

## 비대칭적인 피리다진 유도체의 싸이올레이션; 새로운 메틸피리다진의 위치이성질체 합성

박해선 · 박명숙<sup>#</sup>

덕성여자대학교 약학대학

(Received November 3, 2014; Revised November 24, 2014; Accepted December 2, 2014)

## Thiolation of Asymmetry Pyridazines; Synthesis of a Regioisomer of New Methylpyridazines

Hae-Sun Park and Myung-Sook Park<sup>#</sup>

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

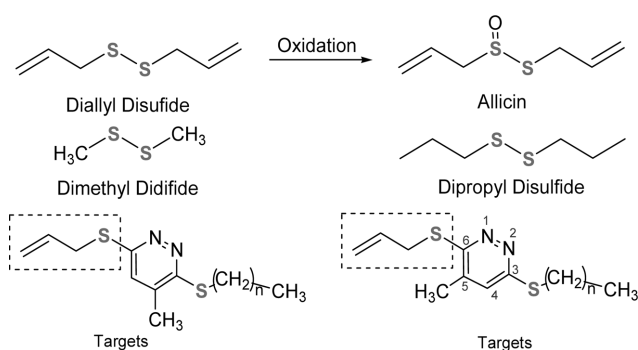
**Abstract** — A new series of 3-alkylthio-6-allylthio-4(or 5)-methylpyridazines (**6a-e**)-(7a-e) was synthesized from citraconic anhydride (**1**) for development of candidates possessing anticancer activity. The process involves the formation of pyridazine ring, dichlorination, monoallylthiolation, and further another alkylthiolation. Compounds **6a-e**, and **7a-e** were prepared from 6-allylthio-3-chloro-4-methylpyridazine (**4**) or 6-allylthio-3-chloro-5-methylpyridazine (**5**) via nucleophilic substitution reaction with alkylthiol anion as nucleophile. Intermediates **4**, and **5** could be converted to target pyridazines **6a-e**, and **7a-e** using 1~1.5 equivalent of alkylthiol at reflux temperature in methanol in the presence of sodium hydroxide. The structures of the synthetic compounds were characterized using NMR, IR, and GC-MS analyses.

**Keywords** □ diallyl disulfide, asymmetry pyridazine, methylpyridazines, alkylthiolation, regioisomer

마늘(*Allium sativum*)에서 분리한 유황화합물 성분 중에는 여러 종류의 dialkyl sulfide와 dialkyl disulfide 화합물이 있다.<sup>1)</sup> 이중 diallyl disulfide가 인체 내 산화반응으로 전환된 성분이 allicin이다.<sup>2-4)</sup>

Dialkyl disulfide는 화학적으로 불안정하고 반응성이 높은 성질을 지니고 있고, 폭넓은 생물학적 작용을 가지고 있다. Dialkyl disulfide가 간암 및 백혈병과 관련된 항암성질을 나타낸다는 연구 보고가 있었다.<sup>4-7)</sup> 마늘의 유효성분으로 알려진 allicin은 저온 상태에서만 안정한 성질을 가지고 있다. 이것은 자체적으로 분해반응을 일으켜 실온에서 diallyl disulfide, diallyl trisulfide로 분해되기도 한다. Dialkyl disulfide 및 allicin의 항암효과는 공통구조인 allylthio기가 핵심 pharmacophore 일 것으로 추정하고 있다(Fig. 1).<sup>8)</sup>

최근, diaryl sulfide의 합성과 항암활성에 대한 연구도 보고되



**Fig. 1** – Diallyl disulfides and allicin from garlic, and target allylthio-alkylthio-5(or 4)-methylpyridazines.

었다.<sup>9)</sup> 또한, pharmacophore인 allylthio기와 다양한 치환기를 pyridazine 핵에 도입한 유도체가 합성되었고, 이들이 간보호작용 및 간암세포 억제작용 등의 활성을 나타낸다는 사실이 보고된 바 있다.<sup>10-14)</sup> 이와 같은 구조-활성 상관관계에 기초하여 Kwon 등은 3-alkylthio-6-allylthiopyridazine 화합물들을 최초로 합성하였고, 이들의 간암활성을 보고하였다.<sup>15)</sup>

이점에 착안하여 본 연구실에서는 pyridazine 핵 뿐만 아니라 4,5-dimethylpyridazine 핵 및 tetrahydrophthalazine 핵에 allylthio기

### <sup>#</sup>Corresponding Author

Myung-Sook Park  
College of Pharmacy, Duksung Women's University, Seoul 132-714, Korea  
Tel.: 02-901-8395 Fax.: 02-901-8386  
E-mail: mspark@duksung.ac.kr

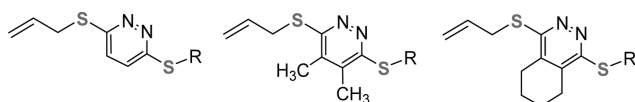


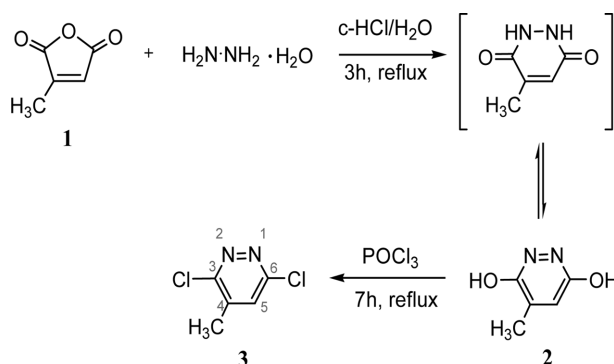
Fig. 2 – Reported various allylthioalkylthiopyridazines; pyridazines, dimethylpyridazines and tetrahydrophthalazines.

