

새로운 유기셀레늄 화합물: 잠재적 항암효과가 있는 알킬셀레노알릴티오피리다진 유도체의 합성

이선희 · 박명숙[#]

덕성여자대학교 약학대학

(Received November 1, 2010; Revised December 4, 2010; Accepted December 11, 2010)

New Organoselenium Compounds; Synthesis of Potential Anticancer Alkylselenoallylthiopyridazine Derivatives

Sun-Hee Lee and Myung-Sook Park[#]

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

Abstract — A series of new alkylselenoallylthiopyridazine **12**~**18** was synthesized as expected to retain anticancer activity. Synthetic route for the final compounds **12**~**18** was proceeded with diselenylation, hydrolysis/alkylation and allylthiolation from 3,6-dichloropyridazine **1**. Dichloropyridazinyl diselenide **2** was prepared from the diselenide anion using synthetic route of Bhasin. Diselenide **2** can be reduced to 3-chloropyridazinyl selenolate anion using hydrazine hydrate at rt in the presence of NaOH in THF. The anion thus formed reacts readily with alkyl halide to give the 3-alkylseleno-6-chloropyridazine **3**~**11**. 3-Alkylseleno-6-allylthiopyridazines **12**~**18** were prepared from **3**~**11** with allylmercaptan and sodium methoxide.

Keywords □ organoselenium, selenopyridazine, alkylselenylation, allylthiopyridazine, anticancer activity

셀레늄(Se)은 생체 내에서 단백질을 구성하고, 여러 가지 생화학적 기능을 하는 필수적인 요소이다. 셀레늄이 도입된 organic compound들이 항산화작용과 면역기능 강화, 정자의 운동성 상승, 갑상선 호르몬의 생산성에도 영향을 미친다는 연구가 보고되었다.^{1,2)} 이와 더불어 동물실험과 추가적인 실험에서 항암제의 선도물질로 이용될 수 있다는 보고들도 발표되었다(Fig. 1).^{3,4)} 그러나, 이들은 높은 농도에서 cytotoxic하거나 암을 일으킬 수 있기 때문에, 항암제 연구에서는 매우 제한적이다.⁵⁾

마늘(*Allium sativum* L.)은 우리 식생활에 없어서는 안 될 중요한 향신료이고, 예로부터 각종 성인병에 신비한 약효가 있는 것으로 알려져 왔다. 최근 연구에 의하면 간암에 대한 항암성과 간보호작용이 있는 마늘의 유효화합물은 mEH(microsomal Epoxy Hydrolase) 및 GST(Gluthathione S-Transferase)의 세포 내 발현을 증가시키는 한편 사이토크롬(Cytochrome) P450 2E1 효소발현을 효과적으로 억제하는 것으로 밝혀졌다. 마늘오일(garlic oil)의 유효화합물 성분의 하나인 allicin은 1,2-dimethyl-

hydrazine에 의해 유발된 암의 발생을 억제하거나 동일물질에 의해 유발되는 간독성을 방어하는 효과가 있는 것으로 밝혀진 바 있다.⁶⁻⁹⁾

본 연구에서는 약취와 불안정으로 인하여 의약으로 사용 불가능한 allicin의 구조를 변형시켜 약효의 개선은 물론 화학적으로 안정한 반합성 화합물의 합성을 목표로 하고 있다. 마늘의 유효 화합물들의 약효발현은 분자 구조적으로 분석해 볼 때 allylthio기가 약효와 관련이 있는 핵심 pharmacophore(약리단)일 것으로 추정하고 있다. 이와 같은 구조 활성관계에 기초하여 우리는 이미 다양한 allylthiopyridazine 화합물들을 설계하고, alkoxy, alkylthio 및 alkylamino기를 allylthiopyridazine 고리에 도입하였으며, 이들의 항암활성을 검색하여 보고하였다.¹⁰⁻¹²⁾ 본 연구에서는 alkoxy, alkylthio 및 alkylamino 치환기 대신 alkylseleno 치환기가 도입된 alkylseleno allylthiopyridazine 유도체를 설계하여 합성하고자 한다. 평면구조인 pyridazine을 중심으로 6-위치에 allylthio기와, 3-위치에 alkylselenium를 도입시킨 3-alkylseleno-6-allylthiopyridazine의 유도체를 합성하여 잠재적 항암제 후보물질로 도출하고자 한다(Fig. 2). 최종 목표화합물을 위한 합성경로는 출발물질로 3,6-dichloropyridazine을 사용하여 diselenylation, hydrolysis/alkylation 및 allylthiolation 반응으로 진행되었다

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

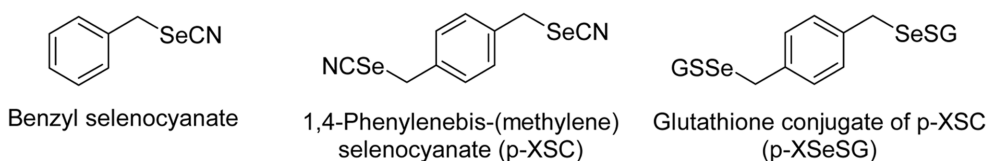


Fig. 1 – Reported anticancer organoselenium compounds.

