

## 알릴티오피리다진 유도체 합성 및 UV-C 조사에 대한 방어효과

권순경<sup>#</sup> · 현진원<sup>\*</sup>

덕성여자대학교 약학대학, \*서울대학교 의과대학

(Received December 15, 1999)

### Synthesis of Allylthiopyridazine Derivatives and their Protective Effects of UV-C Irradiation

Soon-Kyoung Kwon<sup>#</sup> and Jin-Won Hyun<sup>\*</sup>

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

\*College of Medicine, Seoul National University, Seoul, 110-799, Korea

**Abstract** — Four 3-alkoxy-6-allylthiopyridazines and 3-chloro-6-allylthiopyridazine were synthesized and their protective effects against oxidative stress and UV-C irradiation were tested. 3-Methoxy-6-allylthiopyridazine and 3-ethoxy-6-allylthiopyridazine did not show protective effect on the oxidative stress but showed the strongest protective effect on UV-C irradiation among the tested compounds. Especially 500 µg/ml of the two compounds was the most effective concentration.

**Keywords** □ Allylthiopyridazine, 1,2-diazine, UV-C irradiation, oxidative stress, protective effect

최근 연구에 의하면 garlic oil의 유효화합물 성분 중 하나인 diallyl sulfide와 allicin은 1,2-디메틸하이드라진에 의해 유발된 암의 발생을 억제하거나 동일물질에 의해 유발되는 간독성을 방어하는 효과가 있는 것으로 밝혀진 바 있다.<sup>1-8)</sup>

간암에 대한 항암성과 간보호작용이 있는 마늘의 유효화합물은 mEH(microsomal Epoxy Hydrolase) 및 GST(Glutathione S-Transferase)의 세포내 발현율을 증가시키는 한편 Cytochrome P450 2E1 효소발현을 효과적으로 억제하여 독성물질 또는 방사선으로부터 인체장기를 보호하는 효과를 나타낸다는 사실이 밝혀졌고 분자 구조적으로 allylthio 기가 중요한 pharmacophore라는 사실을 알게 되었다.<sup>9-14)</sup> 따라서 알릴티오피리다진 합성을 포함하는 화합물을 광범위하게 합성하려는 계획 중의 하나로서 pyridazine(1,2-diazine) 모핵에 약리학 적 치환기로서 알릴티오피리다진을 도입시키고 알릴티오피리다

파라워치에 할로젠 또는 알콕시등의 치환기를 도입시킨 결과 기대했던 바와 같이 allylthiopyridazine 유도체들이 mEH 및 GST의 발현을 증가시키고 동시에 대사효소의 발현을 제어함으로써 인체조직을 방사선 및 활성형 공격물질로부터 보호할 수 있다는 사실이 밝혀지게 되었다.<sup>15-16)</sup>

본 연구에서는 산화적 stress 및 방사선 보다 파장이 큰 UV-C(200~290 nm) 조사에 대한 방어효과를 알아보기 위한 연구를 하고 지견을 얻었기에 보고하고자 한다.

#### 실험방법

##### 시약 및 기기

본 실험에 사용한 시약은 Aldrich, Sigma, Merck, Acros(Janssen chimica), BDH, Riedel-de Haen 등에서 구입하였고, 용매는 필요한 경우 증류하여 사용하였다. 융점 측정은 Fisher-Johns Melting Point apparatus와 Buchi 535 Melting Point apparatus를

<sup>#</sup> 본 논문에 관한 문의는 이 저자에게로  
(전화) 02-901-8393 (팩스) 02-901-8386

사용하였다. NMR spectrum은 TMS를 표준 물질로 하여 300 MHz Gemini Varian NMR Spectrometer로 측정하였고, 용매는 acetone-d<sub>6</sub>, CDCl<sub>3</sub>, DMSO-d<sub>6</sub>을 사용하였다. Multiplicity는 s=singlet, d=doublet, t=triplet, q=quartet, m= multiplet으로 약하여 표시하였다. IR spectrum은 Bruker Vector 22 FT-IR과 Perkin-Elmer 16F PC FT-IR을 사용하여 KBr pellet와 NaCl cell로 측정하였다. 반응의 진행은 Silica gel 60F 254로 피막된 TLC plate(Merck)를 hexane : ethyl acetate=5:1, chloroform : methanol=10:1, chloroform : ethyl acetate=10:1 등의 용매로 전개시켰으며, spot을 UV light 또는 iodine vapour로 확인하였다. Column chromatography는 silica gel 60 Å(70-230 mesh, Merck)을 사용하였다.