와 alkylthio기를 도입한 다양한 allylthioalkylthiopyridazines, allylthioalkylthio-dimethylpyridazines 및 allylthioalkylthio-tetrahydrophthalazines을 합성하였고 이들의 항암활성을 보고하였다(Fig. 2).<sup>16,17)</sup> 그러나 지금까지는 비대칭적인 pyridazine핵의 alkylthio기 및 allylthio기가 도입된 화합물의 합성에 대해서는 보고된 바가 없다.

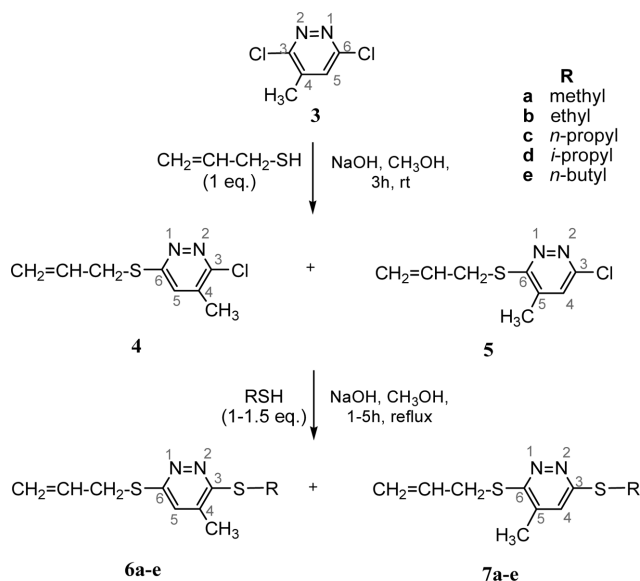
본 연구에서는 다양한 pyridazine 화합물의 효율적인 합성을 위해 methyl 치환기가 하나 도입되어 있는 비대칭적인 pyridazine 핵을 선택하여 목표화합물로 삼았고, 그의 다양한 alkylthio기 도입을 위한 친핵성 치환반응들을 비교하였다(Fig. 1).

우선, 비대칭적인 pyridazine 화합물을 생성하기 위해 출발물질로 citraconic anhydride **1**를 hydrazine hydrate와 반응하여 pyridazine 핵을 형성하면서 dihydroxypyridazine 유도체 **2**를 얻었다. 연이어 POCl<sub>3</sub>를 이용하여 핵에 chlorine을 도입시킨 비대칭적인 pyridazine 화합물인 3,6-dichloro-4-methylpyridazines **3**을 합성하였다(Scheme 1).

본 연구에서는 이 중간체 **3**을 이용하여 dialkyl disulfide의 구조를 응용한 화학적으로 안정한 새로운 pyridazine 유도체(**6a-e**, **7a-e**)를 제조하였다. 즉, methylpyridazine 핵의 C6위치에는 allylthio기 및 C3위치에는 alkylthio기가 도입된 다양한 4(or 5)-methylpyridazine 유도체들의 구조를 설계하여 합성하였다. 최종 목표화합물인 **6a-e**, **7a-e**은 중간 화합물 **3**을 이용하여 allylthiolation 및 alkylthiolation 반응으로 합성되었다(Scheme 2). 따라서, 본 연구에서는 regioisomer인 새로운 methylpyridazine 화합물의 합성 및 비대칭적인 pyridazine 유도체의 thiolation 반응에 대하여 보고하고자 한다.



Scheme 1 – Synthesis of asymmetry 4-methyl-3,6-dichloropyridazines **3**.



Scheme 2 – Synthetic route for target 3-alkylthio-6-allylthio-4(or 5)-methylpyridazine analogs (**6a-e**, **7a-e**).

## 실험방법

### 시약 및 분석기기

Citraconic anhydride, mercaptane 유도체 등 대부분의 시약은 Aldrich사에서 구입했고, 용점측정은 Büchi 535 Melting Point apparatus를 사용하였다. <sup>1</sup>H NMR 및 <sup>13</sup>C NMR spectroscopy는 Bruker사의 300 MHz NMR spectrometer를 사용하여 측정했다. 이때 모든 화학이동들은 TMS를 reference로 했으며 ppm 단위로 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 *n*-hexanes : ethyl acetate(10/1, 4/1, 1/1 등)으로 전개시켰으며, spot은 UV light로 확인했다.

### 3,6-Dihydroxy-4-methylpyridazine(2)

Hydrazine monohydrate(3.4 mL, 70 mmol)에 정제수(50 mL)을 가한 후 교반하면서 c-HCl(14 mL, 140 mmol)을 가해 혼합한 다음 반응용액이 끓는 상태가 되도록 가온하였다. 반응용액이 환류하기 시작하면 citraconic anhydride(6.4 mL, 70 mmol)을 가하고 계속해서 3시간 동안 환류시켰다. 반응용액 표면에서 흰색결정이 석출되고 시간이 경과할수록 결정의 석출이 많아져 반응용액 전체가 불투명해졌다. 반응혼합액을 냉각한 후 석출된 흰색결정을 여과하고 정제수로 세척하여 조결정을 얻었다. 조결정을 끓는 정제수에 용해하여 불용성물질을 제거한 후 결정화하여 무정형 흰색결정(**2**)을 얻었다.

Yield 95%. MP 284~286°C.  $^1\text{H}$  NMR(DMSO- $d_6$ )  $\delta$  11.31 (s, 2H, OH), 6.87(s, 1H, pyridazine), 2.03(s, 3H,  $\text{CH}_3$ ).  $^{13}\text{C}$  NMR(DMSO- $d_6$ )  $\delta$  158.16, 154.79, 141.21, 125.57, 16.00( $\text{CH}_3$ ). FT-IR(NaCl)  $\text{cm}^{-1}$  3350(OH), 3000(aromatic), 1562(N=N).