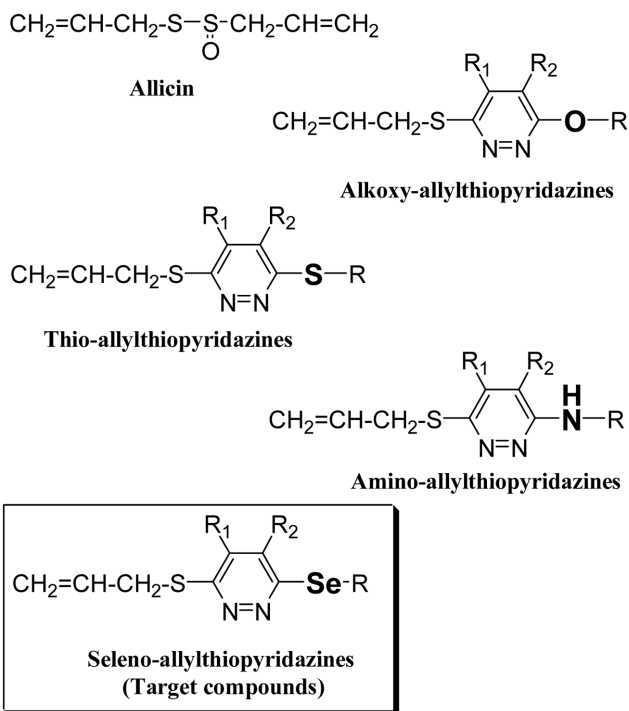


Fig. 2 – Reported allylthiopyridazines and Target compounds.

(Scheme 1).

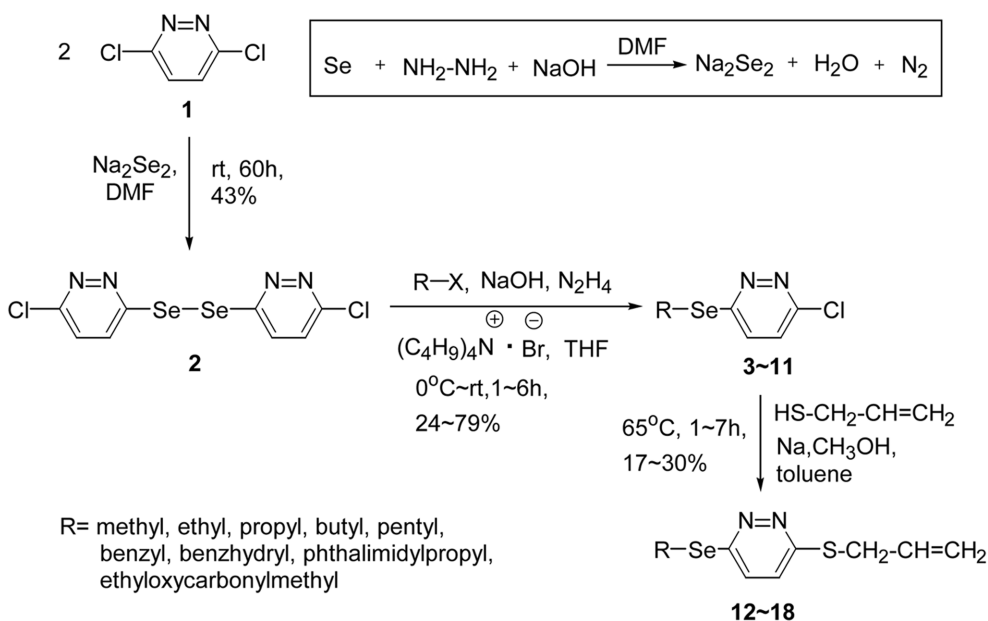
실험방법

시약 및 분석기기

Dichloropyridazine 등 대부분의 시약은 Aldrich사와 Merck사에서 구입했고, NMR spectrum은 Bruker사의 300 MHz NMR spectrometer를 사용하여 proton과 carbon nuclear resonance를 측정했다. 이때 모든 화학 이동들은 TMS를 reference로 하였으며 ppm단위로 기록했다. IR spectrum은 Perkin-Elmer FT-IR Spectrometer Spectrum GX을 사용하여 NaCl cell로서 thin-film으로 측정했다. 질량분석을 위해서는 Agilent 6890 GC 및 5973 MS의 GC-MS를 사용하였다. 반응의 진행은 Silica-gel 60F 254로 피막된 TLC plate를 이용하여 hexane : ethyl acetate, methylene chloride : methyl alcohol 등으로 전개시켰으며, spot은 UV light로 확인했다.

Dichloropyridazinyl diselenide의 합성(2)

Sodium hydroxide 1.5 g(38 mmol)과 selenium 가루 2 g(25



Scheme 1 – Synthetic route for 3-alkylseleno-6-allylthiopyridazine derivatives (12~18).

mmol)을 DMF(dimethylformamide) 30 ml에 가하였다. 이 용액에 hydrazine hydrate 0.8 ml(25 mmol)을 천천히 가한 후, 상온에서 6시간 동안 교반시켜, Na_2Se_2 가 생성되도록 하였다. 이 반응혼합액에 3,6-dichloropyridazine 3.724 g(50 mmol)을 천천히 가한 후, 이를 상온에서 60시간 동안 반응시켰다. 교반을 멈추고 미반응 selenium을 가라앉힌 다음에 상등액을 모두 ice water에 가한 후, 그 안에서 결정화하여 진황색의 결정(**2**)을 얻었다(Scheme 1).

Yield: 2.11 g(43%), mp 180~184°C, ^1H NMR(CDCl_3) δ 7.98 (d, $J=9$ Hz, 1H, pyridazine), 7.40(d, $J=9$ Hz, 1H, pyridazine). ^{13}C NMR(CDCl_3) δ 157.53, 156.21, 130.52, 129.39(pyridazine). FT-IR(NaCl) cm^{-1} 3050(aromatic), 1583(N=N), 1288(C-N), 764(Se-Se), 736(C-Cl). GC-MS m/z (%) 385(M+) 270.90 (100.0), 268.90(47.8), 272.90(42.1), 73.10(33.2).

