inPASS Indian Patent Advanced Search System (http://ipindia.nic.in/index.htm)

INTELLECTUAL PROPERTY INDIA PATENTS | DESIGNS | TRADE MARKS GEOGRAPHICAL INDICATIONS (http://ipindia.nic

Patent Search

Back to search (/PublicSearch/)

Total Document(s): 60

Page: First << 1 >

Application Number	Title	Application Date	Status	
		23/05/2019	Published	Applica
201811046323	THREE-IN-ONE: RUST REMOVER-RUST PROTECTOR-PAINT PRIMER	07/12/2018	Published	Applica
201811020953	HIGHLY EFFICIENT SYNTHESIS FOR THE PREPARATION OF NOVEL 9H-PURIN-2-AMINE DERIVATIVES	05/06/2018	Published	Applica
201811020947	NEW PROCESS FOR THE PREPARATION OF NOVEL URACIL DERIVATIVES AND ITS DOCKING STUDY	05/06/2018	Published	Applica
201811004169	THERAPEUTIC APPARATUS FOR POSTURE AND BALANCE	04/02/2018	Published	Applica
201711032188	"A NEW PROCESS FOR THE PREPARATION OF KETO OXAZOLINE"	12/09/2017	Published	Applica
201711023742	"AGITATOR DESIGN FOR GENTLE CLEANING ACTION FOR TOP LOAD WASHING MACHINE"	06/07/2017	Published	Applica
201711019586	CALCINED FILTER BACKWASH SOLIDS BLENDED PORTLAND POZZOLANA CEMENT	05/06/2017	Published	Applica
201711007111	MOBILE-BIOMETRIC SIGNATURE BASED AUTHENTICATION SYSTEM	28/02/2017	Published	Applica
201711003724	SWEEPING BRUSH WITH PRESSURIZED AIR NOZZLES FOR STREET SWEEPING MACHINES"	01/02/2017	Published	Applica

Total Document(s): 60 Page: First << 1

Application Number	Title	Application Date	Status	
201711003722	AGITATOR ASSEMBLY FOR A TOP LOAD WASHING MACHINE"	01/02/2017	Published	Applica

Total Document(s): 60 Page: First << 1

राष्ट्रीय मतदाता सेवा पोर्टल
NATIONAL VOTERS' SERVICES PORTAL

Terms & conditions (http://ipindia.gov.in/terms-conditions.htm) Privacy Policy (http://ipindia.gov.in/privacy-policy.htm)
Copyright (http://ipindia.gov.in/copyright.htm) Hyperlinking Policy (http://ipindia.gov.in/hyperlinking-policy.htm)
Accessibility (http://ipindia.gov.in/accessibility.htm) Archive (http://ipindia.gov.in/archive.htm) Contact Us (http://ipindia.gov.in/contact-us.htm)
Help (http://ipindia.gov.in/help.htm)

Content Owned, updated and maintained by Intellectual Property India, All Rights Reserved.

Page last updated on: 26/06/2019

Indian Patent Advanced Search System (http://ipindia.nic.in/index.htm) (http://ipindia.nic

Patent Search

Back to search (/PublicSearch/)

Total Document(s): 60

Page: First << 2 >

Application Number	Title	Application Date	Status	
201711002639	A PROCESS FOR THE SYNTHESIS OF N-SUBSTITUTED 4-QUINOLONE DERIVATIVES VIA LIHMDS-INDUCED IN SITU CYCLOCONDENSATION	24/01/2017	Published	Applica
201611032879	COPPER TO AISI-316 AUTOGENOUS DISSIMILAR JOINING BY ELECTRON BEAM WELDING	27/09/2016	Published	Applica
201611032665	A METHOD TO REDUCE IN VIVO THROMBUS FORMATION AND PLATELET AGGREGATION USING QUERCETIN 3, 3', 4', 5, 7-O- PENTASULFATE, AS A POTENTIAL ANTITHROMBOTIC AND ANTIPLATELET AGENT	24/09/2016	Published	Applica
201611018596	POLARIZATION ENGINEERED ENHANCEMENT MODE III-V GROUP BASED DEVICES	31/05/2016	Published	Applica
201611017741	"UNIVERSAL FRICTION STIR WELDING/PROCESSING WORK FIXTURE"	24/05/2016	Published	Applica
201611008628	TRIAZOLE-AMINO ACID BASED HYBRID AS POTENTIAL INHIBITOR FOR CANDIDA INFECTION	11/03/2016	Published	Applica
201611006284	TRIAZOLE-AMINO ACID BASED HYBRIDS AS POTENTIAL ANTIFUNGAL DRUG FOR CANDIDA INFECTION	23/02/2016	Published	Applica
201611005460	(E)-N-(1-(4-ISOPROPYLBENZYLIDENE)-4-METHYLBENZENESULFONOHYDRAZIDE (SH-3): POTENTIAL MOLECULE FOR BREAST CANCER	17/02/2016	Published	Applica
201611004695	CHARGE PLASMA BASED NORMALLY-OFF/ENHANCEMENT MODE GAN OR III-V ELEMENT BASED MOSFET: A METHOD OF MANUFACTURING THE SAME	10/02/2016	Published	Applica
201611003778	(E)-N-(1-(3-CHLOROPHENYL)PROPYLIDENE)-4-METHYLBENZENE SULFONOHYDRAZIDE (SH-2): POTENTIAL MOLECULE AGAINST PROSTATE CANCER	03/02/2016	Published	Applica
201611002691	ELECTROCHEMICAL SENSOR FOR BRUCELLA ABORTUS USING DOPED NANO METAL OXIDE	25/01/2016	Published	Applica
4251/DEL/2015	WIRELESS TAG FOR CAPACITIVE HUMIDITY MEASUREMENT	23/12/2015	Published	Applica
201611007594	CIRCUIT FOR METAL HALIDE HID LAMPS	03/03/2016	Published	
2743/DEL/2015	A NOVEL METAL SOURCE/DRAIN SCHOTTKY DEVICE BASED DIGITAL CIRCUIT DESIGNING	01/09/2015	Published	Applica
1074/DEL/2015	AN ADJUSTABLE FLOW FLOATING DECANTER	17/04/2015	Published	Applica
1021/DEL/2015	TREATED STEEL MAKING SLAG FOR CEMENTATIOUS USE AND PROCESS THEREOF	13/04/2015	Published	Applica

Total Document(s): 60 Page: First << 2

Application Number	Title	Application Date	Status	
201611027833	ZINC OXIDE NANORODS FOR FUNGUS PRODUCTIVITY AND BROCCOLI (BRASSICA OLERACEACE VAR. BOTRYTIS) DEVELOPMENT	16/08/2016	Published	
2449/DEL/2014	DOUBLE STROKE CUTTING MECHANISM	28/08/2014	Published	Applica

Total Document(s): 60 Page: First << 2

Terms & conditions (http://ipindia.gov.in/terms-conditions.htm) Privacy Policy (http://ipindia.gov.in/privacy-policy.htm)
Copyright (http://ipindia.gov.in/copyright.htm) Hyperlinking Policy (http://ipindia.gov.in/hyperlinking-policy.htm)
Accessibility (http://ipindia.gov.in/accessibility.htm) Archive (http://ipindia.gov.in/archive.htm) Contact Us (http://ipindia.gov.in/contact-us.htm)
Help (http://ipindia.gov.in/help.htm)

Content Owned, updated and maintained by Intellectual Property India, All Rights Reserved.

Page last updated on: 26/06/2019

Indian Patent Advanced Search System

INTELLECTUAL PROPERTY INDIA
PATENTS | DESIGNS | TRADE MARKS GEOGRAPHICAL INDICATIONS

Patent Search

Back to search

Total Document(s): 2

Page: 1 0 1 1 1

Application Number	Title	Application Date	Status		
1085/DEL/2014				326491	1085/DEL/2014
2626/DEL/2013	A PROCESS FOR MAKING MWCNTS BASED HN3/NO2 GAS SENSRO	04/09/2013	Granted	295135	2626/DEL/2013

Total Document(s): 2 **Page:** 1 0 1 1 1

Content Owned, updated and maintained by Intellectual Property India, All Rights Reserved.

Page last updated on: **26/06/2019**

INTELLECTUAL PROPERTY INDIA
एकस्व/PATENTS | अभिकल्प/DESIGNS | व्यापार चिह्न/TRADE MARKS | भौगोलिक उपदर्शन/GEOGRAPHICAL INDICATIONS

सत्यमेव जयते

भारत सरकार
GOVERNMENT OF INDIA

एकस्व कार्यालय /THE PATENT OFFICE
बौद्धिक सम्पदा भवन/ I.P.O. BUILDING
प्लॉट न. 32/ PLOT NO. 32
सैक्टर -14/ SECTOR 14, द्वारका/ DWARKA
नई दिल्ली/NEW DELHI -110078
दूरभाष /Tel. No. : 011-25300200
फ़ैक्स /Fax : 011-28034301/02/15
ई मेल /Email : delhi-patent@nic.in
वेबसाइट /Website: http://ipindia.nic.in

सं. \ No. 1085/DEL/2014 दिनांक \ Dated the 02/12/2019

सेवा मे, \ To :

Address of Service:- MRS. KOMPAL BANSAL (PATENT AGENT NO. IN/PA/1754) FOR CORPORATE CONSULTANTS # 5568, SECTOR 38 WEST, CHANDIGARH -160014, INDIA
Email Id:- consultants.corporate@gmail.com

विषय :- पेटेंट आवेदन संख्या 1085/DEL/2014 के संबंध मे अधिनियम की धारा 43 के तहत पेटेंट अनुदान तथा पेटेंट रजिस्टर मे प्रविष्टि की सूचना
Sub :- Intimation of the grant and recordal of patent under section 43 of the Act in respect of patent application no. 1085/DEL/2014

महोदय/महोदया,
Sir/Madam,

आपको सूचित किया जाता है कि पेटेंट अधिनिय, 1970 की धारा 12 व 13 तथा उस आधार पर बने नियम के तहत उपर्युक्त पेटेंट आवेदन के परीक्षण [व 07/11/2019 को हुई सुनवाई] के उपरांत एतद्द्वारा पेटेंट अनुदान किया जाता है। तथा पेटेंट अनुदान की प्रविष्टि 02/12/2019 को पेटेंट रजिस्टर मे कर दी गयी है।

This is to Inform you that following the examination of above mentioned patent application under section 12 and 13 of The Patents Act, 1970 and Rules made thereunder [and hearing held on 07/11/2019] a patent is hereby granted and recorded in the Register of Patents on the 02/12/2019. The Patent Certificate is enclosed herewith.