### 3,6-Dichloro-4-methylpyridazine(3)

$\text{POCl}_3$ (30 ml)에 완전히 건조한 3,6-dihydroxy-4-methylpyridazine (5.04 g, 40 mmol)을 가하고 혼합한 다음 7시간 동안 환류시켰다. 무색의 반응용액이 자주색으로 변화할 때까지를 반응종말점으로 하였다. 과잉 사용한  $\text{POCl}_3$ 를 감압 농축하여 제거하고, 얻어진 잔사에 소량의 얼음물을 넣고 교반하면 현탁액이 형성되었다. 현탁액이 알칼리성으로 될 때까지 28% ammonium hydroxide를 가해 갈색 침전을 생성시켰다. 이 침전물을 여과한 후 뜨거운 ethanol에 녹여 불용성물질을 제거하고, 활성탄을 가하여 5분간 환류시켰다. 이 반응용액을 silicon dioxide에 통과시켜 탈색한 후 ethanol을 감압 증류하여 제거하고 냉각하여 미황색의 결정(3)을 얻었다.

Yield 78%. MP 81~83°C.  $^1\text{H}$  NMR(DMSO- $d_6$ )  $\delta$  8.05(s, 1H, pyridazine), 2.39(s, 3H,  $\text{CH}_3$ ).  $^{13}\text{C}$  NMR(DMSO- $d_6$ )  $\delta$  157.12, 155.19, 141.88, 130.97, 18.43( $\text{CH}_3$ ). FT-IR(NaCl)  $\text{cm}^{-1}$  3053 (aromatic), 1566(N=N), 1040(C-Cl).

### General synthetic procedure for 3-chloro-6-allylthio-4(or 5)-methylpyridazine(4, 5)

Methanol(80 ml)에 sodium hydroxide(2 g, 50 mmol)을 소량의 water에 녹여 가하고, allyl mercaptan(3.987 ml, 50 mmol)을 가해 혼합한 다음 완전히 용해시켰다. 이 혼합용액을 완전히 냉각시킨 후 3,6-dichloro-4-methylpyridazine(8.151 g, 50 mmol)을 가하고 3시간 동안 실온에서 교반하였다. TLC로 반응의 종결을 확인한 후, 반응용매를 모두 감압 농축하여 제거하고, 반응혼합액에 ethyl acetate(70 ml)를 가해 녹인 후 물(30 ml $\times$ 3)을 넣어 추출하였다. 유기층을 무수 sodium sulfate로 건조하여 여과한 후, 감압 농축하여 갈색의 유상물질을 얻었다. 이 잔류물을 column chromatography(silicagel, *n*-hexanes : ethyl acetate=4 : 1)로 분리하여 흰색 유상물질인 4와 5를 얻었다.

**3-Chloro-6-allylthio-4-methylpyridazine(4)** – Yield 27%.  $^1\text{H}$  NMR(DMSO- $d_6$ )  $\delta$  7.69(d,  $J=7.9$  Hz, 1H, pyridazine), 6.03~5.90(m, 1H, CH=), 5.36(m, 1H, =CH), 5.16(m, 1H, =CH), 3.99(d,  $J=6.8$  Hz, 2H,  $\text{SCH}_2$ ), 2.24(s, 3H,  $\text{CH}_3$ ).  $^{13}\text{C}$  NMR(DMSO- $d_6$ )  $\delta$  161.64, 153.29, 139.98, 133.34(=CH<sub>2</sub>), 127.64, 118.88(CH=), 32.29( $\text{SCH}_2$ ), 17.67( $\text{CH}_3$ ). FT-IR(NaCl)  $\text{cm}^{-1}$  3452(NH), 3053(aromatic), 1549(N=N), 1265(C-N).

**3-Chloro-6-allylthio-5-methylpyridazine(5)** – Yield 46%.  $^1\text{H}$  NMR(DMSO- $d_6$ )  $\delta$  7.69(d,  $J=7.9$  Hz, 1H, pyridazine), 6.03~

5.90(m, 1H, CH=), 5.36(m, 1H, =CH), 5.16(m, 1H, =CH), 3.93(d,  $J=6.8$  Hz, 2H,  $\text{SCH}_2$ ), 2.32(s, 3H,  $\text{CH}_3$ ).  $^{13}\text{C}$  NMR(DMSO- $d_6$ )  $\delta$  162.11, 153.16, 138.07, 134.88(=CH<sub>2</sub>), 128.81, 117.33(CH=), 32.56( $\text{SCH}_2$ ), 18.67( $\text{CH}_3$ ).

### General synthetic procedure for 3-alkylthio-6-allylthio-4(or 5)-methylpyridazines(6a-e, 7a-e)

Methanol(15 ml)에 sodium hydroxide(0.6 g, 15 mmol)를 소량의 water에 녹여 가하고, alkyl mercaptan(15 mmol)을 혼합한 다음, 4과 5의 혼합물(2.02 g, 10 mmol)을 가하고 1~5시간 동안 환류시켰다. TLC로 반응의 종결을 확인한 후, 반응용매를 모두 감압 농축하여 제거하였다. 잔사에 ethyl acetate(20 ml)를 가해 녹인 후 물(10 ml $\times$ 3)을 넣어 추출하였다. 유기층을 무수 sodium sulfate로 건조하여 여과한 후, 감압 농축하여 갈색의 유상물질을 얻었다. 이 잔류물을 column chromatography(silicagel, *n*-hexanes : ethyl acetate)로 분리하여 황색의 유상물질인 6과 7을 얻었다.