General procedure for 3-alkylseleno-6-chloropyridazines (3-11)

3-Methylseleno-6-chloropyridazine (3) – Dichloropyridazinyl diselenide(**2**) 0.8 g(2 mmol)를 증류한 THF(tetrahydrofuran) 30 ml에 넣었다. Sodium hydroxide 0.4 g(10 mmol)과 촉매인 tetrabutylammonium bromide 0.13 g(0.4 mmol)를 가한 후에,

Table 1 – Optimal conditions for 3-alkylseleno-6-chloropyridazine derivatives (**3-11**)

No.	R	Molar ratio ^a	Rxn time (h)	MP (°C)	Yield (%)
3	—CH ₃	2	1	78~80	68
4	—CH ₂ CH ₃	2	1	56~60	79
5	—CH ₂ CH ₂ CH ₃	2	1	44~46	76
6	—CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₃	2	4	32~34	46
7	—CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₃	2	3	57~58	72
8	—CH ₂ —	2	1	88~90	55
9	—CH—	2	5	158~160	70
10	—(CH ₂) ₃ —	2	3	68	78
11	—CH ₂ —	2	3.5	oil	24

^aMolar Ratio of Reag./Subs. is the ratio of alkyl halide to substrate dichloropyridazinyl diselenide (**2**).

hydrazine hydrate 0.0214 g(0.67 mmol)을 천천히 가하였다. 이를 상온에서 1시간 동안 교반시켰다. 반응액의 반응온도를 0°C로 낮춘 후, methyl iodide 0.57 g(4 mmol)을 동량의 THF에 혼합한 용액을 반응액에 천천히 가하였다. 1시간 동안 0°C에서 교반시켰다. 반응종결 후 반응 용매인 THF를 감압농축하여 제거하고, ethyl acetate 50 ml로 반응의 혼합물을 모두 녹인 후 정제수 50 ml로 3회 추출했다. 목표화합물을 모두 유기층으로 보낸 후, sodium sulfate를 이용하여 건조하여 감압여과하고, 감압농축하여 용매를 제거하여 흰색 고체를 얻었다. 이 잔류물을 column chromatography(silicagel, solvent; *n*-hexane : ethyl acetate = 3 : 1)로 분리하여 연분홍색 물질(**3**)를 얻었다(Scheme 1 참조). 그 결과를 Table I에 표시하였다.

Yield: 0.564 g(68%), mp 78~80°C, ^1H NMR(CDCl_3) δ 7.42 (d, $J=9$ Hz, 1H, pyridazine), 7.23(d, $J=9$ Hz, 1H, pyridazine), 2.60(s, 3H, CH₃). ^{13}C NMR(CDCl_3) δ 158.60, 154.55, 130.27, 127.42(pyridazine), 6.32(CH₃). FT-IR(NaCl) cm^{-1} 3042(aromatic), 1556(N=N), 1384(CH₃), 764(C-Se), 736(C-Cl). GC-MS m/z (%) 208(M+), 128.0(100.0), 207.9(40.3), 130.0(37.7), 205.9 (19.4), 209.9(17.57).

3-Ethylseleno-6-chloropyridazine (4) – Yield: 79%, mp 58~60°C, ^1H NMR(CDCl_3) δ 7.41(d, $J=9$ Hz, 1H, pyridazine), 7.24(d, $J=9$ Hz, 1H, pyridazine), 3.35(q, $J=7.5$ Hz, 2H, CH₂), 1.56(t, $J=7.5$ Hz, 1H, CH₃). ^{13}C NMR(CDCl_3) δ 158.67, 154.50, 130.72, 127.24(pyridazine), 20.58, 15.31(ethyl). FT-IR (NaCl) cm^{-1} 3055(aromatic), 1556(N=N), 1449(CH₂), 1393 (CH₃), 764(C-Se), 731(C-Cl). GC-MS m/z (%) 122(M+) 141.1 (100.0), 194.0(82.2), 142.1(65.0), 222.0(54.3), 192.0(40.1).

3-Propylseleno-6-chloropyridazine (5) – Yield: 76%, mp 44~46°C, ^1H NMR(CDCl_3) δ 7.41(d, $J=8.9$ Hz, 1H, pyridazine), 7.22(d, $J=8.9$ Hz, 1H, pyridazine), 3.33(t, $J=7.3$ Hz, 2H, —CH₂—), 1.86(m, 2H, —CH₂—), 1.04(t, $J=7.3$ Hz, 3H, —CH₃). ^{13}C NMR(CDCl_3) δ 158.68, 154.49, 130.90, 127.16(pyridazine), 28.76, 23.29, 14.46(propyl). FT-IR(NaCl) cm^{-1} 3056(aromatic), 1458(CH₂), 1393(CH₃), 777(C-Se), 763(C-Cl). GC-MS m/z (%) 236(M+) 194.0(100.0), 192.0(49.9), 196.0(42.9), 155.1(29.0), 190.0(18.4).

3-Butylseleno-6-chloropyridazine (6) – Yield: 46%, mp 32~34°C, ^1H NMR(CDCl_3) δ 7.40(d, $J=8.9$ Hz, 1H, pyridazine), 7.22(d, $J=8.9$ Hz, 1H, pyridazine), 3.34(t, $J=7.4$ Hz, 2H, butyl), 1.85~1.75(m, 2H, butyl), 1.51~1.43(m, 2H, butyl), 0.94(t, $J=7.3$ Hz, 3H, butyl). ^{13}C NMR(CDCl_3) δ 158.75, 154.49, 130.67, 127.14(pyridazine), 31.93, 26.67, 23.03, 13.58 (butyl). FT-IR(NaCl) cm^{-1} 3053(aromatic), 2957(aromatic), 1462(C=N), 1382(C-H), 763(C-Se), 721(C-Cl). GC-MS m/z

(%) 250(M+) 194.0(100.0), 192.0(49.9), 196.0(43.2), 190.0(18.3), 191.0(16.9).