पेटेंट संख्या \ Patent No	: 326491
आवेदक का नाम \ Name Of Applicant	: KHWAJA MOHD RAFI
पेटेंट दिनांक \ Date of Patent	: 22/04/2014
पूर्विक्ता तिथि \ Priority Date	: 22/04/2014
परीक्षण हेतु अनुरोध दाखिल करने की तिथि \ Filling date of Request for examination	: 20/04/2015
शीर्षक \ Title	: ANAEROBIC DIGESTER FOR EFFICIENT METHANE PRODUCTION USING KITCHEN WASTE
दावों की संख्या \ Number of claims	: 1-2

उपर्युक्त पेटेंट के अनुदान का प्रकाशन अधिनियम की धारा 43 के तहत पेटेंट कार्यालय के आधिकारिक जर्नल मे किया जाएगा।
The grant of above mentioned patent will be published in the Official Journal of the patent Office under section 43 of the Act.

पेटेंट अधिनियम 1970 यथा संशोधित पेटेंट (संशोधन) नियम, 2005/ पेटेंट नियम, 2003 यथा संशोधित पेटेंट (संशोधन) नियम, 2016 की धारा 142 की उप-धारा (4) के प्रावधानों के तहत उपरोक्त प्रविष्टि की तिथि से 3 माह के भीतर इस कार्यालय मे नवीकरण शुल्क जमा किया जाना चाहिए।
The payment of renewal fee is required to be made at this office within three(3) months from the aforesaid date of recording according to the proviso in sub-section(4) of Section 142 of The Patents Act,1970, as amended by The Patents (Amendment) Act, 2005 / The Patents Rules, 2003 as amended by The Patents (Amendment) Rules, 2016.

Dr. Rajendra Lohiya
(नियंत्रक पेटेंट)
Controller of Patents

टिप्पणी / Note :

1. संशोधित नवीकरण शुल्क हेतु कृपया महानियंत्रक पेटेंट, अभिकल्प एवं व्यापार चिह्न की आधिकारिक वैबसाइट www.ipindia.gov.in पर उपलब्ध पेटेंट (संशोधन) नियम 2016 की प्रथम अनुसूची (शुल्क) देखें।
For revised renewal fees kindly refer to the First Schedule (fees) of The Patents (Amendment) Rules 2016 available on the official website of Controller General of Patents, Designs and Trade Marks www.ipindia.gov.in
2. कार्यालय द्वारा पेटेंट प्रमाणपत्र की कोई भी कागजी प्रति अलग से जारी नहीं की जाएगी।
No hard copy of Patent Certificate shall be issued separately by the office.

(12) 특허협력조약에 의하여 공개된 국제출원

(19) 세계지식재산권기구
국제사무국

(43) 국제공개일
2014 년 2 월 13 일 (13.02.2014)

WIPO | PCT

(10) 국제공개번호
WO 2014/025191 A1

(51) 국제특허분류:
C07D 405/04 (2006.01) *A61P 35/00* (2006.01)
A61K 31/41 (2006.01)

(21) 국제출원번호: PCT/KR2013/007083

(22) 국제출원일: 2013 년 8 월 6 일 (06.08.2013)

(25) 출원언어: 한국어

(26) 공개언어: 한국어

(30) 우선권정보:
10-2012-0085947 2012 년 8 월 6 일 (06.08.2012) KR

(71) 출원인: **영남대학교 산학협력단 (INDUSTRY-ACADEMIC COOPERATION FOUNDATION, YEUNGNAM UNIVERSITY)** [KR/KR]; 712-749 경상북도 경산시 대학로 280, 영남대학교, Gyeongsangbuk-do (KR).

(72) 발명자: **최인호 (CHOI, In Ho)**; 712-080 경상북도 경산시 장산로 4 길 10, 신동아파밀리에아파트 110 동 805 호, Gyeongsangbuk-do (KR). **파리다아타르 (FAREEDA, Athar)**; 110025 뉴델리 나가르 조가바이 익스텐션 R-206-A/5, 301 호, New Delhi (IN). **압둘루프 바트 (ABDUL, Roouf Bhat)**; 110025 뉴벨리 나가르 조가바이 익스텐션 R-206-A/5, 301 호, New Delhi (IN).

(74) 대리인: **이문섭 (LEE, Moon-Sup)**; 151-832 서울시 관악구 인헌동 1659-2, 청동빌딩 301 호, Seoul (KR).

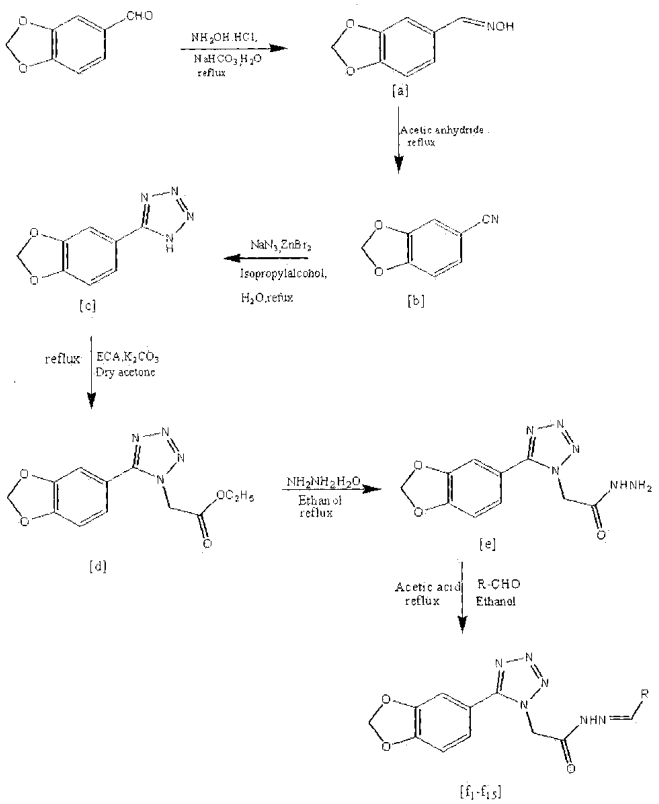
(81) 지정국 (별도의 표시가 없는 한, 가능한 모든 종류의 국내 권리의 보호를 위하여): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KN, KP, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.

(84) 지정국 (별도의 표시가 없는 한, 가능한 모든 종류의 역내 권리의 보호를 위하여): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), 유라시아 (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), 유럽 (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

[다음 쪽 계속]

(54) **Title**: NOVEL TETRAZOLO HYDRAZINE DERIVATIVES AND PHARMACEUTICAL COMPOSITION COMPRISING SAME AS ACTIVE INGREDIENT FOR PREVENTING OR TREATING CANCER

(54) **발명의 명칭** : 신규한 테트라졸로 하이드라존 유도체 및 이를 유효성분으로 함유하는 암의 예방 또는 치료용 약학 조성물



(57) **Abstract**: The present invention relates to novel tetrazolo hydrazine derivatives or pharmaceutically acceptable salts thereof. The derivatives and the salts may inhibit the proliferation of cancer cells in a low molar concentration and inhibit the activity of cancer cells through the regulation of expression of apoptosis-related genes or the like, thus inhibiting excellent anti-cancer activity, and therefore, can be used effectively in preventing or treating cancer.

(57) **요약서**: 본 발명은 신규한 테트라졸로 하이드라존 유도체 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염에 관한 것으로, 이는 암 세포의 증식을 낮은 마이크로몰 농도에서 억제하며, 세포사멸 관련 유전자 등의 발현조절을 통하여 암 세포의 활성을 저해함으로써 뛰어난 항암활성을 나타내는 바, 암의 예방 및 치료에 유용하게 사용될 수 있다.

WO 2014/025191 A1

공개:

— 국제조사보고서와 함께 (조약 제 21 조(3))

【명세서】

【발명의 명칭】

신규한 테트라졸로 하이드라존 유도체 및 이를 유효성분으로 함유하는 암의 예방 또는 치료용 약학 조성물

【기술분야】

본 발명은 신규한 테트라졸로 하이드라존 유도체 또는 이의 약제학적으로 허용가능한 염, 이를 유효성분으로 함유하는 암의 예방 또는 치료용 약학적 조성물에 관한 것이다.

【배경기술】

암은 세계적으로 주된 사망 원인으로, 암 치료를 위한 새로운 접근 방법을 찾으려는 수많은 노력에도 불구하고, 초기 치료의 선택 범위는 수술, 화학요법 및 방사선 치료를 단독 혹은 조합하는 것에 불과하다. 그러나, 수술 및 방사선 치료는 보통 뚜렷이 규명된 종류의 암에만 유용할 뿐, 이미 병이 퍼진 상태의 환자를 치료하는 데는 그 사용이 제한된다.

화학요법은 대체로 전이성 암이나, 백혈병처럼 확산성(diffuse) 암에 걸린 환자를 치료하는데 유효한 방법이다. 화학요법이 치료 효과를 제공할 수는 있다고 해도, 환자의 암세포가 화학요법제에 대해 내성을 갖게 되므로 치료에 실패하는 경우가 종종 일어난다. 부분적으로, 암세포 주변이 화학요법제에 내성을 갖게 되는 탓에 이러한 치료제는 조합해서 제공하는 것이 보통이다.

따라서, 암을 치료하기 위한 또다른 화학적 치료법 및 치료제가 요구되며, 연구자, 학계 및 기업마다 신규하고 유용한 화학요법제를 찾기 위한 부단한 노력을 기울이고 있다. 특히 헤테로 고리화합물은 항암제로 널리 사용되고 있으며, 특히 테트라졸 고리를 포함하는 화합물에 대한 연구가 활발히 이루어지고, 이를 포함하는 많은 생물학적 활성 물질이 보고되고 있다(Rhodes DR, Ateeq B, Cao Q, Tomlins

SA, Mehra R, Laxman B, Kalyana-Sundaram S, Lonigro RJ, Helgeson BE, Bhojani MS, Rehemtulla A, Kleer CG, Hayes DF,Lucas PC, Varambally S, Chinnaiyan AM. AGTR1 overexpression defines a subset of breast cancer and confers sensitivity to losartan, an AGTR1 antagonist. PNAS 2009/10.1073/pnas. 0900351106). 특히 5 위치가 치환된 1,2,3,4-테트라졸은 항균, 항진균, 항바이러스, 항염증 효과가 있음이 보고된 바 있다.