**3-Methylthio-6-allylthio-4-methylpyridazine(6a)** – Yield 26%.  $^1\text{H}$  NMR(DMSO- $d_6$ )  $\delta$  7.39(s, 1H, pyridazine), 6.03~5.91(m, 1H, CH=), 5.36(d,  $J=6.3$  Hz, 1H, =CH), 5.14(d,  $J=4.9$  Hz, 1H, =CH), 3.96(d,  $J=6.8$  Hz, 2H,  $\text{SCH}_2$ ), 2.61(s,  $\text{CH}_3$ ), 2.18(s, 3H,  $\text{CH}_3$ ).  $^{13}\text{C}$  NMR(DMSO- $d_6$ )  $\delta$  159.14, 158.75, 135.53, 133.45(=CH<sub>2</sub>), 124.62, 118.09(CH=), 31.69( $\text{SCH}_2$ ), 17.19( $\text{CH}_3$ ), 12.29( $\text{CH}_3$ ). FT-IR(NaCl)  $\text{cm}^{-1}$  3049(aromatic), 1570(N=N), 1431(C=N), 1265(C-N). GC-MS:  $m/z$  212.33 ( $\text{M}^+$ ), 197.1(100.0), 132.1(13.1), 93.1(12.3), 179.1(11.9), 198.1(11.3).

**3-Methylthio-6-allylthio-5-methylpyridazine(7a)** – Yield 26%.  $^1\text{H}$  NMR(DMSO- $d_6$ )  $\delta$  7.37(s, 1H, pyridazine), 6.01(m, 1H, CH=), 5.30(d,  $J=6.2$  Hz, 1H, =CH), 5.11(d,  $J=4.9$  Hz, 1H, =CH), 3.91(d,  $J=6.7$  Hz, 2H,  $\text{SCH}_2$ ), 2.61(s, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 2.18(s, 3H,  $\text{CH}_3$ ).  $^{13}\text{C}$  NMR(DMSO- $d_6$ )  $\delta$  157.83, 157.30, 135.56, 133.38(=CH<sub>2</sub>), 124.88, 117.98(CH=), 31.98( $\text{SCH}_2$ ), 17.10( $\text{CH}_3$ ), 12.48( $\text{CH}_3$ ).

**3-Ethylthio-6-allylthio-4-methylpyridazine(6b)** – Yield 49%.  $^1\text{H}$  NMR(DMSO- $d_6$ )  $\delta$  7.37(s, 1H, pyridazine), 5.97(m, 1H, CH=), 5.36(d,  $J=6.6$  Hz, 1H, =CH), 5.15(d,  $J=4.8$  Hz, 1H, =CH), 3.97(d,  $J=6.8$  Hz, 2H,  $\text{SCH}_2$ ), 3.20(q,  $J=7.4$  Hz, 2H,  $\text{CH}_2$ ), 2.16(s, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 1.33(t,  $J=7.3$  Hz, 3H,  $\text{CH}_3$ ).  $^{13}\text{C}$  NMR(DMSO- $d_6$ )  $\delta$  158.79, 158.75, 158.11, 135.69, 133.44(=CH<sub>2</sub>), 125.14, 118.11(CH=), 31.68( $\text{SCH}_2$ ), 23.64( $\text{CH}_2$ ), 17.17( $\text{CH}_3$ ), 14.37( $\text{CH}_3$ ). FT-IR(NaCl)  $\text{cm}^{-1}$  3080(aromatic), 1560(N=N), 1446(C=N), 1268(C-N). GC-MS:  $m/z$  226.35( $\text{M}^+$ ), 211.1(100.0), 151.1(14.8), 193.2(12.9), 132.1(1205), 212.1(12.4).

**3-Ethylthio-6-allylthio-5-methylpyridazine(7b)** – Yield 25%.  $^1\text{H}$  NMR(DMSO- $d_6$ )  $\delta$  7.38(s, 1H, pyridazine), 6.01(m, 1H, CH=), 5.26(d,  $J=6.5$  Hz, 1H, =CH), 5.12(d,  $J=4.4$  Hz, 1H, =CH), 3.91(d,  $J=6.8$  Hz, 2H, SCH<sub>2</sub>), 3.19(q,  $J=7.3$  Hz, 2H, CH<sub>2</sub>), 2.16(s, 3H, CH<sub>3</sub>), 1.33(t,  $J=7.3$  Hz, 3H, CH<sub>3</sub>).  $^{13}\text{C}$  NMR(DMSO- $d_6$ )  $\delta$  157.92, 157.29, 135.67(aromatic), 133.37(=CH<sub>2</sub>), 125.04, 118.00(CH=), 31.98(SCH<sub>2</sub>), 23.45(CH<sub>2</sub>), 17.17(CH<sub>3</sub>), 14.18(CH<sub>3</sub>).

**3-n-Propylthio-6-allylthio-4-methylpyridazine(6c)** – Yield 48%.  $^1\text{H}$  NMR(DMSO- $d_6$ )  $\delta$  7.37(s, 1H, pyridazine), 5.98(m, 1H, CH=), 5.36(d,  $J=6.6$  Hz, 1H, =CH), 5.15(d,  $J=4.8$  Hz, 1H, =CH), 3.97(d,  $J=6.8$  Hz, 2H, SCH<sub>2</sub>), 3.20(q,  $J=7.4$  Hz, 2H, CH<sub>2</sub>), 2.17(s, 3H, CH<sub>3</sub>), 1.69(m, 2H, CH<sub>2</sub>), 0.98(m, 3H, CH<sub>3</sub>).  $^{13}\text{C}$  NMR(DMSO- $d_6$ )  $\delta$  158.89, 158.20, 135.63, 133.36(=CH<sub>2</sub>), 125.19, 118.10(CH=), 31.68(SCH<sub>2</sub>), 31.09(CH<sub>2</sub>), 22.10(CH<sub>2</sub>), 17.16(CH<sub>3</sub>), 13.15(CH<sub>3</sub>). FT-IR (NaCl)  $\text{cm}^{-1}$  3047(aromatic), 1564(N=N), 1432(C=N), 1265(C-N). GC-MS:  $m/z$  240.38(M+), 225.1(100.0), 151.1(22.1), 165.1(20.1), 183.1(19.5), 226.1(13.8).