### 3,6-Dihydroxypyridazine(1)의 합성<sup>25)</sup>

Hydrazine monohydrate 3.4 ml(0.07 mol)에 정제수 50 ml를 가한 후 교반하면서 c-HCl 14 ml(0.14 mol)를 가하고 반응액이 끓는 상태가 되도록 가온하였다. 반응혼합물이 환류하기 시작하면 maleic anhydride 6.86g(0.07 mol)을 가하고 계속해서 3시간 동안 환류시킨 후 냉각하면 석출된 흰색결정을 여과하고 정제수로 세척하였다. 끓는 정제수에 용해시켜 불용성 물질을 제거하고 재결정하여 무정형 백색 결정을 얻었다.

Yield: 7.48g(95.3%), mp 292~294°C(Lit.<sup>28)</sup> 299.5~300°C), <sup>1</sup>H-NMR(Acetone-d<sub>6</sub>), δ 3.40(s, 1H×2, OH), 6.90(s, 1H×2, CH), IR(NaCl, cm<sup>-1</sup>) 3,350(OH), 3,000(aromatic), 1,561(aromatic)

### 3,6-Dichloropyridazine(2)의 합성

POCl<sub>3</sub> 30 ml에 완전히 건조한 3,6-dihydroxypyridazine 2.5g(0.02 mol)을 가하고, 7시간 동안 환류시킨 후 과잉의 POCl<sub>3</sub>를 감압농축하고, 얻어진 잔사에 소량의 얼음물을 넣고 교반하면 현탁액이 형성된다. 현탁액의 액성이 알카리로 될 때까지 28% 암모니아 수용액을 가하면 갈색 침전물이 생성된다. 이 침전물을 여과한 후 뜨거운 ethanol에 녹여 불용성 물질을 제거하고, 황성탄을 가하여 5분간 환류하고 silicon dioxide에 통과시켜 탈색한 후, 과잉의 ethanol을 감압증류하여 미백색의 판상 결정을 얻었다.

Yield: 2.17g(72.8%), mp 67~69°C(Lit.<sup>28)</sup> 68~69°C), <sup>1</sup>H-NMR(Acetone-d<sub>6</sub>) δ 8.00(s, 1H×2, CH), IR(NaCl,

cm<sup>-1</sup>) 3,060(aromatic), 1,555(aromatic)

### 3-Methoxy-6-chloropyridazine(3)의 합성

Molecular sieve(4Å)로 건조한 무수 methanol 200 ml에 Na 금속 4.60g(0.2 mol)을 가하여 용해시킨 후 3,6-dichloropyridazine 29.80g(0.2 mol)을 가하여 완전히 용해시켰다. 실온에서 1시간 동안 교반한 후 과잉의 methanol을 감압농축하여 제거한 다음 ether 100 ml를 가해 10분간 격렬히 교반하였다. Ether에 녹지 않는 불용성 물질(NaCl)을 제거하고 정제수 50 ml로 2회 세척한 후, 무수 Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>로 건조하고 ether를 감압농축하여 백색의 침상 결정을 얻었다.

Yield: 27.60g(95.5%), mp 87~89°C(Lit.<sup>22)</sup> 90°C), <sup>1</sup>H-NMR(CDCl<sub>3</sub>) δ 4.11(s, 3H, OCH<sub>3</sub>), 6.95~7.35(m, 1H×2, CH), IR(NaCl, cm<sup>-1</sup>) 3,016(aromatic), 2,927(CH), 1,596(aromatic)

### 3-Ethoxy-6-chloropyridazine(4)의 합성

무수 ethanol 300 ml에 Na 금속 4.60g(0.2 mol)을 가하여 용해시킨 후 3,6-dichloropyridazine 29.80g(0.2 mol)을 가하여 완전히 용해시켰다. 실온에서 1시간 동안 교반한 후 3의 합성방법과 동일하게 처리하여 침상의 미백색 결정을 얻었다.

Yield: 20.28g(63.9%), mp 60~62°C, <sup>1</sup>H-NMR(CDCl<sub>3</sub>) δ 1.42(t, 3H, CH<sub>3</sub>), 4.55(q, 2H, OCH<sub>2</sub>), 6.90~7.40(m, 1H×2, CH), IR(NaCl, cm<sup>-1</sup>) 3,055(aromatic), 2,983(CH), 2,906(CH), 1,586(aromatic)

### 3-Propoxy-6-chloropyridazine(5)의 합성

무수 n-Propanol 30 ml에 Na 금속 0.23g(0.01 mol)을 가하여 용해시킨 후 3,6-dichloropyridazine 1.49g(0.01 mol)을 가하여 완전히 용해시켰다. 3의 방법과 동일하게 처리하여 침상의 미황색 결정을 얻었다.