이에 본 발명의 발명자들은 신규한 테트라졸 고리를 포함하는 항암 활성을 가지는 화합물에 대해 연구하던 중, 신규한 테트라졸론 하이드라존 유도체 화합물을 합성하였고, 이의 항암 활성이 우수함을 확인한 후 본 발명을 완성하였다.

【발명의 상세한 설명】

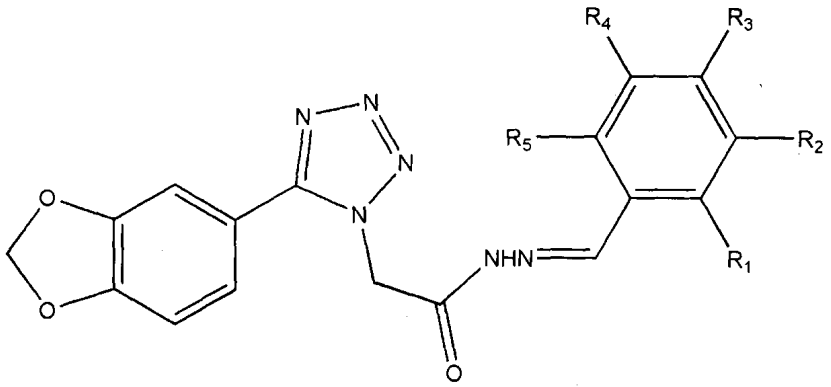
【기술적 과제】

본 발명은 테트라졸 고리를 포함하는 화합물로, 테트라졸론 하이드라존 유도체 및 이의 암 치료 용도를 제공하고자 한다.

【기술적 해결방법】

상기 과제의 해결을 위하여, 본 발명은 하기 화학식 1로 표시되는 테트라졸로 하이드라존 유도체 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 제공한다.

[화학식 1]



상기 화학식 1에서,

R_1, $R--_2$, R_3, R_4 및 R_5 는 각각 독립적으로 R_1, $R--_2$, R_3, R_4 및 R_5 는 각각 독립적으로 H, 할로겐, NO_2, C_{1-4} 알킬, C_{1-4} 할로알킬 또는 C_{1-4} 알콕시일 수 있다.

본 발명은 또한 상기 테트라졸로 하이드라존 유도체 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 유효성분으로 포함하는 암의 예방 또는 치료용 약학 조성물을 제공한다.

【유리한 효과】

본 발명에 따른 테트라졸로 하이드라존 유도체 화합물은 암 세포의 증식을 낮은 마이크로몰 농도에서 억제하며, 세포사멸 관련 유전자 등의 발현조절을 통하여 암 세포의 활성을 저해함으로써 뛰어난 항암활성을 나타내는 바, 암의 예방 및 치료에 유용하게 사용될 수 있다.

【도면의 간단한 설명】

도 1은 본 발명의 테트라졸로 하이드라존 유도체의 합성 반응식이다.

도 2는 본 발명의 테트라졸로 하이드라존 유도체의 MCF-7, MDA-Mb-231 및 Zr-75 세포주에 대한 증식 저해 효과를 나타낸다. 합성된 전체 화합물 f1-f15 중 본 발명의 화합물인 f2, f8, f10, f12 및 f14의 증식 저해 활성이 우수하게 나타났음을 알 수 있다.

도 3은 본 발명의 일실시예에 따른 화합물 처리에 대한 MCF-7 세포의 유방암 마커 유전자 발현 수준 변화에 대한 결과 그래프이다.

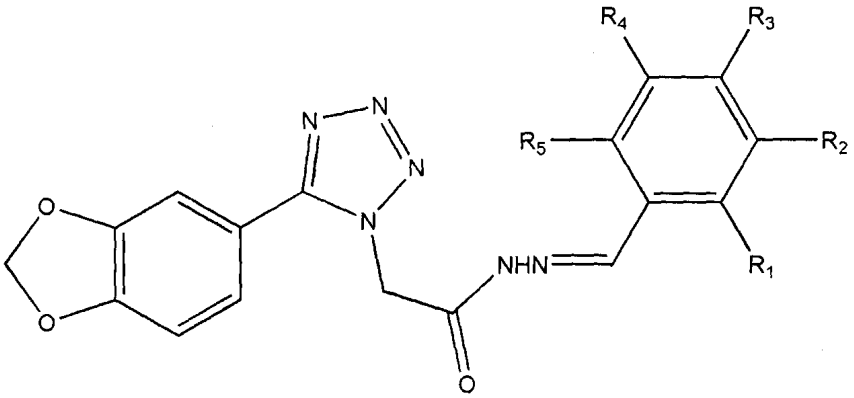
도 4는 본 발명의 일실시예에 따른 화합물 처리에 대한 MDA-Mb-231 세포의 유방암 마커 유전자 발현 수준 변화에 대한 결과 그래프이다.

도 5는 본 발명의 테트라졸로 하이드라존 유도체에 대한 독성 시험 결과이다.

【발명의 실시를 위한 형태】

본 발명은 하기 화학식 1로 표시되는 테트라졸로 하이드라존 유도체 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 제공한다.

[화학식 1]



상기 화학식 1에서,

R_1, R_2, R_3, R_4 및 R_5 는 각각 독립적으로 H, 할로겐, NO_2, C_{1-4} 알킬, C_{1-4} 할로알킬 또는 C_{1-4} 알콕시일 수 있다.

본 발명의 한 구체예에서, 상기 R_1 은 Cl, Br, 또는 I 이고, R_2, R_3, R_4 및 R_5 는 수소일 수 있다.

본 발명의 다른 구체예에서, 상기 R_1, R_2, R_3, R_4 및 R_5 는 각각 독립적으로 H 또는 NO_2 일 수 있다. 본 발명의 일실시예에서, 상기 R_1, R_2, R_3, R_4 및 R_5 로 이루어진 군에서 선택된 어느 하나가 NO_2 이며, 선택되지 않은 치환기는 H일 수 있다.

본 발명의 또 다른 구체예에서, 상기 R_1, R_2, R_3, R_4 및 R_5 는 각각 독립적으로 H 또는 메톡시일 수 있다. 본 발명의 일실시예에서, 상기 R_2 및 R_3 또는 R_3 및 R_4 는 메톡시이고, 나머지 치환기는 H일 수 있다.

본 발명의 또 다른 구체예에서, 상기 테트라졸로 하이드라존 유도체는 2-[5-(1,3-벤조다이옥솔-5-일)-1H-테트라졸-1-일]-N'-[(2-클로로페닐)메틸리덴]아세토하이드라자이드, 2-[5-(1,3-벤조다이옥솔-5-일)-1H-테트라졸-1-일]-N'-[(3,4-디메톡시페닐)메틸리덴]아세토하이드라자이드, 2-[5-(1,3-벤조다이옥솔-5-일)-1H-

테트라졸-1-일]-N'-[(2-니트로페닐)메틸리덴]아세토하이드라자이드, 2-[5-(1,3-벤조다이옥솔-5-일)-1H-테트라졸-1-일]-N'-[(3-니트로페닐)메틸리덴]아세토하이드라자이드 또는 2-[5-(1,3-벤조다이옥솔-5-일)-1H-테트라졸-1-일]-N'-[(E)-(4-니트로페닐)메틸리덴]아세토하이드라자이드일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

본 발명에 따른 상기 화학식 1로 표시되는 테트라졸로 하이드라존 유도체는 약학적으로 허용 가능한 염의 형태로 사용할 수 있으며, 염으로는 약학적으로 허용 가능한 유리산(free acid)에 의해 형성된 산부가염이 유용하다. 유리산으로는 무기산과 유기산을 사용할 수 있으며, 무기산으로는 염산, 브롬산, 황산, 아황산, 인산 등을 사용할 수 있고, 유기산으로는 구연산, 초산, 말레산, 퓨마르산, 글루코산, 메탄설폰산, 아세트산, 글리콘산, 석신산, 타타르산, 4-톨루엔설폰산, 갈락투론산, 엠본산, 글루탐산, 시트르산, 아스파르탄산 등을 사용할 수 있다. 바람직하게는 무기산으로는 염산, 유기산으로는 메탄설폰산을 사용할 수 있다. 또한, 본 발명의 상기 화학식 1로 표시되는 테트라졸로 하이드라존 유도체는 약학적으로 허용되는 염뿐만 아니라, 통상의 방법에 의해 제조될 수 있는 모든 염, 수화물 및 용매화물을 모두 포함한다.

본 발명에 따른 부가염은 통상의 방법으로 제조할 수 있으며, 예를 들면 화학식 1의 화합물을 수혼화성 유기용매, 예를 들면 아세톤, 메탄올, 에탄올, 또는 아세토니트릴 등에 녹이고 과량의 유기산을 가하거나 무기산의 산 수용액을 가한 후 침전시키거나 결정화시켜서 제조할 수 있다. 이어서 이 혼합물에서 용매나 과량의 산을 증발시킨 후 건조시켜서 부가염을 얻거나 또는 석출된 염을 흡인 여과시켜 제조할 수 있다.

본 발명에 따른 화학식 1의 테트라졸로 하이드라존 유도체는 1,3-벤조다이옥사졸-5-카바알데하이드로부터 다단계로 합성될 수 있으며, 구체적인 합성예를 이하의 실시예 및 도 1에 나타내었다. 보다 구체적으로, 알데하이드기를 옥심으로 전환시킨 후, 과량의 아세트산 무수물을 처리하여 피페로닐로니트릴로 전환시킨 후, 아자이드 및 아연 브로마이드를 사용한 in situ 결정화에 따라 테트라졸로 전환시킨

후, 이를 바탕으로 테트라졸로 하이드라존 유도체를 제조할 수 있다. 이러한 방법으로 제조된 신규한 테트라졸로 하이드라존 유도체는 제조 후, 적외선 분광법, 핵자기 공명 스펙트럼, 질량 분광법, 액체 크로마토그 래피법, X-선 구조결정법, 선광도 측정법 및 대표적인 화합물의 원소분석 계산치와 실측치의 비교에 의해 분자구조를 확인할 수 있다.