**3-n-Propylthio-6-allylthio-5-methylpyridazine(7c)** – Yield 29%.  $^1\text{H}$  NMR(DMSO- $d_6$ )  $\delta$  7.38(s, 1H, pyridazine), 5.98(m, 1H, CH=), 5.30(d,  $J=6.3$  Hz, 1H, =CH), 5.11(d,  $J=5.9$  Hz, 1H, =CH), 3.91(d,  $J=6.8$  Hz, 2H, SCH<sub>2</sub>), 3.21(m, 2H, CH<sub>2</sub>), 2.17(s, 3H, CH<sub>3</sub>), 1.66(m, 2H, CH<sub>2</sub>), 0.97(m, 3H, CH<sub>3</sub>).  $^{13}\text{C}$  NMR(DMSO- $d_6$ )  $\delta$  157.92, 157.27, 135.74, 133.44(=CH<sub>2</sub>), 125.07, 117.99(CH=), 31.98(SCH<sub>2</sub>), 30.90(CH<sub>2</sub>), 21.94(CH<sub>2</sub>), 17.23(CH<sub>3</sub>), 13.26(CH<sub>3</sub>).

**3-Isopropylthio-6-allylthio-4-methylpyridazine(6d)** – Yield 36%.  $^1\text{H}$  NMR(DMSO- $d_6$ )  $\delta$  7.35(s, 1H, pyridazine), 5.99(m, 1H, CH=), 5.36(d,  $J=7.1$  Hz, 1H, =CH), 5.14(d,  $J=5.5$  Hz, 1H, =CH), 4.09(m, 1H, CH), 3.97(d,  $J=6.8$  Hz, 2H, SCH<sub>2</sub>), 2.15(s, 3H, CH<sub>3</sub>), 1.39(t,  $J=8.1$  Hz, 6H, CH<sub>3</sub>×2).  $^{13}\text{C}$  NMR(DMSO- $d_6$ )  $\delta$  159.58, 158.74, 136.17, 133.85(=CH<sub>2</sub>), 125.99, 118.57(CH=), 35.06(SCH<sub>2</sub>), 32.09(CH<sub>2</sub>), 23.17(CH<sub>3</sub>×2), 17.58(CH<sub>3</sub>). FT-IR(NaCl)  $\text{cm}^{-1}$  3082(aromatic), 1570(N=N), 1432(C=N), 1226(C-N). GC-MS:  $m/z$  240.38(M+), 211.1(100.0), 151.1(35.9), 169.1(33.2), 114.0(25.2), 118.1(7.2).

**3-Isopropylthio-6-allylthio-5-methylpyridazine(7d)** – Yield 22%.  $^1\text{H}$  NMR(DMSO- $d_6$ )  $\delta$  7.39(s, 1H, pyridazine), 5.98(m, 1H, CH=), 5.30(d,  $J=7.0$  Hz, 1H, =CH), 5.12(d,  $J=6.3$  Hz, 1H, =CH), 4.09(m, 1H, CH), 3.91(d,  $J=6.8$  Hz, 2H, SCH<sub>2</sub>), 2.15(s, 3H, CH<sub>3</sub>), 1.39(t,  $J=8.1$  Hz, 6H, CH<sub>3</sub>×2).  $^{13}\text{C}$  NMR(DMSO- $d_6$ )  $\delta$  158.39, 157.65, 136.17, 133.77(=CH<sub>2</sub>), 125.63, 118.45(CH=), 34.79(SCH<sub>2</sub>), 32.41(CH<sub>2</sub>), 23.12(CH<sub>3</sub>×2), 17.69

(CH<sub>3</sub>).

**3-n-Butylthio-6-allylthio-4-methylpyridazine(6e)** – Yield 25%.  $^1\text{H}$  NMR(DMSO- $d_6$ )  $\delta$  7.37(s, 1H, pyridazine), 5.94(m, 1H, CH=), 5.36(d,  $J=7.6$  Hz, 1H, =CH), 5.14(d,  $J=5.4$  Hz, 1H, =CH), 3.96(d,  $J=6.8$  Hz, 2H, SCH<sub>2</sub>), 3.22(t,  $J=7.2$  Hz, 2H, CH<sub>2</sub>), 2.16(s, 3H, CH<sub>3</sub>), 1.66(m, 2H, CH<sub>2</sub>), 1.42(m, 2H, CH<sub>2</sub>), 0.90(t,  $J=7.5$  Hz, 3H, CH<sub>3</sub>).  $^{13}\text{C}$  NMR(DMSO- $d_6$ )  $\delta$  159.19, 158.31, 133.71(=CH<sub>2</sub>), 126.26, 126.18, 118.53(CH=), 32.44(SCH<sub>2</sub>), 31.07(CH<sub>2</sub>), 29.29(CH<sub>2</sub>), 21.80(CH<sub>2</sub>), 17.65(CH<sub>3</sub>), 13.85(CH<sub>3</sub>). FT-IR (NaCl)  $\text{cm}^{-1}$  3080(aromatic), 1561(N=N), 1429(C=N), 1229(C-N). GC-MS:  $m/z$  254.41(M+), 225.1(100.0), 151.1(29.6), 169.0(27.4), 114.0(20.9), 137.1(19.8).

**3-n-Butylthio-6-allylthio-5-methylpyridazine(7e)** – Yield 17%.  $^1\text{H}$  NMR(DMSO- $d_6$ )  $\delta$  7.38(s, 1H, pyridazine), 5.94(m, 1H, CH=), 5.30(d,  $J=7.7$  Hz, 1H, =CH), 5.11(d,  $J=6.4$  Hz, 1H, =CH), 3.91(d,  $J=6.8$  Hz, 2H, SCH<sub>2</sub>), 3.22(t,  $J=7.2$  Hz, 2H, CH<sub>2</sub>), 2.16(s, 3H, CH<sub>3</sub>), 1.65(m, 2H, CH<sub>2</sub>), 1.42(m, 2H, CH<sub>2</sub>), 0.89(t,  $J=7.5$  Hz, 3H, CH<sub>3</sub>).  $^{13}\text{C}$  NMR(DMSO- $d_6$ )  $\delta$  159.34, 158.34, 136.16(=CH<sub>2</sub>), 125.60, 126.18, 118.55(CH=), 32.08(SCH<sub>2</sub>), 31.15(CH<sub>2</sub>), 29.29(CH<sub>2</sub>), 21.87(CH<sub>2</sub>), 17.71(CH<sub>3</sub>), 13.96(CH<sub>3</sub>).