Yield: 1.13g(65.3%), mp 68~70°C, <sup>1</sup>H-NMR(CDCl<sub>3</sub>) δ 1.05(t, 3H, CH<sub>3</sub>), 1.80(q, 2H, CH<sub>2</sub>), 4.35(q, 2H, OCH<sub>2</sub>), 6.70~7.25(dd, 1H×2, CH=CH), IR(NaCl, cm<sup>-1</sup>) 3,050(aromatic), 2,970(CH), 1,540(aromatic)

### 3-(i-Propoxy)-6-chloropyridazine(6)의 합성

무수 2-Propanol 150 ml에 Na 금속 2.30g(0.1 mol)을 가하고 가열하여 용해시킨 후 3,6-dichloropyridazine

14.90g(0.1 mol)을 가하여 완전히 용해시켰다. 3의 방법과 동일하게 처리하여 침상의 백색 결정을 얻었다.

Yield : 15.43g(89.4%), mp 79~81°C, <sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ 1.40(d, 3H×2, C(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>), 5.50(m, 1H, OCH), 6.85~7.40(dd, 1H×2, CH=CH), IR(NaCl cm<sup>-1</sup>) 3,060(aromatic), 2,981(CH), 1,586(aromatic)

### 3-Chloro-6-thiopyridazine(7)의 합성

무수 acetone 50 ml에 thiourea 1.52g(0.02 mol)을 가해 완전히 녹인 후 3,6-dichloropyridazine 3.0g (0.02 mol)을 가하였다. 2시간 동안 환류시킨 후 생성된 황색 침전물을 여과하였다. 얻어진 침전물에 5% NaOH 용액 20 ml를 가하여 충분히 교반한 후 불용성 물질을 제거하고 c-HCl을 가해 강산성(pH 1)으로 하면 황색 침전이 생성된다. 석출한 결정을 여과하고 차가운 정제수로 세척하여 황색의 결정을 얻었다.

Yield : 1.75g(59.5%), mp 145~147°C(Lit.<sup>29</sup> 150°C), <sup>1</sup>H-NMR(DMSO-d<sub>6</sub>) δ 2.50(s, 1H, SH), 7.35~7.70(m, 1H×2, CH), IR(NaCl, cm<sup>-1</sup>) 3,395(SH), 3,146(NH), 3,036(aromatic)

### 3-Chloro-6-allylthiopyridazine(K-8)의 합성

무수 methanol 50 ml에 Na 금속 1.15g(0.05 mol)을 녹이고 3-chloro-6-thiopyridazine 7.33g(0.05 mol)을 가해 완전히 용해시켰다. 이 혼합물을 완전히 냉각한 후 allyl bromide 4.33 ml(0.05 mol)을 가하고 교반하면서 3시간 동안 환류시켰다. 과잉의 methanol을 감압농축하여 제거한 다음 ether 100 ml를 가해 10분간 격렬히 교반하였다. Ether에 녹지 않는 불용성 물질을 제거하고 정제수 50 ml로 2회 세척한 후, 무수 Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>로 건조하였다. Ether를 감압농축한 후 황갈색 oil상의 잔유물을 얻었다. 이 잔유물은 TLC 상에서 3개 spot(R<sub>f</sub>=0.6, 0.5, 0.4)이 나타나며 이중 R<sub>f</sub>=0.5인 물질이 목적 화합물로서 column chromatography(silica gel, hexane : ethyl acetate=10 : 1)로 분리하였다. 용출 용매를 감압농축하여 미황색의 침상결정을 얻었다.