또한, 이하 실시예에서 확인할 수 있는 바와 같이, 본 발명에 따른 화학식 1의 테트라졸로 하이드라존 유도체는 유방암 세포주인 MCF-7, MDA-Mb-231 및 Zr-75 세포의 증식을 낮은 마이크로몰 농도에서 억제하며, 세포사멸 관련 유전자 등의 발현조절을 통하여 암 세포의 활성을 저해함으로써 뛰어난 항암활성을 나타내는 바, 항암제의 유효성분으로 사용될 수 있다. 따라서 본 발명은 상기 테트라졸로 하이드라존 유도체 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염의 암의 예방 또는 치료용 약학 조성물, 즉, 항암제의 제조를 위한 용도를 제공한다. 또한 본 발명은 치료학적 유효량의 상기 테트라졸로 하이드라존 유도체 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 대상체에 투여하는 단계를 포함하는 암의 예방 또는 치료 방법을 제공한다.

본 발명의 한 구체예에서, 상기 테트라졸로 하이드라존 유도체 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 유효성분으로 함유하는 암의 예방 또는 치료용 약학 조성물은 약학 조성물 100 중량부에 대하여 상기 테트라졸로 하이드라존 유도체 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 0.01 내지 90 중량부, 0.1 내지 90 중량부, 1 내지 90 중량부, 또는 10 내지 90 중량부로 포함할 수 있으나 이에 한정되는 것은 아니고, 환자의 상태 및 질환의 종류 및 진행 정도에 따라 달라질 수 있다.

본 발명의 다른 구체예에서, 상기 테트라졸로 하이드라존 유도체 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 유효성분으로 함유하는 암의 예방 또는 치료용 약학 조성물은 담체, 부형제, 붕해제, 감미제, 피복제, 팽창제, 윤활제, 활택제, 향미제, 항산화제, 완충액, 정균제, 희석제, 분산제, 계면활성제, 결합제 및 윤활제로 이루어진 군에서 선택되는 하나 이상의 보조제를 추가로 포함할 수 있다.

구체적으로 담체, 부형제 및 희석제는 락토즈, 덱스트로즈, 수크로스, 솔비

톨, 만니톨, 자일리톨, 에리스리톨, 말티톨, 전분, 아카시아 고무, 알지네이트, 젤라틴, 칼슘 포스페이트, 칼슘 실리케이트, 셀룰로즈, 메틸 셀룰로즈, 미정질 셀룰로스, 폴리비닐 피롤리돈, 물, 메틸히드록시벤조에이트, 프로필히드록시벤조에이트, 탈크, 마그네슘 스테아레이트 및 광물유를 사용할 수 있으며, 경구투여를 위한 고형제제에는 정제, 환제, 산제, 과립제, 캡슐제 등이 포함되며, 이러한 고형제제는 상기 조성물에 적어도 하나 이상의 부형제, 예를 들면, 전분, 칼슘카보네이트, 수크로스 또는 락토오스, 젤라틴 등을 섞어 조제할 수 있다. 또한 단순한 부형제 이외에 마그네슘 스티레이트, 탈크 같은 윤활제들도 사용할 수 있다. 경구를 위한 액상제제로는 현탁제, 내용액제, 유제, 시럽제 등이 있으며 흔히 사용되는 단순 희석제인 물, 리퀴드 파라핀 이외에 여러 가지 부형제, 예를 들면 습윤제, 감미제, 방향제, 보존제 등이 포함될 수 있다. 비경구 투여를 위한 제제에는 멸균된 수용액, 비수성용제, 현탁제, 유제, 동결건조제제, 좌제 등이 포함된다. 비수성용제, 현탁제로는 프로필렌글리콜, 폴리에틸렌 글리콜, 올리브 오일과 같은 식물성 기름, 에틸올레이트와 같은 주사 가능한 에스테르 등이 사용될 수 있다. 좌제의 기재로는 위텝솔(witepsol), 마크로골, 트윈(tween) 61, 카카오지, 라우린지, 글리세로제라틴 등이 사용될 수 있다.

본 발명의 또 다른 구체예에서, 상기 테트라졸로 하이드라존 유도체 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 유효성분으로 함유하는 암의 예방 또는 치료용 약학 조성물의 제형은 과립제, 산제, 피복정, 정제, 환제, 캡슐제, 좌제, 겔, 시럽, 즙, 현탁제, 유제, 점적제 또는 액제로 이루어진 군에서 선택될 수 있다.

본 발명의 일실시예에 따르면 상기 약학 조성물은 정맥내, 동맥내, 복강내, 근육내, 동맥내, 복강내, 흉골내, 경피, 비측내, 흡입, 국소, 직장, 경구, 안구내 또는 피내 경로를 통해 통상적인 방식으로 대상체로 투여할 수 있다.

상기 테트라졸로 하이드라존 유도체 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 유효성분으로 함유하는 암의 예방 또는 치료용 약학 조성물의 바람직한 투여량(치료학적 유효량)은 환자의 상태 및 체중, 질환의 종류 및 정도, 약물 형태, 투여경

로 및 기간에 따라 달라질 수 있으며 당업자에 의해 적절하게 선택될 수 있다. 본 발명의 일실시예에 따르면 이에 제한되는 것은 아니지만 1일 투여량이 0.01 내지 1,000 mg/kg, 구체적으로는 0.1 내지 1,000 mg/kg, 보다 구체적으로는 0.1 내지 100 mg/kg 일 수 있다. 투여는 하루에 한 번 투여할 수도 있고 수회로 나누어 투여할 수도 있으며, 이에 의해 본 발명의 범위가 제한되는 것은 아니다.

본 발명에 있어서, 상기 '대상체'는 인간을 포함하는 포유동물일 수 있으나, 이들 예에 한정되는 것은 아니다

본 발명의 한 구체예에서, 상기 암은 고형암일 수 있으며, 더욱 구체적으로 본 발명에 따른 화학식 1의 테트라졸로 하이드라존 유도체는 뇌종양(Brain tumor), 양성성상세포종 (Low- grade astrocytoma), 악성성상세포종 (High-grade astrocytoma), 뇌하수체 선종 (Pituitary adenoma), 뇌수막종 (Meningioma), 뇌림프종 (CNS lymphoma), 핍지교종 (Oligodendroglioma), 두개내인종 (Craniopharyngioma), 상의세포종 (Ependymoma), 뇌간종양 (Brain stem tumor), 두경부 종양(Head & Neck tumor), 후두암 (Larygeal cancer), 구인두암 (Oropgaryngeal cancer) , 비강/부비동암 (Nasal cavity/PNS tumor), 비인두암 (Nasopharyngeal tumor), 침샘암 (Salivary gland tumor), 하인두암 (Hypopharyngeal cancer), 갑상선암 (Thyroid cancer), 구강암 (Oral cavity tumor), 흉부종양(Chest Tumor), 소세포성 폐암 (Small cell lung cancer), 비소세포성 폐암 (Non small cell lung cancer), 흉선암 (Thymoma), 종격동 종양 (Mediastinal tumor), 식도암 (Esophageal cancer), 유방암 (Breast cancer), 남성유방암 (Male breast cancer), 복부종양 (Abdomen-pelvis tumor), 위암 (Stomach cancer) , 간암 (Hepatoma), 담낭암 (Gall bladder cancer), 담도암 (Billiary tract tumor), 췌장암 (pancreatic cancer), 소장암 (Small intestinal tumor), 대장(직장)암 (Large intestinal tumor), 항문암 (Anal cancer), 방광암 (Bladder cancer), 신장암 (Renal cell carcinoma), 남성생식기종양 (Male genital cancer), 음경(요도)암 (Penile cancer), 전립선암 (Prostatic cancer), 여성생식기종양

(Female genital cancer), 자궁경부암 (Cervix cancer), 자궁내막암 (Endometrial cancer), 난소암 (Ovarian cancer), 자궁육종 (Uterine sarcoma), 질암 (Vaginal cancer), 여성외부생식기암 (Vulva cancer), 여성요도암 (Urethral cancer) 또는 피부암 (Skin cancer)의 치료에 사용함이 바람직하다. 보다 더 바람직하게는 유방암의 치료에 사용될 수 있으나 이제 제한되는 것은 아니다.

이하, 본 발명의 이해를 돕기 위하여 실시예를 들어 상세하게 설명하기로 한다. 다만 하기의 실시예는 본 발명의 내용을 예시하는 것일 뿐 본 발명의 범위가 하기 실시예에 한정되는 것은 아니다. 본 발명의 실시예는 당업계에서 평균적인 지식을 가진 자에게 본 발명을 보다 완전하게 설명하기 위해 제공되는 것이다.

<제조예 1> 테트라졸로 하이드라존 유도체의 제조 및 구조분석

1. 시료 및 분석방법

용매 및 유기 시약은 Sigma Aldrich, Merck (Germany) 사로부터 구입하였고, 추가 정제과정 없이 사용하였다. 녹는점(mp)은 Mel-temp 장비를 사용하여 측정되었고, 수정 없이 결과를 사용하였다. 미리 코팅된 알루미늄 박판(실리카 겔 60 F_{254}, Merck Germany)이 박판 크로마토그래피(thin-layer chromatography, TLC)에 사용되었고, 스팟은 UV에 의해 가시화되었다. 원소 분석은 Central Drug Research Institute Lucknow, Uttar Pradesh, India 의 Heraeus Vario EL III 분석기를 사용하여 수행하였다. 결과는 ±0.3% 의 이론값으로 나타내었다. 전자 스펙트럼은 Shimadzu UV 1601 PC UV-Visible spectrophotometer로 기록되었다. IR 스펙트럼은 KBr 디스크로 Perkin-Elmer model 1600 FT-IR RX1 spectrophotometer에 기록되었다. ^{1}H NMR 및 ^{13}C NMR 스펙트럼은 Bruker AVANCE 300 spectrometer에 DMSO-d_6 을 용매로 사용하고 TMS를 내부 표준으로 하여 기록되었다. 분열 패턴은 아래와 같이 구별되었다: s, 단일항; d, 이중항; dd, 이중 이중항; t, 삼중항; m, 다중항. 화학적 이동값은 ppm으로 표시되었다. ESI-MS는 MICROMASS QUATTRO II triple quadrupole mass spectrometer로 기록되었다.