## 실험결과 및 고찰

본 연구에서는 불안정한 dialkyl disulfide 화합물에 안정한 pyridazine 핵이 삽입된 형태의 구조를 설계하였다. 이를 위해 비대칭 구조인 4(or 5)-methylpyridazine 핵의 1,4-위치에 다양한 alkylthio기를 도입하였다. 최종 목표화합물인 alkylthio-6-allylthio-4(or 5)-methylpyridazine(**6a-e**, **7a-e**) 유도체를 얻기 위한 thiolation 반응은 이미 보고된 Park<sup>11)</sup> 및 Kwon의 합성법<sup>15)</sup>을 응용하였다.

합성 단계는 크게 두 부분으로 나뉘는데 하나는 주요 중간체인 3,6-dichloro-4-methyl-pyridazine **3**을 합성하는 것이고, 다른 하나는 최종 목표화합물 **6a-e** 및 **7a-e**를 제조하는 부분이었다. 우선 화합물 **3**을 합성하기 위해서 원료물질로 상업적으로 이용 가능한 citraconic acid를 사용하였고, 단위반응으로는 pyridazine 핵 형성반응(수율 95%)과 chlorination 반응(수율 78%)을 이용하여 진행하였다.

**6a-e** 및 **7a-e**의 합성은 **3**을 출발하여 2가지의 nucleophilic aromatic substitution 경로, 즉 alkylthiolation 및 alkylthiolation 경로를 이용하였다. Pyridazine 핵의 C6위치의 alkylthio 및 C3위치의 alkylthio기의 도입을 위해 nucleophile로써 allyl mercaptan 과 alkyl mercaptan을 사용하였다. 반응용매로 methanol을 사용하였으며, 반응물에 따라 실온 또는 환류의 온도에서 반응시켰다.

3-Chloro-6-allylthio-4(or 5)-methylpyridazine(**4**와 **5**의 혼합물)은 **3**으로부터 allylthiolation 반응으로 합성하였다. Pyridazine 핵에 치환기를 도입하기 위한 nucleophile 시약으로 allyl mercaptan (1 equivalent)를 넣고 methanol 용매 하에서 sodium hydroxide와 함께 실온에서 3시간 동안 교반하여 반응시켰다. 반응 생성물은 **4**와 **5**의 혼합물로서 총 73%(27+46%)의 수율로 얻어졌고, 이것은 화합물 **4**가 37%, **5**가 63%의 비율로 혼합되어 있는 조성으로 더 이상 분리하지 않고 다음 단계에 사용하였다. 일종의 regioisomer인 **4**와 **5**의 혼합물을 생성하게 된 것이다. 이와 같은 결과는 **3**의 구조에서 C3위와 C6위에 있는 chlorine의 dechlorination 반응에 차이가 있었음을 나타낸 것이다. Methyl기의 electron donation effect로 가까운 위치에 놓인 C3위치의 chlorine이 C6위치의 chlorine 보다 더 잘 탈리되었고, allylthio anion의 친핵성 공격을 더 많이 받아 화합물 **5**가 더 많이 생성된 것으로 추정되었다.

화합물 **4**와 **5**의 NMR data 분석을 통해 두 화합물의 proton과 carbon의 화학적 환경의 차이를 관찰할 수 있었다. 예로, allylthio기의 shield effect를 상대적으로 덜 받는 환경인 화합물 **4**의 methyl기의 proton이 더 resonance를 잘하기 때문에 더 높은 frequency를 가져 2.32 ppm에서 출현하고, **5**의 methyl은 2.24 ppm에서 나타나는 것으로 유추된다. 두 화합물의 methyl의 chemical shift 값은 0.08 ppm 정도 차이가 나는 것으로 확인되었다.

**6a-e**, **7a-e**를 합성하기 위해서는 **4**와 **5**의 혼합물을 반응물로 하여 alkylthiolation 반응을 이용하였다. 이 두 번째의 alkylthiolation 반응은 첫 단계와 동일한 thiolation 반응이고 nucleophilic aromatic substitution이다. 첫 번째 단계의 allylthiolation 반응은 실온에서 반응이 쉽게 일어나 중간체 **4**와 **5**를 제조하였다. 그러나 alkyl mercaptan을 이용한 두 번째의 alkylthiolation 반응은 실온에서 반응이 너무 느리게 진행되어 상대적으로 더 가혹한 반응조건으로 변화시켰다. 즉, 반응시간을 알킬 길이에 따라 약 1~5시간까지 연장하였고, 반응온도도 methanol 용매 하에서 환류온도로 진행시켰다.

화합물 **4**와 **5**의 혼합물 구조에서 **4**의 C4위-methyl기와 **5**의 C5위-methyl기는 다음 반응에도 영향을 주었다. 즉, regioisomer인 **4**와 **5**의 혼합물로부터 또 다른 regioisomer인 **6**과 **7**의 혼합물을 생성하게 된 것이다. 화합물 **3**에서 allylthiolation으로 methyl 치환기의 위치가 다른 두 화합물 **4**와 **5**를 합성할 때 총 수득량의 각각 37%, 63%를 수득하였다. 화합물 **4**와 **5**의 혼합물(조성비 그대로)에서 alkylthiolation으로 화합물 **6a**과 **7a**를 얻을 때 수득률은 총 52%였고, 총 수득량에서 **6a**와 **7a**는 각각 50%를 수득하였다(Table I).