Yield : 2.03g(21.8%), mp 68~70°C(Lit.<sup>25</sup> 66°C), <sup>1</sup>H-NMR(CDCl<sub>3</sub>) δ 4.00(d, 2H, SCH<sub>2</sub>), 5.25(dd, 2H, CH<sub>2</sub>), 6.00(m, 1H, CH), 7.20~7.50(dd, 1H×2, CH), IR(NaCl, cm<sup>-1</sup>) 3,096(aromatic), 1,501(aromatic)

### 3-Methoxy-6-allylthiopyridazine(K-6)의 합성

무수 methanol 50 ml에 Na 금속 1.15g(0.05 mol)을 녹이고 allylmercaptan 4.98 ml(0.05 mol)을 혼합한 다음 3-methoxy-6-chloropyridazine 7.23g(0.05 mol)을 가하고 24시간 동안 환류시켰다. K-8의 합성방법과 동일하게 처리하여 황색의 oil상 잔유물을 얻었다. 이 잔유물은 TLC 상에서 3개 spot(R<sub>f</sub>=0.8, 0.7, 0.5)이 나타나며 이중 R<sub>f</sub>=0.7인 물질이 목적 화합물로서 column chromatography(silica gel, hexane : ethyl acetate=10 : 1)로 분리하였다. 용출 용매를 감압농축하여 얻은 미백색의 oil상 잔유물을 high vacuum으로 2시간 동안 건조한 후 빙결하여 미백색 결정을 얻었다.

Yield : 3.99g(53.7%), mp 25~27°C, NMR(CDCl<sub>3</sub>) δ 3.95(d, 2H, SCH<sub>2</sub>), 4.08(s, 3H, OCH<sub>3</sub>), 5.25(dd, 2H, CH<sub>2</sub>), 6.00(m, 1H, CH), 6.80~7.30(dd, 1H×2, CH), IR(NaCl, cm<sup>-1</sup>) 3,056(aromatic), 2,947(CH), 1,596(aromatic)

### 3-Ethoxy-6-allylthiopyridazine(K-16)의 합성

무수 methanol 40 ml에 Na 금속 0.57g(0.025 mol)을 녹이고 allylmercaptan 2.49 ml(0.025 mol)을 혼합한 다음 3-ethoxy-6-chloropyridazine 3.96g(0.025 mol)을 가하고 24시간 동안 환류시켰다. K-8의 합성방법과 동일하게 처리하여 황색의 oil상 잔유물을 얻었다. 이 잔유물은 TLC 상에서 4개 spot(R<sub>f</sub>=0.9, 0.8, 0.7, 0.6)이 나타나며 이중 R<sub>f</sub>=0.8인 물질이 목적 화합물로서 column chromatography(silica gel, hexane : ethyl acetate=10 : 1)로 분리하였다. 용출 용매를 감압농축하여 얻은 미백색의 oil상 잔유물을 high vacuum으로 2시간 동안 건조한 후 빙결하여 미백색 결정을 얻었다.

Yield : 1.85g(37.7%), mp 28~30°C, <sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ 1.35(t, 3H, CH<sub>3</sub>), 3.90(d, 2H, SCH<sub>2</sub>), 4.45(q, 2H, OCH<sub>2</sub>), 5.15(dd, 2H, CH<sub>2</sub>), 5.95(m, 1H, CH), 6.70~7.15(dd, 1H×2, CH), IR(NaCl, cm<sup>-1</sup>) 3,056(aromatic), 2,979(CH), 1,590(aromatic)

### 3-(*n*-Propoxy)-6-allylthiopyridazine(K-17)의 합성

무수 methanol 75 ml에 Na 금속 1.15g(0.05 mol)을 녹이고 allylmercaptan 4.98 ml(0.05 mol)을 혼합한 다음 3-(*n*-propoxy)-6-chloropyridazine 8.63g(0.05 mol)을 가하고 24시간 동안 환류시켰다. K-8의 합성방법과 동

일하게 처리하여 황색의 oil상 물질을 얻었다.

Yield: 3.11g(29.6%), mp oil,  $^1\text{H-NMR}(\text{CDCl}_3)$   $\delta$  1.10(t, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 1.82(q, 2H,  $\text{CH}_2$ ), 3.95(d, 2H,  $\text{SCH}_2$ ), 4.40(q, 2H,  $\text{OCH}_2$ ), 5.25(dd, 2H,  $\text{CH}_2$ ), 6.00(m, 1H, CH), 6.75~7.30(dd, 1H $\times$ 2, CH=CH), IR(NaCl,  $\text{cm}^{-1}$ ) 3,070(aromatic), 2,950(CH), 2,930(CH), 1,590(aromatic)

### 3-(Isopropoxy)-6-allylthiopyridazine(K-18)의 합성

무수 methanol 150 ml에 Na 금속 2.30g(0.1 mol)을 녹이고 allylmercaptan 9.28 ml(0.1 mol)을 혼합한 다음 3-(isopropoxy)-6-chloropyridazine 17.26g(0.1 mol)을 가하고 24시간 동안 환류시켰다. K-8의 합성방법과 동일하게 처리하여 미황색의 oil상 물질을 얻었다.