3-Pentylseleno-6-chloropyridazine (7) – Yield: 72%, mp 57~58°C, ¹H NMR(CDCl₃) δ 7.39(d, *J*=8.9 Hz, 1H, pyridazine), 7.21(d, *J*=8.9 Hz, 1H, pyridazine), 3.34(t, *J*=7.5 Hz, 2H, pentyl), 1.83(t, *J*=7.5 Hz, 2H, pentyl), 1.34(m, 4H, pentyl), 0.90(t, *J*=7.1 Hz, 3H, pentyl). ¹³C NMR(CDCl₃) δ 158.75, 154.49, 130.86, 127.13(pyridazine), 32.05, 29.58, 26.76, 22.19, 13.96(pentyl). FT-IR(NaCl) cm⁻¹ 3055(aromatic), 2965(aromatic), 1466(N=N), 1383(C-H), 763(C-Se), 715(C-Cl). GC-MS *m/z* (%) 264(M+) 194.0(100.0), 192.0(50.0), 196.0(43.5), 190.0(18.0), 191.1(16.19).

3-Benzylseleno-6-chloropyridazine (8) – Yield: 55%, mp 88~90°C, ¹H NMR(CDCl₃) δ 7.35(d, *J*=8.9 Hz, 1H, pyridazine), 7.22(d, *J*=8.9 Hz, 1H, pyridazine), 7.43~7.19(m, 5H, phenyl), 4.60(s, 2H, CH₂). ¹³C NMR(CDCl₃) δ 158.61, 154.83, 130.56, 127.35(pyridazine), 129.22, 128.65(phenyl), 29.95(CH₂). FT-IR(NaCl) cm⁻¹ 3056(aromatic), 3032(aromatic), 1449(N=N), 1384(C-H), 763(C-Se), 748(C-Cl). GC-MS *m/z*(%) 284(M+), 91.1(100.0), 203.1(45.9), 204.1(19.9), 205.0(16.9), 65.1(13.6).

3-Benzhydrylseleno-6-chloropyridazine (9) – Yield: 70%, mp 158~162°C, ¹H NMR(CDCl₃) δ 7.49(d, 4H, phenyl), 7.30(d, *J*=8.8 Hz, 1H, pyridazine), 7.14(d, *J*=8.8 Hz, 1H, pyridazine), 7.27~7.21(m, 6H, phenyl), 6.54(s, 1H, benzhydryl). ¹³C NMR(CDCl₃) δ 159.07, 154.81, 130.74, 127.45(pyridazine), 140.44, 128.83, 128.60, 50.92(benzhydryl). FT-IR(NaCl) cm⁻¹ 3016(aromatic), 1447(N=N), 1380(C-H), 763(C-Se), 745(C-Cl). GC-MS *m/z*(%) 360(M+), 167.1(100.0), 165.1(30.2), 168.1(17.8), 152.1(14.4), 166.1(11.4).

3-Phthalimidylpropylseleno-6-chloropyridazine (10) – Yield: 78%, mp 68°C, ¹H NMR(CDCl₃) δ 7.83(d, *J*=3.3 Hz, 2H, phthalimide), 7.73(d, *J*=3.3 Hz, 2H, phthalimide), 7.38(d, *J*=8.9 Hz, 1H, pyridazine), 7.26(d, *J*=8.9 Hz, 1H, pyridazine), 3.86(t, *J*=6.9, 2H, propylene), 3.40(m, 2H, propylene), 2.22(m, 2H, propylene). ¹³C NMR(CDCl₃) δ 157.96, 154.70, 130.87, 127.25(pyridazine), 168.45(phthalimide, C=O), 134.02, 132.02, 123.32(phthalimide), 37.65, 29.32, 23.51(propylene). FT-IR(NaCl) cm⁻¹ 3056(aromatic), 2943(aromatic), 1730(C=O), 761(C-Se), 719(C-Cl). GC-MS *m/z*(%) 381(M+), 160.1(100.0), 193.9(67.2), 220.9(46.7), 130.0(43.7), 191.9(31.6).

3-Ethylloxycarbonylmethylseleno-6-chloropyridazine (11) – Yield: 24%, oil, ¹H NMR(CDCl₃) δ 7.50(d, *J*=9 Hz, 1H, pyridazine), 7.28(d, *J*=9 Hz, 1H, pyridazine), 4.19(q, *J*=7.5 Hz, 2H), 4.07(s, 2H), 1.24(t, *J*=7.5 Hz, 3H). ¹³C NMR


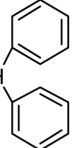
(CDCl₃) δ 157.18, 155.07, 130.26, 127.81(pyridazine), 171.02(C=O), 61.60, 27.10, 14.10. FT-IR(NaCl) cm⁻¹ 3030(aromatic), 1767(C=O), 1710(C-O), 761(C-Se), 720(C-Cl). GC-MS *m/z* (%) 280(M+), 207.0(100.0), 206.0(76.6), 205.0(52.7), 204.0(46.8), 280.0(44.9).