이는 두 번째 thiolation에서도 화합물 **6a**이 **7a**보다 더 많이 생성되었음을 의미한다. 즉, methyl기가 C4위치에 치환된 **4**가

**Table I** – Optimal conditions and comparative production ratio for 3-alkylthio-6-allylthio-4(or 5)-methylpyridazines (**6a-e**, **7a-e**)

No.	R	Molar ratio <sup>a</sup>	Rxn time (h)	Total yield (%)	Production ratio	
					Compound <b>6</b>	Compound <b>7</b>
a	Methyl	1.5	1	51	1	1
b	Ethyl	1.5	5	74	2	1
c	<i>n</i> -Propyl	1	2	77	5	3
d	Isopropyl	1	3.5	58	5	3
e	<i>n</i> -Butyl	1	3	42	10	7

<sup>a</sup>Molar Ratio of Reag./Subs. is the ratio of alkyl mercaptan to substrate 3-chloro-6-allylthio-4(or 5)-methylpyridazine (**4** and **5**).

C5위치에 치환되어 있는 **5**보다 더 nucleophilic aromatic substitution이 용이하다는 것을 의미한다. 이러한 반응의 양상은 모든 alkylthiolation 반응에서 동일하게 나타났다.

최종 regioisomer의 혼합 화합물(**6a+7a**, **6b+7b**, **6c+7c**, **6d+7d**, **6e+7e**)들은 모두 미황색 유상물질로 얻어졌다. 이 alkylthiolation 반응은 첫 단계의 allylthiolation 반응의 수율(73%)에 비해 그리 높지 않은 42~77%의 수율로 합성하였다. 이는 C6-위의 이미 도입된 allylthio기가 pyridazine 핵에 전자를 밀어주어 C3-위의 good leaving기인 chlorine의 탈리가 상대적으로 약화되어 친핵성 공격에 영향을 미친 것으로 보인다.

다양한 alkyl mercaptane을 이용하여 **4**와 **5**의 pyridazine 핵의 C3위치에 methylthio, ethylthio, *n*-propylthio, isopropylthio, *n*-butylthio기를 도입시켰다. 화합물(**6a-e**, **7a-e**)의 합성에서 alkylthio기의 도입 반응은 상업적으로 이용 가능한 alkyl mercaptan을 사용하여 진행하였다. 이 반응은 강염기성 조건하에서의 alkylthio기의 sulfur에 친핵성이 증가되고, 이로 인해 chlorine이 붙어있는 탄소 C3위를 공격하여 새로운 C-S 결합이 형성된다. 탈리된 chlorine anion은 sodium과 결합하여 NaCl이 부산물로 생성된다.

<sup>1</sup>H NMR spectrum에서는 화합물에 공통적으로 포함되어있는 pyridazine의 peak와 allyl기에 해당하는 peak를 비교하여 확인할 수 있었다. 최종 화합물(**6a-e**, **7a-e**)의 <sup>1</sup>H NMR spectrum에서 pyridazine의 수소 한 개는 singlet로 7.35~7.39 ppm 영역에서 나타났다. Allylthio기의 다섯 개의 수소 중 가장 특징적인 -SCH<sub>2</sub>-기는 doublet signal(결합정수 6.7~6.8 Hz)로 **6a-e**는 3.96~3.97 ppm에서 **7a-e**는 모두 3.91 ppm에서 나타났다. 이러한 결과가 나타난 것은 pyridazine 핵의 수소에 비해 methyl기는 bulky하므로 methyl기가 가까운 거리에 위치하고 있는 SCH<sub>2</sub>(allyl기중에서)기에 shield effect를 나타냈기 때문으로 생각된다.

각기 다른 alkylthiolation 반응에서도 C4위치에 methyl기가 있는 화합물 **6a-e**는 C5위치의 methyl 치환 화합물 **7a-e**보다 thio anion이 친핵적인 공격할 때 methyl기의 electron-donation 효과의 영향이 더 크기 때문에 **6a-e**의 생성비율이 **7a-e**보다 더 높은 것으로 생각된다. 즉, 혼합물에서 **6a**는 methylthiolation 반응에서 50%, **6b**는 ethylthiolation 반응에서 67%, **6c**는 *n*-propylthiolation 반응에서 87%, **6d**는 isopropylthiolation 반응에서 63%, **6e**는 *n*-butylthiolation 반응에서 58%의 조성으로 확인되었다(Table I).

화합물에 도입된 알킬기의 길이가 길어진다 해도 출현의 양상은 다르지 않았다. 새로이 도입된 alkylthio기에서 alkyl(methyl, ethyl, *n*-propyl, isopropyl, *n*-butyl)의 peak는 0.89~4.09 ppm 영역에서 출현하여 alkylthiolation의 성공 여부를 확인할 수 있었다. 화합물(**6a**과 **7a**)의 methyl기는 2.18 ppm에서 나타났고, 화합물(**6b**와 **7b**)의 ethyl기는 1.33, 3.18~3.31 ppm, 화합물(**6c**와 **7c**)의 *n*-propyl기는 0.92~1.03, 1.63~1.75, 3.28 ppm에서 나타났다. 화합물(**6d**와 **7d**)의 isopropyl기는 0.90, 1.38~1.46, 4.09 ppm, 화합물(**6e**와 **7e**)의 *n*-butyl기는 0.89~0.90, 1.38~1.46, 1.63~1.68, 3.22 ppm에서 나타났다.

최종 화합물(**6a-e**, **7a-e**)의 carbon NMR spectrum에서 pyridazine의 탄소 네 개는 124.62~126.26, 126.26~136.17, 157.83~158.75, 그리고 157.83~159.58 ppm 영역에서 나타났다. Allylthio기의 탄소 세 개는 31.68~32.44, 117.98~118.57, 133.36~133.85 ppm 영역에서 나타났다. 또한 alkyl기의 peak는 각 탄소의 성격에 따라 12.29~35.06 ppm 영역에서 출현되어 alkylthio기가 도입되었음을 명확하게 해주었다. FT-IR spectrum에서도 pyridazine핵의 3040 cm<sup>-1</sup> 근처의 방향족 핵, 1560 cm<sup>-1</sup> 근처의 N=N기 및 각각의 alkyl기의 고유한 band를 확인할 수 있었다.