Yield: 4.39g(20.9%), mp oil,  $^1\text{H-NMR}(\text{CDCl}_3)$   $\delta$  1.35(d, 3H $\times$ 2,  $\text{CH}(\text{CH}_3)_2$ ), 3.90(d, 2H,  $\text{SCH}_2$ ), 5.20(dd, 2H,  $\text{CH}_2$ ), 5.45(m, 1H, OCH), 5.95(m, 1H, CH), 6.70~7.20(dd, 1H $\times$ 2, CH=CH), IR (NaCl,  $\text{cm}^{-1}$ ) 3,050(aromatic), 2,978(CH), 2,933(CH), 1,590(aromatic)

### 세포 배양

실험에 사용된 세포주는 V79-4(Chinese hamster, Lung fibroblast)로서 10% FBS 첨가 RPMI 1640 배지를 사용하여 37°C, 5%  $\text{CO}_2$  배양기에서 배양하여 실험하였다. 실험에 사용한 적정 세포 수는 세포 접종부터 배양 후 MTT 실험 종료시에 세포가 지수함수적으로 활발히 증식하여, MTT 처리 후의 OD 570 값이 0.6~0.8에 이를 수 있는 세포수로 실험하였다.<sup>17-18)</sup>

### Oxidative stress 및 UV-C에 대한 방어 효과 실험

V79-4 세포를 6 $\times$ 10<sup>3</sup> cells/well 되게 96 well에 접종하였다. 1일 배양 후, 시료는 100% DMSO에 녹인 후, DMSO의 최종 농도가 0.02%되게 각 시료를 가하였다. 이때 시료의 농도는 20, 100, 500, 2500  $\mu\text{g}/\text{ml}$ 이 되도록 가하였다. 시료로 전처리하고, 2시간 후에  $\text{H}_2\text{O}_2$  100  $\mu\text{M}$ 로 처리 또는 UV-C 300  $\text{J}/\text{m}^2$ 로 조사하고, 2일 배양한 후, 세포 성장정도를 MTT 방법으로 측정하였다. 결과 분석은 다음과 같은 계산식에 의해 하였으며 20%이상의 값을 방어효과를 나타내는 것으로 결정하였다.<sup>19)</sup>

방어 효과 (%) =

$$\frac{\text{시료와 UV-C 처리군의 흡광도} - \text{UV-C처리군의 흡광도}}{\text{시료 처리군의 흡광도}}$$

### MTT 실험<sup>20)</sup>

V79-4세포에 시료와 UV-C 처리한 plate를 37°C, 5%  $\text{CO}_2$  배양기에서 2일 배양후, well당 0.1 mg의 MTT(3-[4,5-dimethyl thiazol-2-yl]-2,5-diphenyltetrazolium bromide)를 well에 가하고, 37°C에서 4 시간 배양하였다. 배지를 제거한 후 각 well에 DMSO를 100  $\mu\text{l}$ 씩 가하여 formazan 결정이 녹을 때 까지 10분정도 가볍게 진탕 한 후, microplate reader(scanning multiwell spectrophotometer)로 570 nm에서 흡광도를 측정하였다.

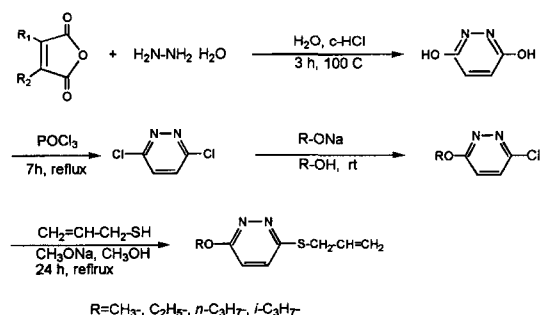
### 실험결과 및 고찰

#### 합성

Pyridazine 제조방법은 많이 발표되었으나 일반적으로 합성방법이 까다롭고 수율이 매우 낮다. 본연구에서는 maleic anhydride를 출발물질로 하는 간단하고 수득율이 높은 Mizzoni와 Spoerri<sup>26)</sup> 방법을 적용했다. Maleic anhydride와 hydrazine 염산염을 끓는 수용액 중에서 반응시켜 거의 정량적으로 목적화합물을 얻을 수 있었다.

화합물 1의 chlorination은 phosphoryl trichloride ( $\text{POCl}_3$ )를 사용하여 수행했으며, 비교적 높은 수율(72.8%)로 목적 화합물을 얻었다.