General procedure for 3-alkylseleno-6-allylthiopyridazines (12-18)

3-Methylseleno-6-allylthiopyridazine (12) – Sodium 0.675 g (21 mmol)을 메탄올 10 ml에 넣고 모두 녹인 후에, allylmercaptan 1.56 g(21 mmol)을 가하여 1시간 동안 실온에서 교반하였다. 이 용액을 toluene 30 ml에 3-methylseleno-6-chloropyridazine(3) 1.09 g(5.3 mmol)이 녹아있는 반응액에 천천히 가하였다. 이를 65°C에서 1시간 동안 반응시켰다. 반응종결 후 반응 용매를 모두 감압농축하여 제거한 후, ethyl acetate 50 ml를 가한 후 물 50 ml씩 3회 추출하였다. 유기층을 sodium sulfate로 건조시킨 후 감압 여과하고, 여액을 감압 농축하여 붉은색의 oil상 물질을 얻었다. 이 잔류물을 column chromatography(silicagel, solvent; *n*-hexane : ethyl acetate=10 : 1)로 분리하여 미황색 물질(12)를 얻었다. 그 결과를 Table II에 표시하였다.

Yield: 0.294 g(23%), oil, ¹H NMR(CDCl₃) δ 7.20(d, *J*=9 Hz, 1H, pyridazine), 6.82(d, *J*=9 Hz, 1H, pyridazine), 6.03~6.01(m, 1H, =CH), 5.32(d, *J*=2.7 Hz, 1H, CH₂=), 5.14(d, *J*=2.7 Hz, 1H, CH₂=), 3.95(d, *J*=2.1 Hz, 2H, SCH₂), 4.08(s, 3H, CH₃). ¹³C NMR(CDCl₃) δ 163.40, 154.55, 129.35, 118.62(pyridazine), 134.28, 118.09, 29.45(allyl), 54.69(methyl). FT-IR(NaCl) cm⁻¹ 2947(aromatic), 1591(N=N), 1390(CH₃), 1008, 921(allyl double band), 768(C-Se). GC-MS *m/z*(%) 246(M+),

Table II – Optimal conditions for 3-alkylseleno-6-allylthiopyridazine derivatives (12-18)

No.	R	Molar ratio ^a	Rxn time (h)	MP (°C)	Yield (%)
12	—CH ₃	4	1	oil	23
13	—CH ₂ CH ₃	4.5	7	oil	17
14	—CH ₂ CH ₂ CH ₃	4	6	oil	29
15	—CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₃	1	6	oil	30
16	—CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₃	4	6	36-38	30
17	—CH ₂ - 	1	5	oil	18
18	—CH- 	4.5	4	oil	30

^aMolar Ratio of Reag./Subs. is the ratio of allylmercaptan to substrate 3-alkylseleno-6-chloropyridazine.

143.5(100), 287.0(68.0), 87.1(63.3), 41.1(42.4), 45.1(22.1).

3-Ethylseleno-6-allylthiopyridazine (13) – Yield: 17%, oil. ^1H NMR(CDCl_3) δ 7.17(d, $J=9$ Hz, 1H, pyridazine), 7.05(d, $J=9$ Hz, 1H, pyridazine), 6.06–5.97(m, 1H, =CH), 5.36(d, $J=2.7$ Hz, 1H, $\text{CH}_2=$), 5.3(d, $J=2.7$ Hz, 1H, $\text{CH}_2=$), 3.91(d, $J=2.1$ Hz, 2H, SCH_2), 3.34(q, $J=7.5$ Hz, 2H, CH_2), 1.55(t, $J=7.5$ Hz, 3H, CH_3). ^{13}C NMR(CDCl_3) δ 158.94, 155.25, 128.15, 125.50(pyridazine), 134.46, 118.29, 32.83(allyl), 19.66, 15.51(ethyl). FT-IR(NaCl) cm^{-1} 3080(aromatic), 2960(aromatic), 1561(N=N), 1385(CH_2), 1130(CH_3), 988, 920(allyl double band), 757(C-Se). GC-MS $m/z(\%)$ 260(M+), 151.1(100), 245.1(90.4), 118.1(56.2), 243.1(44.1), 96.1(30.7).

3-Propylseleno-6-allylthiopyridazine (14) – Yield: 29%, oil. ^1H NMR(CDCl_3) δ 7.19(d, $J=9$ Hz, 1H, pyridazine), 7.08(d, $J=9$ Hz, 1H, pyridazine), 6.06~5.97(m, 1H, =CH), 5.33(d, $J=18.3$ Hz, 1H, $\text{CH}_2=$), 5.15(d, $J=9.9$ Hz, 1H, $\text{CH}_2=$), 3.98(d, $J=7.8$ Hz, 2H, SCH_2), 2.60(q, $J=9.3$ Hz, 2H, propyl), 1.59~1.54(m, 5H, propyl). ^{13}C NMR(CDCl_3) δ 158.62, 156.14, 128.64, 117.18(pyridazine), 132.89, 125.53, 32.89(allyl), 30.88, 19.83(propyl). FT-IR(NaCl) cm^{-1} 3052(aromatic), 2859(aromatic), 1561(N=N), 1386(CH_2), 1129(CH_3), 988, 920(allyl double band), 757(C-Se). GC-MS $m/z(\%)$ 274(M+), 151.1(100.0), 259.0(44.32), 118.1(41.6), 137.0(25.0), 257.0(21.9).