2. 제조방법

5-(1,3-benzodioxol-5-yl)-1-tetrazole 분자는 1,3-benzodioxazole-5-carbaldehyde로부터 다단계로 합성되었다. 알데하이드는 옥심으로 전환되었고, 이는 과량의 아세트산 무수물의 처리를 통해 piperonylonitrile로 전환되었다. 니트릴 작용기는 아자이드 및 아연 브로마이드를 사용한 in situ 결정화에 따라 테트라졸로 전환되었다. 이러한 테트라졸 중심분자는 일련의 치환된 유도체를 합성하는데 사용되며, 이러한 일련의 합성과정을 도 1에 나타내었다. 모든 화합물은 다양한 분광 기술로 분석되었다. 이하 각 단계의 제조과정을 상세히 설명한다.

1) piperonal oxime[a] 의 일반적 합성방법

알데하이드(1eq) 및 하이드록시아민 하이드로클로라이드(1.25eq)를 물(5 ml)에 용해시키고, 상기 용액에 물(10ml)에 용해된 소듐 바이카보네이트(1.25eq)를 천천히 가하며 교반하였고 최종 혼합용액을 2-5시간 추가로 교반하여 고체 침전물을 얻은 후 여과 후 건조하였다.

2) piperonal nitrile[b] 의 일반적 합성방법

250ml 둥근 바닥 플라스크에 피페로날 옥심(piperonal oxime) 및 아세트산 무수물(20ml)을 가하였다. 반응 혼합물은 24시간동안 교반하며 환류되었고, 반응 혼합물을 얼음물에 붓고 고체 침전물을 회수하고 여과 후 건조하였다.

3) 5-(1,3-benzodioxol-5-yl)-1-h-tetrazole[c] 의 일반적 제조방법

250ml 둥근 바닥 플라스크에 니트릴 (20 mmol) 및 소듐 아자이드(22 mmol), 아연 브로마이드 (20 mmol), 물 40ml 및 이소프로필알콜(10ml)를 가하였다. 반응 혼합물은 24시간동안 교반하며 환류되었다. HCl (3 N, 30 ml) 및 에틸 아세테이트(100 ml)를 가하고, 고체가 존재하지 않고, 수층의 pH가 1이 될때까지 교반하였다. 필요한 경우, 추가로 에틸 아세테이트를 가하였다. 유기층이 분리되었고, 수층은 2 X100 ml의 에틸아세테이트로 추출되었다. 유기층은 증류되었으며, 200 ml의 0.25

N NaOH를 가하였고, 혼합물을 30분간 본래 침전물이 용해되고 아연 수산화물이 형성될 때까지 교반하였다. 서스펜션을 여과하고, 여과물을 20 ml의 1N NaOH로 세척하였다. 여과물에 40ml의 3N HCl을 가하고 교반하여 테트라졸이 침전되도록 하였다. 테트라졸은 여과 후 2X20 ml의 3N HCl로 세척되고 건조 오븐에서 테트라졸을 흰거나 색이 옅은 가루로 얻기 위해 건조되었다. 필요한 경우 고체는 헥산(hexane) 또는 10% 에틸 아세테이트가 용해된 헥산(hexane) 으로 연마되었다.

6.156 (s,2H,O-CH_2-O), 7.135(J=8.1,d,1H,Ar-H), 7.548(s,1H,Ar-H), 7.596(J=7.8,d,1H,Ar-H), 11.011(s,1H,NH).

4) Ethyl[5-(1,3-benzodioxol-5-yl)-1-h-tetrazol-1-yl]acetate[d] 의 일반적 제조방법

5-(1,3-benzodioxol-5-yl)-1-h-tetrazole (10 mmol) 에틸 클로로아세테이트 (10 mmol) 및 포타슘 카보네이트 (15 mmol)을 무수 아세톤 (100 ml) 에서 혼합하고 24시간동안 환류하였다. 반응 혼합물은 여과되었고 용매는 증류되었다. 증류하고 남은 에스터 여과물을 에탄올로부터의 재결정 방법으로 정제하였다.

1.117-1.263(t,3H,CH_3), 4.101-4.265(m, 2H,CH_2), 5.851 (s,2H,CH_2),6.141 (s,2H,O-CH_2-O), 7.094 (J=8.1,d,1H,Ar-H), 7.523(s,1H,Ar-H), 7.619(J=9.6,d,1H,Ar-H).

5) 2-[5-(1,3-benzodioxol-5-yl)-1-H-tetrazol-1-yl]acetohydrazide[e] 의 일반적 제조방법

Ethyl[5-(1,3-benzodioxol-5-yl)-1-h-tetrazol-1-yl]acetate (10 mmol) 및 하이드라진 하이드레이트(99%, 10 mmol)을 에탄올 (50 ml)과 혼합하고 8시간 동안 환류하였다. 혼합물을 식힌 후 고체 하이드라자이드를 여과, 에탄올 재결정을 통해 수득하였다.

5.377(s,2H,CH_2), 6.099(s,2H,O-CH_2-O), 7.051(J=8.1,d,1H,Ar-H),

7.468(s,1H,Ar-H), 7.564(J=8.1,d,1H,Ar-H), 9.598(s,2H,NH_2).

6) compounds f_1-f_{15} 의 일반적 제조방법

화합물 e (10 mmol), 적합한 알데하이드 및 소량의 차가운 아세트산과 에탄올 (50 ml)을 혼합하고 12시간동안 환류시켰다. 생성물이 침전되었고, 이를 여과 및 에탄올로부터의 재결정을 통해 수득하였다. 이후 상기 화합물 f_1-f_{15}의 항암 효과를 분석하였다.

f *1* :

2-[5-(1,3-benzodioxol-5-yl)-1*H*-tetrazol-1-yl]-*N'*-[4-chlorophenyl-methylidene] acetohydrazide

수득률: 92%; mp 206-208 ^{0}C; 흰색 결정; $C_{17}H_{13}N_6O_3Cl$: C58.28, H4.03, N23.99, found C 58.29, H 4.02, N 23.98; IR v_{max}(cm^{-1}): 1031 (C-N), 1617 (C=N), 1693 (C=O), 3001 (CH-Ar), 3210 (NH); ^{1}H NMR DMSO-d_6/ δ (ppm): 5.656 (s, 2H, CH_2), 6.105 (s, 2H, O-CH_2-O), 7.083 (J=8.1, d, 1H, Ar-H), 7.521 (s, 1H, Ar-H), 7.619 (J=8.1, d, 1H, Ar-H), 7.739 (J=11.4, d, 1H, Ar-H), 8.059 (s, 1H, HC=N), 12.038 (s, 1H, NH); ^{13}CNMR DMSO-d_6/ δ (ppm): 55.44[CH_2], 101.71[O-C-O], 106.20, 109.07, 114.44, 120.55, 120.88, 124.99, 130.54, 148.03, 149.21, 163.99, 165.45, 168.11[CH=N], 170.63[C=O]; ESI-MS(m/z): [M^++1] 384.07(384.78).

f *2* :

2-[5-(1,3-benzodioxol-5-yl)-1*H*-tetrazol-1-yl]-*N'*-[(2-chlorophenyl)methylidene]acetohydrazide

수득률 93%; mp 198-200 ^{0}C; 흰색 결정; $C_{17}H_{13}N_6O_3Cl$: C58.28, H4.03, N 23.99, found C58.29, H4.02, 23.98; IR v_{max}(cm^{-1}): 1039 (C-N), 1605 (C=N), 1702 (C=O), 2955 (CH-Ar), 3128 (NH); ^{1}H NMR DMSO-d_6/ δ (ppm): 5.638 (s, 2H, CH_2),

6.109 (s, 2H, O-CH_2-O), 7.06 (J=7.8, d, 1H, Ar-H), 7.593 (J=8.1, d, 1H, Ar-H), 8.056 (J=7.5, d, 1H, Ar-H), 7.392-7.527 (m, 2H, Ar-H), 8.424 (s, 1H, HC=N), 12.118 (s, 1H, NH); ^{13}CNMR DMSO-d_6/δ (ppm): 55.41[CH_2], 101.69[O-C-O], 106.19, 109.10, 114.50, 120.35, 120.43, 124.79, 130.44, 148.23[CH=N], 149.23, 163.79, 165.55, 168.13,170.65[C=O]; ESI-MS(m/z): [M^++1] 384.07(384.78).

F*3:* 2-[5-(1,3-benzodioxol-5-yl)-1*H*-tetrazol-1-yl]-*N'*-[(4-ethoxyphenyl) methylidene]acetohydrazide

수득률 93%; mp 208-210 ^{0}C; 흰색 결정; $C_{19}H_{18}N_6O_4$: C57.86, H4.60, N 21.31, found: C57.87, H4.59, N21.30; IR v_{max}(cm^{-1}): 1043 (C-N), 1607 (C=N), 1688 (C=O), 2959 (CH-Ar), 3142 (NH); ^{1}H NMR DMSO-d_6/δ (ppm): 1.285-1.331 (t, 3H, CH_3), 4.009-4.078 (dd, 2H, CH_2), 5.587 (s, 2H, CH_2), 6.034 (s, 2H, O-CH_2-O), 6.942 (J=8.4, d, 1H, Ar-H), 7.061 (J=8.1, d, 1H, Ar-H), 7.495 (s, 1H, Ar-H), 7.591-7.688 (m, 2H, Ar-H), 8.162 (s, 1H, HC=N), 11.811 (s, 1H, NH); ^{13}CNMR DMSO-d_6/δ (ppm): 25.74[CH_3], 55.41[CH_2], 65.22[O-CH_2], 101.69[O-C-O], 106.19, 109.10, 114.50, 120.35, 120.43, 124.79, 130.44, 148.23[CH=N], 149.23, 163.79, 165.55, 168.13, 170.65[C=O], ESI-MS(m/z): [M^++1] 394.14(394.38).