Pyridazine 핵은 전자 결핍 헤테로 고리로서 치환 반응이 쉽지 않다. 그러나 3번과 6번 위치의 Cl은 의외로 반응성이 좋다는 것이 밝혀진 바 있다. 본 실험



Scheme I - Synthesis of 3-allylthiopyridazine derivatives.

에서도 3번 위치의 Cl에 methoxy기의 치환은 거의 정량적으로 수득율이 좋았고, 반응 시간도 짧아 1시간 정도면 완결되었으며 기타 alkoxy 기의 치환도 거의 정량적으로 수득율이 좋았다.

Sulfhydryl(SH)의 치환반응은 화합물 2와 thiourea를 무수 acetone상에서 1:1 당량으로 반응시키면 pyridazine의 6번 위치에 thiuronium의 중간체가 만들어진다. 생성된 중간 물질은 alkali에 녹으면서 thion과 thiol의 isomer로 되고 강산에서 결정이 생성되었다.<sup>27)</sup> 이 물질은 녹는점이 145°C 부근이지만 완전히 녹지 않고 검게 변하며 탄화되는 유허화합물의 특징을 보인다. 본 실험에서는 생성된 물질이 thiol 단일체라고 생각하여 다각적으로 시도하였으나 결국 이 물질이 thion과 thiol의 isomer임을 NMR과 IR, TLC 등을 통하여 확인하였다.

Pyridazine 핵에 allylthio기의 도입은 예상과는 다르게 간단치 않았다. 본 실험에서는 6번 위치에 sulfhydryl group을 도입한 3-chloro-6-thiopyridazine을 합성한 후, 이 화합물을 출발물질로 이용하였다. Sodium methoxide 용액에 3-chloro-6-thiopyridazine을 가하여 Na염을 만든 후 allyl bromide를 가해 환류시키면 목적 화합물 K-8이 생성되었다.<sup>15)</sup> 그러나 상당한 양의 출발물질이 남아 수득율이 낮았으며, 반응시간을 연장하여도 결과는 개선되지 않고 더 많은 부반응이 일어나므로 반응시간을 3시간으로 하였다.

반응중 생성된 NaCl을 제거하고 ether로 추출한 잔류물은 황갈색을 띠는 oil상의 물질로, TLC상에서 3개의 spot(Rf=0.6, 0.5, 0.4)으로 나타나며 이중 Rf=0.5인 물질이 목적 화합물로 확인되었다. 출발물질을 제거하기 위하여 여러가지 용매를 이용한 재결정 방법을 시도하였으나 순수하게 분리할 수 없었으므로 silica gel column chromatography(4cm Φ×40 cm)를 실시하였다. Ether 추출물을 hexane:ethyl acetate=10:1의 용매로 용출시키고 TLC test 후 목적 화합물이 들어있는 부분만 모아 농축하여 미황색 침상 결정의 화합물 K-8을 얻었다. 화합물 3-alkoxy-6-allylthiopyridazine 유도체에 allylthio기의 도입은 allylmercaptan을 사용하였다. Sodium methoxide 용액에 allylmercaptan을 가해 Na-S-CH<sub>2</sub>-CH=CH<sub>2</sub>로 전환한 후 화합물 3~6을 가해 methanol 용매 중에서 1시간 동안 환류시켰다. 이 경우에도 출발물질이 상당량 남아 있으나 반응 시간을 연장하면 수득율이 향상되므로

24시간 동안 환류한 후 반응을 종료하였다. K-8의 정제와 마찬가지로 silica gel column chromatography를 이용하여 정제했다.

#### UV-C 조사에 대한 방어효과

4개의 3-alkoxy-6-allylthiopyridazine 유도체와 3-chloro-6-allylthiopyridazine은 모두 V 79-4 세포배양 실험에서 oxidative stress의 보호효과는 없었으나 (Fig. 1. 참조) UV-C 조사에 대한 방어효과는 있었다. 특히 그 중에서 3-methoxy-6-allylthiopyridazine(K-6)과 3-ethoxy-6-allylthiopyridazine(K-16)은 20% 이상의 높은 방어효과를 나타냈고 K-6는 K-16보다 효과가 더 높았으며, 특히 500 µg/ml 농도에서 가장 높은 활성을 나타냈다(Fig. 2 참조). 그리고 3번 위치에 염소로 치환된 K-8은 K-6와 K-16보다는 방어효과가 낮았지만 3-propoxy 유도체인 K-17과 K-18 보다는 높았다. 이러한 실험결과는 흰쥐에 경구투여용량(20, 60 mg/kg)에서 사염화탄소로 유발시킨 급성간장장애에 대한 간보호효과와 일치하는 것으로써 3번이 alkoxy기(methoxy와 ethoxy)로 치환되었을 때 간보호효과가