3-Butylseleno-6-allylthiopyridazine (15) – Yield: 30%, oil. ^1H NMR(CDCl_3) δ 7.19(d, $J=8.7$ Hz, 1H, pyridazine), 7.03(d, $J=9$ Hz, 1H, pyridazine), 6.06~5.97(m, 1H, =CH), 5.33(d, $J=15.6$ Hz, 1H, $\text{CH}_2=$), 5.15(d, $J=9.9$ Hz, 1H, $\text{CH}_2=$), 3.98(d, $J=6.9$ Hz, 2H, SCH_2), 3.34(t, $J=7.4$ Hz, 2H, butyl), 1.85~1.75(m, 2H, butyl), 1.51~1.43(m, 2H, butyl), 0.94(t, $J=7.3$ Hz, 3H, butyl). ^{13}C NMR(CDCl_3) 158.98, 155.49, 128.15, 125.41(pyridazine), 132.92, 118.36, 32.90(allyl), 31.97, 26.08, 23.05, 13.62(butyl). FT-IR(NaCl) cm^{-1} 2926(aromatic), 1562(N=N), 1384(CH_2), 1129(CH_3), 919, 821(allyl double band), 757(C-Se). GC-MS $m/z(\%)$ 288(M+), 171.0(100.0), 173.0(38.2), 73.1(24.9), 118.0(18.0), 117.1(17.3).

3-Pentylseleno-6-allylthiopyridazine (16) – Yield: 30%, mp 36~38°C. ^1H NMR(CDCl_3) δ 7.16(d, $J=9$ Hz, 1H, pyridazine), 7.03(d, $J=9$ Hz, 1H, pyridazine), 6.02~5.97(m, 1H, =CH), 5.33(d, $J=16.9$ Hz, 1H, $\text{CH}_2=$), 5.17(d, $J=0.3$ Hz, 1H, $\text{CH}_2=$), 3.98(d, $J=6.6$ Hz, 2H, SCH_2), 1.84(q, $J=7.5$ Hz, 4H, pentyl), 1.45~1.31(m, 4H, pentyl), 0.89(t, $J=7.2$ Hz, 3H, pentyl), ^{13}C NMR(CDCl_3) δ 158.95, 155.49, 128.05, 125.41(pyridazine), 132.91, 125.41, 34.74(allyl), 32.48, 29.57, 26.335, 22.23, 13.98(pentyl). FT-IR(NaCl) cm^{-1} 2925(aromatic), 1562

(N=N), 1384(CH_2), 1129(CH_3), 988, 919(allyl double band), 756(C-Se). GC-MS $m/z(\%)$ 302(M+), 151.1(100.0), 118.1(49.1), 287.0(44.0), 137.0(39.3), 217.0(26.2).

3-Benzylseleno-6-allylthiopyridazine (17) – Yield: 18%, oil. ^1H NMR(CDCl_3) δ 7.39(d, $J=3$ Hz, 2H, phenyl), 7.30~7.22(m, 3H, phenyl), 7.15(d, $J=8.9$ Hz, 1H, pyridazine), 7.04(d, $J=8.9$ Hz, 1H, pyridazine), 6.09~5.95(m, 1H, =CH), 5.35(d, $J=12.9$ Hz, 1H, $\text{CH}_2=$), 5.16(d, $J=11.1$ Hz, 1H, $\text{CH}_2=$), 4.59(s, 2H, CH_2), 3.97(d, $J=5.5$ Hz, 2H, SCH_2). ^{13}C NMR(CDCl_3) 158.27, 155.57, 127.20, 125.58(pyridazine), 132.84, 118.36, 32.91(allyl), 137.87, 129.12, 128.24, 127.90, 127.71(benzyl), 29.38(benzyl, CH_2). FT-IR(NaCl) cm^{-1} 3026(aromatic), 2922(aromatic), 1561(N=N), 1384(CH), 988, 920(allyl double band), 758(C-Se). GC-MS $m/z(\%)$ 322(M+), 91.1(100.0), 151.1(38.98), 241.1(27.3), 242.1(20.8), 307.0(20.3).

3-Benzhydrylseleno-6-allylthiopyridazine (18) – Yield: 30%, oil. ^1H NMR(CDCl_3) δ 7.47(d, $J=7.2$ Hz, 4H, phenyl), 7.31~7.23(m, 6H, phenyl), 7.21(d, $J=9$ Hz, 1H, pyridazine), 7.12(d, $J=9$ Hz, 1H, pyridazine), 6.51(s, 1H, benzhydryl), 5.99–5.96(m, 1H, =CH), 5.31(d, $J=17.5$ Hz, 1H, $\text{CH}_2=$), 5.14(d, $J=10.2$ Hz, 1H, $\text{CH}_2=$), 3.97(d, $J=4.8$ Hz, 2H, SCH_2). ^{13}C NMR(CDCl_3) δ 159.58, 155.78, 127.52, 125.71(pyridazine), 140.88, 128.56, 128.33, 127.52, 50.48(benzhydryl), 132.75, 118.45, 32.95(allyl). FT-IR(NaCl) cm^{-1} 3025(aromatic), 2918(aromatic), 1383(CH), 988. 920(allyl double band), 746(C-Se) GC-MS $m/z(\%)$ 398(M+) 167.2(100.0), 165.1(24.1), 152.1(15.6), 168.1(14.8), 166.2(9.9).

실험결과 및 고찰

다양한 organoselenium 화합물을 제조하기 위하여 K. K. Bhasin의 합성법을 이용하였다.^{13,14} Na_2Se_2 를 만들기 위해서 DMF에서 셀레늄과 sodium hydroxide를 가한 용액에 hydrazine hydrate를 천천히 적가하였다. 처음 sodium hydroxide와 selenium을 DMF에 가하였을 때, 반응액은 흑색가루인 selenium의 영향을 받아 흑색을 띠게 된다. Na_2Se_2 가 생성되어 질소방출이 끝나게 되면, 검녹색으로 변화되었다. Sodium hydroxide와 selenium을 반응시켜 Na_2Se_2 를 생성시키고, 곧바로 dichloropyridazine(1)을 가해 dichloropyridazinyl diselenide(2)를 만든다.