F*4:* 2-[5-(1,3-benzodioxol-5-yl)-1*H*-tetrazol-1-yl]-*N'*-[(4-methoxyphenyl) methylidene]acetohydrazide

수득률 95%; mp 198-200 ^{0}C; 흰색 결정; $C_{18}H_{16}N_6O_4$: C56.84, H4.24, N 22.10, found: C56.85, H4.25, N22.11%; IR v_{max}(cm^{-1}): 1043 (C-N), 1606 (C=N), 1685 (C=O), 3000 (CH-Ar), 3210 (NH); ^{1}H NMR DMSO-d_6/δ (ppm): 3.331 (s, 3H, OCH_3), 5.614 (s, 2H, CH_2), 6.134 (s, 2H, O-CH_2-O), 6.977 (J=13.5, d, 1H, Ar-H), 7.092 (J=7.8, d, 1H, Ar-H), 7.526 (s, 1H, Ar-H), 7.623-7.714 (m, 2H, Ar-H), 8.015 (s, 1H, HC=N), 11.831 (s, 1H, NH); ^{13}C NMR DMSO-d_6/δ (ppm): 55.48 [OCH_3],

57.06 [CH_2], 101.70[O-C-O], 106.19, 109.06, 114.48, 120.58, 120.87, 124.96, 130.54, 148.03[CH=N], 149.21, 163.98, 165.44, 168.16, 170.61[C=O]; ESI-MS(m/z): [M^++1] 380.12(380.12)

F*5*:2-[5-(1,3-benzodioxol-5-yl)-1*H*-tetrazol-1-yl]-*N*'-[phenylmethylidene]acetohydrazide

수득률 93%; mp 204-206 ^{0}C; 흰색 결정; $C_{17}H_{14}N_6O_3$: C58.28, H4.03, N23.99, found C58.29, H4.02, N24.01; IR ν_{max}(cm^{-1}): 1037 (C-N), 1607 (C=N) 1687 (C=O), 2909 (CH-Ar), 3068 (NH); ^{1}H NMR DMSO-d_6/ δ (ppm): 5.627 (s, 2H, CH_2), 6.082 (s, 2H, O-CH_2-O), 7.076 (J=8.1, d, 1H, Ar-H), 7.431 (J=3.6, d, 1H, Ar-H), 7.510 (s, 1H, Ar-H), 7.606 (J=8.1, d, 1H, Ar-H), 7.735-7.758 (m, 1H, Ar-H), 8.056 (s, 1H, HC=N), 11.954 (s, 1H, NH); ^{13}CNMR DMSO-d_6/ δ (ppm): 56.00[CH_2], 101.69[O-C-O], 106.21, 109.06, 120.67, 120.85, 127.12, 127.27, 128.77, 130.19, 133.73, 144.94[CH=N], 148.03, 149.17, 162.20, 163.95[C=O]; ESI-MS(m/z): [M^++1] 350.11(350.11)

F*6*: 2-[5-(1,3-benzodioxol-5-yl)-1*H*-tetrazol-1-yl]-*N*'-[(4-methylphenyl)methylidene]acetohydrazide

수득률 95%; mp 203-205 ^{0}C; 흰색 결정; $C_{18}H_{16}N_6O_3$: C58.28, H4.03, N23.99, found C58.27, H4.02, N24.00; IR ν_{max}(cm^{-1}): 1034 (C-N), 1607 (C=N), 1676 (C=O), 2911 (CH-Ar), 3199 (NH); ^{1}H NMR DMSO-d_6/ δ (ppm): 2.317 (s, 3H, CH_3), 5.609 (s, 2H, CH_2), 6.016 (s, 2H, O-CH_2-O), 7.062 (J=8.7, d, 1H, Ar-H), 7.227 (J=7.8, d, 1H, Ar-H), 7.498 (s, 1H, Ar-H), 7.583-7.681 (m, 2H, Ar-H), 8.012 (s, 1H, HC=N), 11.861 (s, 1H, NH); ^{13}C NMR DMSO-d_6/ δ (ppm): 25.69[CH_3], 56.10[CH_3], 101.68[O-C-O], 106.22, 109.16, 120.77, 120.87, 127.22, 127.24, 128.75, 130.18, 133.59, 144.82[CH=N], 148.13, 149.27, 162.21[C=O], 163.91;

ESI-MS(m/z): [M^++1] 364.16(364.13).

F7: 2-[5-(1,3-benzodioxol-5-yl)-1*H*-tetrazol-1-yl]-*N'*-[(2-ethoxyphenyl) methylidene]acetohydrazide

수득률 96%; mp 196-198 ^{0}C; 흰색 결정; $C_{19}H_{18}N_6O_4$: C57.86, H4.60, N 21.31, found C57.87, H4.59, N21.30; IR v_{max}(cm^{-1}): 1035 (C-N), 1608 (C=N), 1685 (C=O), 2905 (CH-Ar), 3211 (NH); ^{1}H NMR DMSO-d_6/δ (ppm): 1.349-1.414 (t, 3H, CH_3), 4.089-4.156 (m, 2H, CH_2), 5.612 (s, 2H, CH_2), 6.074 (s, 2H, O-CH_2-O), 6.968-7.429 (m, 2H, Ar-H), 7.525 (s, 1H, Ar-H), 7.617 (J=2.1, d, 1H, Ar-H), 7.644 (J=1.8, d, 1H, Ar-H), 7.898 (J=7.8, d, 1H, Ar-H), 8.440 (s, 1H, HC=N), 11.898 (s, 1H, NH); ^{13}CNMR DMSO-d_6/δ (ppm): 15.74[CH_3], 55.41[CH_2], 63.91[O-CH_2], 101.69[O-C-O], 106.19, 109.10, 114.50, 120.35, 120.43, 124.79, 130.44, 148.23[CH=N], 149.23, 163.79, 165.55, 168.13, 170.65[C=O]; ESI-MS(m/z): [M^++1] 394.13(394.14).

F8:2-[5-(1,3-benzodioxol-5-yl)-1*H*-tetrazol-1-yl]-*N'*-[(3,4-dimethoxyphenyl)methylidene]acetohydrazide

수득률 94%; mp 200-202 ^{0}C; 흰색 결정; $C_{19}H_{18}N_6O_5$: C55.61, H4.42, N20.48, found C55.60, H4.41, N20.49; IR v_{max}(cm^{-1}): 1033 (C-N), 1604 (C=N), 1685 (C=O), 2960 (CH-Ar), 3222 (NH); ^{1}H NMR DMSO-d_6/δ (ppm): 3.790 (s, 3H, OCH_3), 3.806 (s, 3H, OCH_3), 5.591 (s, 2H, CH_2), 6.065 (s, 2H, O-CH_2-O), 6.974 (J=8.1, d, 1H, ArH), 7.184 (J=8.4, d, 1H, Ar-H), 7.298 (s, 1H, Ar-H), 7.377 (s, 1H, Ar-H), 7.502 (s, 1H, Ar-H), 7.603 (J=8.1, d, 1H, Ar-H), 7.970 (s, 1H, HC=N), 11.804 (s, 1H, NH); ^{13}C NMR DMSO-d_6/δ (ppm): 55.48[CH_2], 57.06[OCH_3], 101.70[O-C-O], 106.19, 109.06, 114.48, 120.58, 120.87, 124.96, 130.54, 148.03[CH=N], 149.21, 163.98, 165.44, 168.16, 170.61[C=O]; ESI-MS(m/z): [M^++1] 410.13(410.13).

F*9:* 2-[5-(1,3-benzodioxol-5-yl)-1*H*-tetrazol-1-yl]-*N'*-[thiophen-2-l methylidene]acetohydrazide

수득률 95%; mp 200-202 ^{0}C; 흰색 결정; $C_{15}H_{12}N_6O_3S$: C50.56, H3.39, N23.58; found C50.57, H3.40, N23.57; IR ν_{max}(cm^{-1}): 1038 (C-N), 1501 (C=N), 1692 (C=O), 2971 (CH-Ar), 3139 (NH); ^{1}H NMR DMSO-d_6/ δ (ppm): 5.615 (s, 2H, CH_2), 5.973 (s, 2H, O-CH_2-O), 7.089-7.503 (m, 3H, Ar-H), 7.523 (s, 1H, Ar-H), 7.643 (J=1.2, d, 1H, Ar-H), 7.675 (J=4.8, d, 1H, Ar-H), 8.255 (s, 1H, HC=N), 11.926 (s, 1H, NH); ^{13}C NMR DMSO-d_6/ δ (ppm): 53.6 [CH_2]; 101.20 [O-C-O], 112.3, 115.8, 120.8, 124.0, 125.1, 125.8, 127.1, 127.4, 144.2, 148.8, [CH=N], 149.3, 163.5, 173.2 [C=O]; ESI-MS(m/z): [M$^+$+1] 356.06(356.07).

F*10:* 2-[5-(1,3-benzodioxol-5-yl)-1*H*-tetrazol-1-yl]-*N'*-[(2-nitrophenyl) methylidene]acetohydrazide

수득률 97%; mp 210-212 ^{0}C; 노란 결정; $C_{17}H_{13}N_7O_5$: C51.65, H3.31, N24.80, found C51.66, H3.30, N24.81; IR ν_{max}(cm^{-1}): 1039 (C-N), 1614 (C=N), 1693 (C=O), 2967 (CH-Ar), 3148 (NH); ^{1}H NMR DMSO-d_6/ δ (ppm): 5.685 (s, 2H, CH_2), 6.138 (s, 2H, O-CH_2-O), 7.069 (J=16.2, d, 1H, Ar-H), 7.529 (s, 1H, Ar-H), 7.625-8.127 (m, 4H, Ar-H), 8.200 (J=7.8, d, 1H, Ar-H), 8.473 (s, 1H, HC=N), 12.257 (s, 1H, NH); ^{13}CNMR DMSO-d_6/ δ (ppm): 53.80[CH_2], 101.71[O-C-O], 106.24, 109.09, 120.64, 123.94, 128.14, 140.03, 142.65[CH=N], 147.96, 148.25, 149.21, 166.72[C=O], ESI-MS(m/z): [M$^+$+1] 395.09(395.1).

