 도입되어있는 화합물 **11**의 반응에서는 alkylmercaptane이 탈리되어 lactim **12**만을 얻을 수 있었다.

결 론

항암작용이 있는 후보물질을 도출하기 위해 6-치환된 pyridazinone 유도체의 합성과 친핵 치환반응에 대해 고찰하였다. 최종 목표화합물의 합성은 3,6-dichloropyridazine을 출발하여 alkylthiolation과 nucleophilic substitution 경로, alkylthiolation과 oxidation 및 nucleophilic substitution 경로, 그리고 alkylthiolation과 amination 및 nucleophilic substitution 경로를 이용하였다. C3위의 hydroxy moiety 도입을 위해 nucleophile로써 물이나 sodium hydroxide를 사용했고, 반응물에 따라 실온 또는 환류의 온도에서 반응시켰다.

Pyridazinyl chloride의 친핵 치환반응의 결과는 lactim형과 lactam형의 두 가지가 만들어졌다. 이 반응은 처음에는 lactim형이 만들어졌다가 lactam형으로 전환되었다. 분자의 안정도에 따

라 두가지형의 혼합물, lactim형만 또는 lactam형만 얻어졌다. 이는 C6위에 도입된 치환기가 electron donating group, electron withdrawing group이냐에 따라 다르게 나타났다. C6위에 electron withdrawing group으로 치환되어 있는 구조에서는 tautomerism이 빠르게 일어나 lactam형만을 얻게 되었다.

본 연구에서 합성한 신규 6-치환된 pyridazin-3(2H)-one 유도체들은 잠재적 항암활성이 기대되는 화합물이다. 이들 합성 유도체의 항암 활성은 CCK-8 assays 등을 통해 검색할 계획이다.

감사의 말씀

본 연구는 덕성여자대학교 2012년도 교내연구비에 의하여 지원되었으며, 이에 감사드립니다.

참고문헌

- 1) Katrusiak, A., Piechowiak, P. and Katrusiak, A. : Synthesis, tautomeric forms specific intermolecular interactions, and its 4,5-dihydro analogs. *J. Mol. Struct.* **998**, 84 (2011).
- 2) Salivers, R., Dupas, G., Ple, N., Quèguiner, G. and Turck, A. : Solid-phase synthesis of 6-arylpiperidazin-3(2H)-ones. *J. Comb. Chem.* **7**, 414 (2005).
- 3) Feshin, V. P., Giller, S. A., Avota, L. Y. and Voronkov, M. G. : Study of chloro derivatives of pyridazine and the products of silylation of pyridazine and 6-pyridazine derivatives by Cl^{35} nuclear quadrupole resonance. *Chem. Heterocycl. Compd.* **12**, 440 (1976).
- 4) Yaseen, S., Ovais, S., Bashir, R., Rathore, P., Samim, M., Singh, S., Nair, V. and Javed, K. Synthesis and biological evaluation of 4-arylpthalazones bearing benzenesulfonamide as anti-inflammatory and anti-cancer agents. *Arch. Pharm. Chem. Life Sci.* **12**, 440 (2013).
- 5) Hondo, T., Warizaya, M., Niimi, T., Namatame, I., Yamaguchi, T., Nakanishi, K., Hamajima, T., Harada, K., Sakashita, H., Matsumoto, Y., Orita, M. and Takeuchi, M. : 4-Hydroxypyridazin-3(2H)-one derivatives as novel d-amino acid oxidase inhibitors. *J. Med. Chem.* **56**, 3582 (2013).
- 6) Malinka, W., Redzicka, A. and Lozach, O. : New derivatives of pyrrolo[3,4-d]pyridazinone and their anticancer effects. *IL Farmaco* **59**, 457 (2004).
- 7) Rathish, I. G., Javed, K., Ahmad, S., Bano, S., Alam, M. S., Akhter, M., Pillai, K. K., Ovais, S. and Samim, M. : Synthesis and evaluation of anticancer activity of some novel 6-aryl-2-(p-sulfamylphenyl)-pyridazin-3(2H)-ones. *Eur. J. Med. Chem.* **49**, 304 (2012).
- 8) Murty, M. S. R., Rao, R., Ram, K. R., Yadav, J. S., Antony, J. and Anto, R. J. : Synthesis and preliminary evaluation activity studies of novel 4-(aryl/heteroaryl-2-ylmethyl)-6-phenyl-2-[3-

- (4-substitutedpiperazine-1-yl)propyl]pyridazin-3(2H)-one derivatives as anticancer agents. *Med. Chem. Res.* **21**, 3161 (2012).
- 9) Al-Tel, T. H. : Design and synthesis of novel tetrahydro-2H-Pyrano[3,2-c]Pyridazin-3(6H)-one derivatives as potential anticancer agents. *Eur. J. Med. Chem.* **45**, 5724 (2010).
- 10) Taft, W. E., Adams, J. and Curran, W. V. : 5-Amino-3-chloropyridazine. a clarification. *J. Org. Chem.* **26**, 605 (1961).
- 11) Park, E. H. and Park, M. S. : Synthesis of potential anticancer 6-allylthio-3-aminopyridazine derivatives. *J. Kor. Chem. Soc.* **51**, 3, 244 (2007).
- 12) Park, E. H. and Park, M. S. : Oxidation of Pyridazinyl sulfides; Synthesis of new pyridazinyl sulfoxides and pyridazinyl sulfones with aqueous hydrogen peroxide. *Yakhak Hoeji* **56**, 390 (2012).
- 13) Lee, M. S., Kim, E. S., Moon, A. and Park, M. S. : Synthesis of novel allylthio heterocyclo(or aryl)alkylaminopyridazines and their anticancer activity against SK-Hep-1 cells. *Bull. Korean Chem. Soc.* **30**, 83 (2009).
- 14) Won, Y. H. and Park, M. S. : Synthesis and anticancer activities of new 3-allylthio-6-(mono or disubstituted) aminopyridazines. *Arch. Pharm. Res.* **33**, 189 (2010).
- 15) Katrusiak, A. and Katrusiak, A. : Tautomeric variety and methylation of 3,6-dihydroxy-4-methylpyridazine. *J. Mol. Struct.* **694**, 85 (2004).