Alkylselenium 화합물(3)~(11)를 합성하기 위해서 화합물(2)을 이용하였다. 이 반응은 diselenide를 분해시켜 selenium anion을 생성시키는 hydrolysis와, 연이어 alkyl halide를 가하여 alkylation으로 진행하였다. 화합물(2)을 반응용매인 THF에 가하면 일부는 녹지만, 대부분은 녹지 않은 상태로 존재하였다. 이때

반응액은 황색을 띠며, hydrazine hydrate를 가하게 되면 붉은색으로 변화하였다. 이는 hydrazine hydrate가 염기존재 하에서 분해되어 질소를 방출하면서 전자를 생성되게 하고 이 전자에 의해서 selenium anion이 형성되기 때문이다. 이 반응을 위한 촉매로 tetrabutylammonium bromide를 사용하였다. 즉, selenium anion이 형성되고, 여기에 alkyl halide를 가하여 화합물(3)~(11)를 합성하였다.

이 반응 과정 중 hydrazine hydrate를 가하는 속도가 selenium anion 형성에 영향을 미쳤다. 빠르게 가했을 경우 selenium이 모두 다시 금속으로 떨어져 나오는 것을 관찰 할 수 있었다. 다른 한편으로 이 반응에 sodium borohydride를 사용한 경우에도 selenium이 금속으로 석출되어 selenium의 alkylation에 실패하였다. 화합물(3), (4), (5)을 합성할 때, 반응온도를 0°C에서 반응을 시켜야 부반응을 줄일 수 있었다. 화합물(6)~(11)를 합성할 때는 실온에서 진행시켰다.

¹H NMR spectrum에서는 화합물에 공통적으로 포함되어있는 pyridazine의 peak와 각각의 alkyl기에 해당하는 peak를 확인 할 수 있었다. 화합물(3)의 methyl기는 2.60 ppm에서 출현하였고, 화합물(4)의 ethyl기는 3.35, 1.56 ppm, 화합물(5)의 propyl기는 3.33, 1.86, 1.04 ppm, 화합물(6)의 butyl기는 3.34, 1.74, 1.43, 0.94 ppm, 화합물(7)의 pentyl기는 3.34, 1.83, 1.34(X2), 0.90 ppm에서 출현하였으며, 화합물(8)의 benzyl기의 CH₂는 4.60 ppm, 화합물(9)의 benzhydryl기의 CH는 6.54 ppm에서 출현하였다. FT-IR spectrum에서도 pyridazine과 각각의 alkyl기의 고유한 band를 확인 할 수 있었고, 이와 더불어 746~777 cm⁻¹ 부근에서 Se-C의 band를 확인 할 수 있었다.

화합물(12)~(18)의 합성에서 allylthio기의 도입은 allylmercaptan을 사용하여 진행하였다. 이 반응은 강염기성 조건에서의 allylthio기의 sulfur에 친핵성이 증가되고, 이로 인해 chlorine이 붙어있는 탄소 쪽으로 공격하여 새로운 C-S bond가 형성된다. 탈리된 chlorine은 sodium과의 결합하여 NaCl이 생성된다.

Allylthiolation에서는 반응용매로 toluene을 사용하였고, 강염기의 양과 allylmercaptan의 양을 당량비의 1~4.5배 사용하는 방법으로 진행하였다. 화합물(15), (17)을 얻기 위한 반응에서는 allylmercaptan의 양을 당량비의 1배를 사용하였다. 이들 반응에서 allylmercaptan의 양을 당량비의 4배를 사용하였을 때는 두 개의 allylthio가 도입된 3,6-diallylthiopyridazine이 만들어지게 된다. 즉, allylthiol anion의 친핵치환반응으로 chlorine 탈리로 인한 6-allylthiolation 뿐만 아니라 butylselenium기 및 benzylselenium기의 탈리로 인한 3-allylthiolation이 일어나게 되었음을 반복실험으로 확인하였다.

특별히 butylselenium기를 가지고 있는 화합물(6)과 benzylselenium기를 가지고 있는 화합물(8)의 반응에서만 이러한 결과를 나타내었다. 이것은 butylselenium기 및 benzylselenium기의

탈리가 methylselenium기, ethylselenium기, propylselenium기, pentylselenium기 및 benzhydrylselenium기보다 더 쉽게 일어나는 것을 의미하는 것이다. 이러한 결과로 methylselenium기, ethylselenium기, propylselenium기, butylselenium 및 pentylselenium기 중에서 butyl selenium기가 가장 good leaving 그룹이라고 추정할 수 있다. Benzyl과 benzhydryl 화합물을 같은 조건으로 반응시켰을 경우에도 benzylselenium기만 탈리되고 allylthio기가 3,6-위치에 2개 도입된 것으로 보아, benzylselenium기가 benzhydrylselenium기보다 더 good leaving 그룹이라고 생각 할 수 있다.

화합물(16)는 고체물질로서 용점이 36~38°C를 나타내었고, 나머지 화합물들(12)~(15), (17) 및 (18)은 낮은 용점화합물이거나, 액체물질이었다.

¹H NMR spectrum에서는 3.91~3.98 ppm에 -SCH₂-가 doublet signal로, 5.31~5.36 ppm, 5.14~5.17 ppm에서 CH₂=가 doublet AB system으로, 5.95~6.09 ppm 부근에서 =CH-가 multiplet signal로 출현하였다. ¹³C NMR spectrum에서는 132.75~134.46 ppm, 118.09~125.53 ppm, 29.45~34.74 ppm에서 출현되어 출발물질에 allylthio기가 도입되었음을 명확하게 해주었다.