F*11:* 2-[5-(1,3-benzodioxol-5-yl)-1*H*-tetrazol-1-yl]-*N'*-[(4-ethylphenyl) methylidene]acetohydrazide

수득률 93%; mp: 200-202 ^{0}C; 흰색 결정; $C_{19}H_{18}N_6O_3$: C60.31, H4.79, N22.21, found C60.30, H4.80, 22.22; IR ν_{max}(cm^{-1}): 1034 (C-N), 1528 (C=N), 1680 (C=O),

2959 (CH-Ar), 3198 (NH); ^{1}H NMR DMSO-d_6/δ (ppm): 1.169-1.216 (t, 3H, CH_3), 2.504-2.655 (tetra, 2H , CH_2), 5.629 (s, 2H, CH_2), 6.076 (s, 2H, O-CH_2-O), 7.089 (J=7.8, d, 1H, Ar-H), 7.281 (J=6.9, d, 1H, Ar-H), 7.625-7.675 (m, 2H, Ar-H), 7.525 (s, 1H, Ar-H), 8.042 (s, 1H, HC=N), 11.903 (s, 1H, NH); ^{13}C NMR DMSO-d_6/δ (ppm): 14.81[CH_3], 32.80[CH_2], 53.66[CH_2], 101.11[O-C-O], 115.12, 115.82, 119.98, 124.51, 129.40, 129.61, 130.56, 131.93, 136.42, 142.99[CH=N], 147.73, 149.21, 163.42, 172.31[C=O]; ESI-MS(m/z): [M^++1] 379.14(378.14).

F*12:* 2-[5-(1,3-benzodioxol-5-yl)-1*H*-tetrazol-1-yl]-*N'*-[(3-nitrophenyl) methylidene]acetohydrazide

수득률 93%; mp 208-210 ^{0}C; 노란 결정; $C_{17}H_{13}N_7O_5$: C51.65, H3.31, N24.80, found C51.66, H3.30, 24.81; IR v_{max}(cm^{-1}): 1035 (C-N), 1615 (C=N), 1703 (C=O), 2964 (CH-Ar), 3102 (NH); ^{1}H NMR DMSO-d_6/δ (ppm): 5.343 (s, 2H, CH_2), 5.962 (s, 2H, O-CH_2-O), 6.910 (J=7.8, d, 1H, Ar-H), 7.566 (s, 1H, Ar-H), 7.588-7.719 (m, 1H, Ar-H), 8.036 (J=8.1, d, 1H, Ar-H), 8.231 (J=8.1, d, 1H, Ar-H), 8.509 (s, 1H, HC=N), 11.092 (s, 1H, NH); ^{13}CNMR DMSO-d_6/δ (ppm): 53.79 [CH_2], 101.80 [O-C-O], 106.26, 109.11, 120.54, 123.84, 128.40, 140.23, 142.39[CH=N], 147.12, 148.23, 149.31, 166.66[C=O]; ESI-MS (m/z): [M^++1] 395.09(395.1).

F*13:*2-[5-(1,3-benzodioxol-5-yl)-1*H*-tetrazol-1-yl]-*N'*-[furan-2-ylmethylidene]acetohydrazide

수득률 95%; mp 212-214 ^{0}C; 흰색 결정; $C_{15}H_{12}N_6O_4$: C52.94, H3.55, N24.70, found C52.95, H3.56, N24.71; IR v_{max}(cm^{-1}): 1034 (C-N), 1612 (C=N), 1693 (C=O), 2918 (CH-Ar), 3124 (NH); ^{1}HNMR DMSO-d_6/δ (ppm): 5.601 (s, 2H, CH_2), 5.963 (s, 2H, O-CH_2-O), 6.619 (J=1.8, d, 1H, Ar-H), 7.058-7.091 (m, 1H, Ar-H), 7.492 (s, 1H, Ar-H), 7.587 (J=8.1, d, 1H, Ar-H), 8.108 (s, 1H, HC=N), 11.898 (s, 1H,

NH); ^{13}C NMR DMSO-d_6/δ (ppm): 53.63[CH_2]; 101.23 [O-C-O], 105.91, 109.91, 112.33, 115.83, 120.82, 124.02, 134.72, 143.99[CH=N], 148.83, 149.11, 149.31, 163.52, 170.11[C=O]; ESI-MS(m/z): [M^++1] 340.09(340.09).

F*14*:2-[5-(1,3-benzodioxol-5-yl)-1*H*-tetrazol-1-yl]-*N*'-[(*E*)-(4-nitrophenyl)methylidene]acetohydrazide

수득률 97%; mp 204-206 ^{0}C; 흰색 결정; $C_{17}H_{13}N_7O_5$: C51.65, H3.31, N24.80; found C51.66, H3.32, N24.81; IR ν_{max}(cm^{-1}): 1036 (C-N), 1599 (C=N), 1689 (C=O), 2913 (CH-Ar), 3089 (NH); ^{1}HNMR DMSO-d_6/δ (ppm): 5.672 (s, 2H, CH_2), 6.103 (s, 2H, O-CH_2-O), 7.066 (J=8.1, d, 1H, Ar-H), 7.498 (s, 1H, Ar-H), 7.420 (J=1.8, d, 1H, Ar-H), 7.997 (J=8.7, d, 1H, Ar-H), 8.244 (J=8.7, d, 1H, Ar-H), 8.148 (s, 1H, HC=N), 11.091 (s, 1H, NH); ^{13}C NMR DMSO-d_6/δ (ppm): 53.09[CH_2], 101.67[O-C-O], 106.44, 109.13, 120.59, 123.88, 128.14, 140.13, 142.75[CH=N], 147.86, 148.31, 149.43, 166.41[C=O]; ESI-MS(m/z): [M^++1] 395.09(395.1).

<실험예 1> 유방암 세포주에 대한 *In vitro* 항암 활성 분석

화합물 f_1-f_{15}의 유방암 세포주에 대한 항암활성을 ER 양성 (MCF-7) 및 ER 음성 (MDA-Mb-231 및 Zr-75) 세포주를 대상으로 검토하였다.

인간 유방암 세포주 MCF-7 및 MDA-MB-231을 12 웰 플레이트, 10% 우태혈청 (FBS) (HyClone Laboratories, Logan, UT, USA) 및 1% 페니실린 : 스트렙토마이신 (Invitrogen, Carlsbad, CA, USA) 을 포함하는 Dulbecco's Modified Eagle's Medium (DMEM) 배지에서 배양하였다. 테스트 화합물 f_1-f_{15}는 DMSO 에 용해되었고, 1 ㎕의 표준용액이 배양용액 ml당 작용 농도 $1x10^{-5}$, $1x10^{-6}$ 및 $1x10^{-7}$ M을 제조하기 위해 사용되었다. 각각의 시험에는 대조군 웰이 포함되었다. 세포 상청액은 새 배지를 첨가하여 $1x10^4$ cells/mL로 희석되었고, 1ml 의 상기 희석된 상청액을 시험군 및 대조군 웰에 가하였다. 플레이트는 37℃에서 CO_2 조건 하에서 24시간 동안 배양되었

다. 배양 후, 배양 배지는 교체되었고, 세포는 μl/ml의 표준용액으로 처리되었다. 세포는 37℃에서 CO_2 조건 하에서 48시간 동안 배양되었다. 세포의 성장은 저전력 현미경으로 분석되었으며, MTT 분석으로 세포 생존률을 확인하였다. 유사한 실험에서, ZR-75 세포는 10% 우태혈청(FBS) (HyClone Laboratories) 및 1% 페니실린 : 스트렙토마이신(Invitrogen, Carlsbad, CA, USA) 을 포함하는 RPMI 1640 (HyClone Laboratories, Logan, UT, USA)에서 배양되었다.

각각의 화합물의 MCF-7, MDA-Mb-231 및 Zr-75 세포주에 대한 결과를 도 2에 나타내었다. 결과는 화합물이 처리된 세포의 생장률(GP%)을 대조군과 비교하여 나타내었다. 화합물 f_1-f_{15} 중 2, 8, 10, 12 및 14 화합물이 상기 세포주에 대한 생장 저해 효과가 있는 것으로 나타났다. 상기 화합물은 10-30% 정도 대조군에 비해 세포의 성장을 저해하였다. 성장 억제율은 치환기 차이에 따른 화합물 및 세포주에 따라 다르게 나타났다.

보다 구체적으로, 도 2를 참조하면, 오소, 파라 또는 메타 위치에 치환된 니트로기를 가진 페닐 기를 포함하는 화합물 f10, f12 및 f14는 MCF-7 세포의 생장을 저해하는 효과가 우수함을 알 수 있었다. 화합물 f8은 3,4-디메톡시 페닐 치환기를 포함하고, 이는 ER 음성 MDA-Mb-231 및 ZR-75 세포주에서 우수한 증식 저해 효과를 보였다.

<실험예 2> 총 RNA 추출 및 실시간 RT-PCR을 통한 유전자 발현 분석

다양한 세포주에 대한 다양한 효과를 검토하기 위해, 화합물 처리에 따른 다양한 유방암 마커 유전자 발현 수준을 검토하였다.

총 RNA는 Trizol™ 시약을 사용하여 세포로부터 추출되었고, 디에틸피로카보네이트 처리된 -80°C의 물에서 사용 전까지 보관되었다. 총 2μg RNA는 cDNA 합성을 위해 사용되었다. 본 발명의 일실시예에서 사용된 모든 프라이머는 National Center for Biotechnology Information (NCBI) 에 개시된 서열 정보를 바탕으로 프라이머 3 소프트웨어 (http://frodo.wi.mit.edu)를 사용하여 디자인되었다. 실시간

PCR을 다음과 같은 조건 하에서 수행하였다: 95℃에서 10분 동안 합성된 cDNA의 예비-변성과, 95℃에서 33초 동안 변성, 각 유전자 특이적 프라이머 Tm(℃)에서 어닐링 및 72℃에서 33초 동안 연장의 40주기로 수행하였다. 관심 있는 유전자의 적절한 증폭은 녹는점 분석 및 1.2% 아가로오스 겔 전기영동에 의해 입증하였다.

MCF-7 세포에 대한 결과를 도 3에, MDA-Mb-231 세포에 대한 결과를 도 4에 나타내었다.

도 3을 참조하면, MCF-7 세포에서, BAX는 f2, f8, f10, f12 및 f14 화합물의 처리에 따라 2배 이상 발현이 증가하는 것으로 나타났다. BAX의 mRNA 수준의 발현 저해 및 이에 따른 단백질 수준 저하는 세포사멸(apoptosis)와 연관이 있다고 알려져 있다. 또한, 유방암 세포에서의 BAX 발현의 증가는 종양 형성을 억제하고, 약물에 대한 반응성을 증가시킨다. 따라서 상기 결과는 본 발명의 화합물이 mRNA 수준에서 항암 활성이 있음을 시사한다. 한편, ER 음성 세포주인 MDA-Mb-231세포에서 BAX 유전자의 발현 수준은 소량 감소하였다.