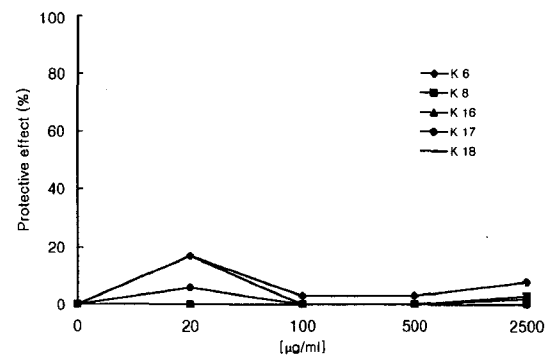


Fig. 1 - Protective effect of K compounds on the oxidative stress of V 79-4 cells.

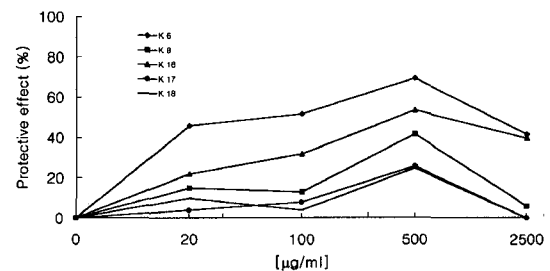


Fig. 2 - Protective effect of K compounds on the UV-C irradiated V 79-4 cells.

가장 강했고, 염소일 때는 낮았다.<sup>15-16)</sup> 또한 마우스에 100 mg/kg의 용량을 경구로 1일 1회 2일간 투여한지 3시간 후에 8 또는 9 Gy의 방사선 조사에 대한 보호 효과에서도 K-6와 K-16 투여군에서 생존율이 가장 높았다는 실험결과와도 일치한다.<sup>16)</sup> 따라서 K-6와 K-16은 UV-C에 대한 방어제로의 개발 가능성을 강하게 시사한다.

### 감사의 말씀

본 연구는 '99학년도 2학기 덕성여자대학교 약학연구소 연구비 지원으로 이루어 졌기에 감사합니다.