Alkylselenopyridazinyl chloride(3)~(11)로 전환되는 Se-alkylation은 수득율이 24~79%으로 전반적으로 높은 편이었고, 연이은 최종 화합물(12)~(18)의 합성하기 위한 6-allylthiolation에서는 17~30%으로 낮았다. 이는 첫 번째 chlorine의 탈리반응과 두 번째 chlorine의 탈리반응이 다른 환경이었음을 입증하는 것이다. Pyridazine 고리에 대한 두 번째 친핵치환반응에서 수득율이 낮아진 것은 이미 도입된 3-위치의 alkylseleno기의 영향으로 고리에 전자가 풍부해져서 6-위치의 allylthio기의 도입이 어려웠기 때문이다.

본 연구에서는 새로운 항암제를 개발하기 위하여 항암성과 관련된 allylthio기와 organoselenium기를 조합한 약물분자를 설계하였다. 최종 목적 화합물로 alkylselenopyridazine의 para 위치에 allylthio기를 도입한 신규 alkylseleno allylthiopyridazine 유도체를 합성하였다.

결 론

본 연구에서는 잠재적 항암효과를 기대하는 후보물질을 개발하기 위해서 유기합성의 방법으로 새로운 organoselenium 화합물들을 탐색하였다. Selenium을 organic compound에 도입하기 위해서 sodium selenide를 제조하고, dichloropyridazine과 반응시켜 dichloropyridazinyl diselenide 화합물(2)로 전환시켰다. 화합물(2)를 hydrazine hydrate를 이용하여 분해하여 selenium anion를 형성하고, alkyl halide와 반응시켜 3-alkylseleno-6-

chloropyridazine 유도체 9종(3)~(11)을 제조하였다. Sodium methoxide를 용시 조제한 후, allylmercaptan을 가해 교반한 용액을 alkylselenopyridazinyl chloride에 가해 allylthio기가 도입된 3-alkylseleno-6-allylthiopyridazine 유도체 7종(12)~(18)을 합성하였다. 최종, allylthio기와 alkylselenium기를 pyridazine의 3, 6-위치에 도입시킨 새로운 organoselenium 화합물을 합성하였다.

감사의 말씀

이 논문은 덕성여자대학교 2009년도 교내연구비에 의하여 연구되었습니다. 이에 덕성여자대학교에 감사하는 바입니다.

참고문헌

- 1) Rotruck, J. T., Hoekstra, W. G., Ganther, H. E. and Pope, A. L. : Prevention of oxidative damage to rat erythrocytes by dietary selenium. *J. Nutr.* **120**, 689 (1972).
- 2) Arner, E. S. and Holmgren, P. : Physiological functions of thioredoxin and thioredoxin reductase. *Eur. J. Biochem.* **267**, 6102 (2000).
- 3) Huawei, Z., Gerald, F. and Combs, Jr. : Selenium as an anticancer nutrient: roles in cell proliferation and tumor cell invasion. *J. Nutr.* **19**, 1 (2008).
- 4) Karam, E. B. and Raghun, S. : Mechanisms of mammary cancer chemoprevention by organoselenium compounds. *Mutation Research* **551**, 181 (2004).
- 5) Tarze, A., Dauplais, M. and Plateau, P., et al. : Extracellular production of hydrogen selenide accounts for thiol-assisted toxicity of selenite against *Saccharomyces cerevisiae*. *J. Biol. Chem.* **282**, 875 (2007).
- 6) Kim, B. H. and Lee, Y. S. : Study on the inhibitory effects of diallyl sulfide and/or diallyl disulfide in the rat hepatocarcinogenesis. *J. Appl. Pharmacol.* **3**, 279 (1995).
- 7) Hayes, M. A., Rushmore, T. H. and Goldberg, M. T. : Inhibition of hepatocarcinogenic response to 1,2-dimethylhydrazine by diallyl sulfide, a component of garlic oil. *Carcinogenesis*. **8**, 1155 (1987).
- 8) Kwon, K. B., Yoo, S. J., Ryu, D. G., Yang, J. Y., Rho, H. W., Kim, J. S., Park, J. W., Kim, H. R. and Park, G. H. : Induction of apoptosis by diallyl disulfide through activation of cascade-3 in human leukemia HL-60 cells. *Biochem. Pharmacol.* **63**, 41 (2002).
- 9) Shin, H. S. and Kwon, S. K. : Synthesis of allylthiopyridazine derivatives and inhibition of aflatoxin B₁-induced hepatotoxicity in rats. *Arch. Pharm. Res.* **26**, 351 (2003).
- 10) Park, E. H. and Park, M. S. : Synthesis of potential anticancer 6-allylthio-3-aminopyridazine derivatives. *J. Kor. Chem. Soc.* **51**, 244 (2007).
- 11) 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).
- 12) 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).
- 13) Bhasin, K. K. and Singh, J. : A novel and convenient synthesis towards 2-pyridylselenium compounds: X-ray crystal structure of 4,4'-dimethyl-2,2'-dipyridyl diselenide and tris(2-pyridyl-seleno)methane. *J. Organometallic Chemistry* **658**, 71 (2002).
- 14) Bhasin, K. K., Singh, N., Kumar, R., Deepali, D. G., Mehta, S. K., Klapoetke, T. M. and Crawford, M. J. : A convenient synthesis of some symmetrical and unsymmetrical diarylmethyl sulfur and selenium compounds: X-ray crystal structure of diphenylmethylseleno-2-propene and bis[*p*-chlorophenyl (phenyl)methyl] diselenide. *J. Organometallic Chemistry* **689**, 3327 (2004).