## 결 론

항암성과 관련된 allylthio기와 alkylthio기를 조합한 새로운 약물구조를 설계하였다. 목표화합물 합성을 위해 비대칭성 pyridazine 유도체의 친핵성 치환반응에 대해 고찰하였다. 최종 목표 화합물은 6-allylthio-4(or 5)-methylpyridazine의 para 위치에 다양한 alkylthio기를 도입한 3-alkylthio-6-allylthio-4(or methyl)pyridazine 유도체(**6a-e**, **7a-e**)이었다. 합성반응으로는 allylthiolation과 연이은 또 다른 alkylthiolation 반응으로 진행되었다. 두 반응에서는 분리가 어려운 regioisomer의 혼합물이 생성되었으며, 두 isomer의 생성에 pyridazine 핵에 도입되어있는 methyl 기의 electron donating 효과가 위치에 따라 다르게 영향을 주었음을 관찰하였다. 즉, methyl기가 pyridazine 핵에서 친핵성 치환반응이 일어나는 위치에 가까운 구조의 isomer를 major로 수득하였다. 이 반응은 alkyl의 길이에 따라 약간의 차이는 있으나 모든 thiolation 반응에서 동일한 양상으로 나타났다.

## 감사의 말씀

본 연구는 덕성여자대학교 2013년도 교내연구비에 의하여 지원되었으며, 이에 감사드립니다.

## References

- 1) Cavallito, C. J., Buck, J. S. and Suter, C. M. : Allicin, the antibacterial principle of *Allium sativum*. II. Determination of the chemical structure. *JACS* **66**, 1952 (1944).
- 2) Block, E., Ahmad, S., Catalfamo, J. L., Jain, M. K. and Apitz-Castro, R. : Antithrombotic organosulfur compounds from garlic: Structural, mechanistic and synthetic studies. *JACS* **108**, 7045 (1986).
- 3) (a) Block, E. : Garlic and other alliums. The lore and the science, RSC publishing, Cambridge, pp. 172-223 (2010). (b) Oomen, S., Anto, R. J., Srinivas, G. and Karunagaran, D. : Allicin (from garlic) induces caspase-mediated apoptosis in cancer cells. *Eur. J. Pharm.* **485**, 97 (2004).
- 4) 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).
- 5) 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).
- 6) 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).
- 7) (a) Tilli, C. M. L. J., Stavast-Kooy, A. J. W., Vuerstaek, J. D. D., Thissen, M. R. T. M., Krekels, G. A. M., Ramaekers, F. C. S. and Neumann, H. A. M. : The garlic-derived organosulfur component ajoene decreases basal cell carcinoma tumor size by inducing apoptosis. *Arch. Dermatol. Res.* **295**, 117 (2003). (b) Hassan, H. T. : Ajoene (natural garlic compound): a new anti-leukemia agent for AML therapy, *Leukemia Res.* **28**, 667 (2004). (c) Ledezma, E., Apitz-Castro, R. A. and Cardier, J. : Apoptotic and anti-adhesion effect of ajoene, a garlic derived compound, on the murine melanoma B16F10 cells: possible role of caspase-3 and the  $\alpha 4\beta 1$  integrin. *Cancer Lett.* **206**: 35 (2004).
- 8) (a) Yamasaki, T., Teel, R. W. and Lau, B. H. : Effect of allicin, a phytoalexin produced by garlic, on mutagenesis, DNA-binding and metabolism of aflatoxin B<sub>1</sub>. *Cancer Lett.* **59**, 89 (1991). (b) Agarwal, K. C. : Therapeutic actions of garlic constituents. *Med. Res. Rev.* **16**, 111 (1996).
- 9) Santos, E. A., Hamel, E., Bai, R., Burnett, J. C., Tozatti, C. S. S.,

- Bogo, D., Perdomo, R. T., Antunes, A. M. M., Marques, M. M., Matos, M. F. C. and Lima, D. P. : Synthesis and evaluation of diaryl sulfides and diaryl selenide compounds for antitubulin and cytotoxic activity. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **23**, 4669 (2013).
- 10) Shin, H. S. and Kwon, S. K. : Synthesis of allylthiopyridazine derivatives and inhibition of aflatoxin B<sub>1</sub>-induced hepatotoxicity in rats. *Arch. Pharm. Res.* **26**, 351 (2003).
- 11) Park, E. H. and Park, M. S. : Synthesis of potential anticancer 6-allylthio-3-aminopyridazine derivatives. *J. Kor. Chem. Soc.* **51**, 244 (2007).
- 12) 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).
- 13) 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).
- 14) Kim, C. W., Park, E. H. and Park, M. S. : Novel alkylaminopyridazine derivatives: synthesis and their anti-proliferative effects against MCF-7 cells. *Bull. Korean Chem. Soc.* **34**, 3317 (2013).
- 15) Kwon, S. K. and Moon, A. : Synthesis of 3-alkylthio-6-allylthiopyridazine derivatives and their antihepatocarcinoma activity. *Arch. Pharm. Res.* **28**, 391 (2005).
- 16) Park, H. S. and Park, M. S. : Design and synthesis of new 3-allylthio-6-alkylthiopyridazine analogs via nucleophilic substitution reaction. *Yakhak Hoeji* **58**, 28 (2014).
- 17) Park, H. S., Kim, C. W. and Park, M. S. : Discovery and synthesis of novel allylthioaralkylthiopyridazines: Their anti-proliferative activity against MCF-7 cells. *Arch. Pharm. Res.* online 14, June (2014).