### 문 헌

- 1) Dorant, E., Brandt, P. A. Goldbolm, R. A., Hermus, R. J. J. and Sturmans, F.: Garlic and its significance for the prevention of cancer in humans; a critical view. *Br. J. Cancer* **67**, 424 (1993).
- 2) Spornins, V. L., Barany, G. and Wattenberg, L. W.: Effects of organosulfur compounds from garlic and onions on benzo[a]pyrene-induced neoplasia and glutathione S-transferase activity in the mouse. *Carcinogenesis* **9**, 131 (1988).
- 3) Hayes, M. A., Rushmore, T. H. and Goldberg, M. T.: Inhibition of hepatocarcinogenic responses to 1,2-dimethylhydrazine by diallyl sulfide, a component of garlic oil. *Carcinogenesis* **8**(8), 1155 (1987).
- 4) Dausch, J. G. and Nixon, D. W.: Garlic: A review of its relationship to malignant disease. *Preventive Medicine* **19**, 346 (1990).
- 5) Wargovich, M. J., Woods, C., Eng, V. W. S., Stephens, L. C. and Gray, K.: Chemoprevention of N-nitrosomethylbenzylamine-induced esophageal cancer in rats by the naturally occurring thioether, diallyl sulfide. *Cancer Res.* **48**, 6872 (1988).
- 6) Kim, B. H. and Lee, Y. S.: Study on the inhibitory effect of dially sulfide and/or diallyl disulfide in the rat hepatocarcinogenesis. *J. Appl. pharmacol.* **3**, 279 (1995).
- 7) Rawls, R.: Turning on carcinogens. *C & EN*. pp. 31. (Oct. 7. 1996).
- 8) Prous, J. R.: Chemoprotective agents. *The years drug news.* 1995. 631 (1995).
- 9) Kim, S. G. and Novak, R. F.: The induction of Cytochrome P450 2E1 by nitrogen- and sulfur-containing heterocycles: Expression and molecular regulation. *Toxicol. appl. pharmacol.* **120**, 257 (1993).
- 10) Kim, S. G., Chung, H. J. and Cho, J. Y.: Molecular mechanism of alkyl sulfide-modulated carbon tetrachloride-induced hepatotoxicity: The role of cytochrome P<sub>450</sub> 2E1, P<sub>450</sub> 2B and glutathione S-transferase expression. *J. pharmacol. exp. Ther.* **277**, 1058 (1996).
- 11) Ansher, S. S., Dolan, P. and Bueding, E.: Chemoprotective effects of two dithiolthiones and butylhydroxyanisole against carbon tetrachloride and acetaminophen toxicity. *Hepatology*, **3**, 932 (1983).
- 12) Lu, A. Y. H. and Miwa, G. T.: Molecular properties and biological functions of microsomal epoxides hydrolase. *Ann. Rev. Pharmacol. Toxicol.* **20**, 513 (1980).
- 13) Kim, S. G., Nam, S. Y., Kim, C. W., Kim, J. H., Cho, C. K. and Yoo, S. Y.: Enhancement of radiation-inducible hepatic glutathione S-transferases Ya, Yb1, Yb2, Yc2 gene expression by oltipraz: possible role in radioprotection. *Mol. Pharmacol.* **51**, 225 (1997b).
- 14) Nam, S. Y., Kim, J. H., Cho, C. K., Yoo, S. Y. and Kim, S. G.: Oltipraz enhancement of radiation-induced hepatic microsomal epoxide hydrolase gene expression in rats. *Radiat. Res.* **147**, 613 (1997).
- 15) Kwon, S. K., Lee, E. B., Kim, M. K. and Park, Y. N.: Synthesis of allylthiopyridazine derivatives and hepatoprotective activities. *Duksung Bull. Pharm. Sci.* **9**, 3 (1998).
- 16) Kwon, S. K. and Seoul Pharm. Co. Ltd.: Allylthiopyridazine derivatives and process for preparing the same. *U. S. Pat.* 5,942,511 (1999).
- 17) Kim, J. H., Lee, E. J., Hyun, J. W., Kim, S. H., Mar, W. C. and Kim, J. K.: Reduction of radiation induced chromosome aberration and apoptosis by dithiothreitol. *Arch. Pharm. Res.* **21**, 683 (1998a).
- 18) Kim, J. H., Kim, S. H., See, E. J., Gao, J., Wu, Z., Mar, W. C. and Chang, I. M.: Radioprotective effect of Lufukang, a chinese medicinal plants prescription. *Nat. Prod. Sci.* **4**, 26 (1998b).
- 19) Hyun, J. W., Yang, Y. M., Sung, M. S., Chung, H. S., Paik, W. H., Kang, S. S. and Park, J. G.: The cytotoxic activity of sterol derivatives from Pulsatilla

- chinesis regal. *J. Kor. Cancer*, **29**, 145 (1996).
- 20) Carmichael, J., DeGraff, W. G. and Gazdar, A. F.: Evaluation of a tetrazolium-based semiautomated colorimetric assay: assessment of chemisensitivity testing. *Cancer Research*, **47**, 936 (1987).
- 21) Tisler, M and Stanovnik, B. Pyridazine. : *Advances in heterocyclic chemistry* edited by A. R. Katritzky and A. J. Boulton, vol. 9, pp.211-320 (1968), Academic Press.
- 22) Drueg, J.: Pyridazine in der Arzneimittelsynthese, *Angew. Chem.* **70**, 5 (1958).
- 23) Drueg, J., Meier, Kd. and Eichenberger, K.: Heilmittelchemische Studien in der heterocyclischen Reihe, Pyridazine I. Derivate der cyclischen Maleinsaeure-und Citraconsaeure-hydrazids. *Helv. Chem. Acta.* **37**, 121 (1954).
- 24) Kwon, S. K.: Synthesis of 1,2-diazine derivatives. *Duksung Bull. Pharm. Sci.* **7**, 121 (1996).
- 25) Kocevar, M., Sranovnik, B. and Tisler, M.: Heterocycles, CI. Syntheses and Isomerizations of some allylthio nitrogen heterocycles. *Croatica Chemica* **45**, 457 (1973).
- 26) Mizzoni, R. H. and Spoerri, P. E. : Synthesis in the pyridazine series. *I. J. Am. Chem. Soc.* **73**, 1873 (1951).
- 27) Poliak, A. Stanovnik, B. and Tisler, M. : The reaction of some compounds containing thioamide groups with 2,4,6-trichloro-1,3,5-triazine. *Can. J. Chem.* **44**, 829 (1966).