CD44 유전자 발현은 예후 및 전이와 관련이 있다. CD44 발현의 증가는 갑상선, 전립샘 및 유방암 등의 예후와 연관이 있다. 도 3을 참조하면, MCF-7 세포에서 CD44는 f2, f8, f10, f12 및 f14 화합물의 처리에 따라 증가하는 것으로 나타났다. 특히 f8, f10 화합물의 처리에 따라 약 2배 가량 증가하였다. 상기 결과는 상기 화합물이 암 세포의 진행을 감소시키는 효과가 있음을 시사한다. 한편, MDA-Mb-231 세포에서는 CD44이 발현이 감소하는 것으로 나타났으며, 이는 높은 침투성 및 간엽성에 기인하는 것으로 판단된다.

BRAC-1는 유방암 타입-1 민감 단백질을 생산하며, DNA 수복과 관련된 유전자이다. 그러나 BRAC-1 유전자 돌연변이는 유방암 및 난소암 위험성을 증가시킨다. BRAC-1 유전자의 발현 감소는 암 진행과 연관이 있다. 도 4를 참조하면, f2, f8, f10, f12 및 f14 화합물의 처리에 따라 BRAC-1 유전자의 발현이 MDA-MB-231 세포주에서 최소 두배 이상 감소함을 알 수 있다. 특히 p-nitropheny 치환기를 가진 f8 화합물은 BRAC-1의 억제 효과가 우수하였다. MCF-7세포주를 대상으로 한 실험 결과

(도 3 참조) 또한 BRAC-1의 발현이 소량 감소하였으나, 결과는 유의하지 않았다. P53 및 KRT-19를 대상으로 한 발현 레벨 측정 결과 또한 유의하지 않게 나타났다.

<실험예 3> MTT 분석

인간 간세포암 세포주(HepG2)는 10% 우태혈청(FBS) 및 1% 페니실린 : 스트렙토마이신을 포함하는 DMEM 배지에서 37 ^{0}C, 95% air/5% CO_2 를 포함하는 포화 습도 조건으로 배양되었다. 세포가 70% 가량 성장하면 10^{-5}M의 테트라졸 화합물 f_1-f_{15}을 처리하였다. 세포는 상기 화합물(화합물 f_1-f_{15})과 48시간 동안 배양되었고, 이후 이의 생존률을 MTT 분석을 통해 확인하였다.

생존률 분석을 위해, 배양 배지는 흡인되었고, 세포는 잔여 FBS 활성을 제거하기 위해 DMEM으로 두번 세척되었다. 10% MTT 500㎕ (5mg, thiazolyl blue tetrazolium bromide, 1 ml PBS의 M2128, Sigma Aldrich)를 각각의 세포에 가하였고, 3시간동안 37 °C, CO-$_2$ 대기조건 하에서 배양하였다. MTT 용액은 흡인되었으며, 500 ㎕의 DMSO를 가하여 보라색 염료를 용해하였다. 플레이트를 10분간 회전기에 위치시켰고, 100㎕의 푸른 용액을 96 웰 플레이트에 이동시켰다. 광학 밀도는 510 nm에서 Versa Max microplate reader (Sunnyvale, CA, USA)를 사용하여 측정되었다.

결과를 도 5에 나타내었다. 도 5를 참조하면, 상기 화합물(화합물 f_1-f_{15}) 모두 대조군과 비교하여 인간 간세포암 세포주(HepG2)에 대해 독성을 나타내지 않음을 확인할 수 있었다.

이하, 본 발명의 테트라졸로 하이드라존 유도체를 함유하는 약학조성물의 제제예를 설명하나, 본 발명은 이를 한정하고자 함이 아닌 단지 구체적으로 설명하고자 함이다.

<제제예 1> 산제의 제조

제조예 1에서 제조한 테트라졸로 하이드라존 유도체 300 mg, 유당 100 mg 및 탈크 10 mg을 혼합하고 기밀포에 충진하여 산제를 제조하였다.

<제제예 2> 정제의 제조

제조예 1에서 제조한 테트라졸로 하이드라존 유도체 50 mg, 옥수수전분 100 mg, 유당 100 mg 및 스테아린산 마그네슘 2 mg을 혼합한 후 통상의 정제의 제조방법에 따라서 타정하여 정제를 제조하였다.

<제제예 3> 캡슐제의 제조

통상의 캡슐제 제조방법에 따라 제조예 1에서 제조한 테트라졸로 하이드라존 유도체 50 mg, 옥수수전분 100 mg, 유당 100 mg 및 스테아린산 마그네슘 2 mg을 혼합하고 젤라틴 캡슐에 충전하여 캡슐제를 제조하였다.

<제제예 4> 주사제의 제조

통상의 주사제의 제조방법에 따라 1 앰플 당(2㎖) 제조예 1에서 제조한 테트라졸로 하이드라존 유도체 50 mg, 주사용 멸균 증류수 적량 및 pH 조절제 적량을 함유하여 제조하였다.

<제제예 5> 액제의 제조

통상의 액제의 제조방법에 따라 적량의 정제수에 제조예 1에서 제조한 테트라졸로 하이드라존 유도체 100 mg, 이성화당 10 g 및 만니톨 5 g을 가하여 용해시키고 레몬향을 적량 가한 후 혼합한 다음 정제수를 가하여 전체 100㎖로 조절한 후 갈색병에 충진하여 멸균시켜 액제를 제조하였다.

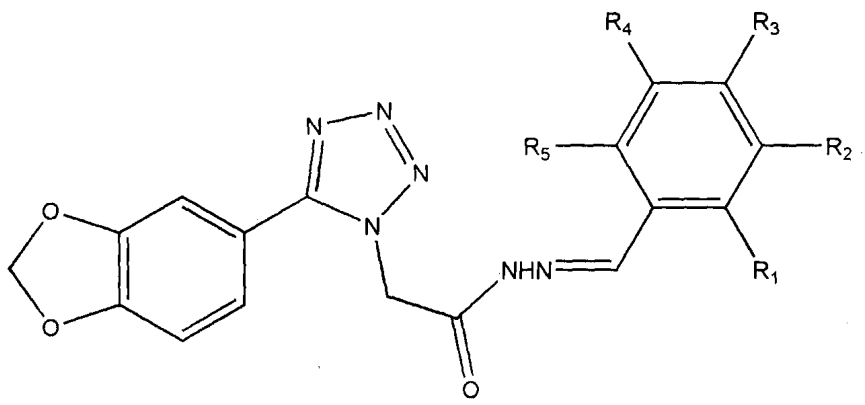
이상으로 본 발명의 특정한 부분을 상세히 기술하였는 바, 당업계의 통상의 지식을 가진 자에게 있어서, 이러한 구체적 기술은 단지 바람직한 실시예일 뿐이며, 이에 의해 본 발명의 범위가 제한되는 것이 아닌 점은 명백할 것이다. 따라서, 본 발명의 실질적인 범위는 첨부된 청구항들과 그것들의 등가물에 의하여 정의된다고 할 것이다.

【청구의 범위】

【청구항 1】

하기 화학식 1로 표시되는 테트라졸로 하이드라존 유도체 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염:

[화학식 1]



상기 화학식 1에서, R_1, R_2, R_3, R_4 및 R_5 는 각각 독립적으로 H, 할로겐, NO_2, C_{1-4} 알킬, C_{1-4} 할로알킬 또는 C_{1-4} 알콕시임.

【청구항 2】

제1항에 있어서, 상기 R_1 은 Cl, Br, 또는 I 이고, R_2, R_3, R_4 및 R_5 는 수소인 것인 테트라졸로 하이드라존 유도체 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염.

【청구항 3】

제1항에 있어서, 상기 R_1, R_2, R_3, R_4 및 R_5 는 각각 독립적으로 H 또는 NO_2 인 것인 테트라졸로 하이드라존 유도체 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염.

【청구항 4】

제1항에 있어서, 상기 R_1, R_2, R_3, R_4 및 R_5 는 각각 독립적으로 H 또는 메톡시인 것인 테트라졸로 하이드라존 유도체 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염.

【청구항 5】

제1항에 있어서, 상기 테트라졸로 하이드라존 유도체가 2-[5-(1,3-벤조다이옥솔-5-일)-1H-테트라졸-1-일]-N'-[(2-클로로페닐)메틸리덴]아세토하이드라자이드, 2-[5-(1,3-벤조다이옥솔-5-일)-1H-테트라졸-1-일]-N'-[(3,4-디메톡시페닐)메틸리덴]아세토하이드라자이드, 2-[5-(1,3-벤조다이옥솔-5-일)-1H-테트라졸-1-일]-N'-[(2-니트로페닐)메틸리덴]아세토하이드라자이드, 2-[5-(1,3-벤조다이옥솔-5-일)-1H-테트라졸-1-일]-N'-[(3-니트로페닐)메틸리덴]아세토하이드라자이드 또는 2-[5-(1,3-벤조다이옥솔-5-일)-1H-테트라졸-1-일]-N'-[(E)-(4-니트로페닐)메틸리덴]아세토하이드라자이드인 것인 테트라졸로 하이드라존 유도체 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염.

【청구항 6】

제1항 내지 제5항 중 어느 한 항의 테트라졸로 하이드라존 유도체 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 유효성분으로 포함하는 암의 예방 또는 치료용 약학 조성물.

【청구항 7】

제6항에 있어서, 상기 암은 고형암인 것인 암의 예방 또는 치료용 약학 조성물.

【청구항 8】

제7항에 있어서, 상기 고형암은 뇌종양, 양성성상세포종, 악성성상세포종, 뇌하수체 선종, 뇌수막종, 뇌림프종, 핍지교종, 두개내인종, 상의세포종, 뇌간종양, 두경부 종양, 후두암, 구인두암, 비강/부비동암, 비인두암, 침샘암, 하인두암, 갑상선암, 구강암, 흉부종양, 소세포성 폐암, 비소세포성 폐암, 흉선암, 종격동 종양, 식도암, 유방암, 남성유방암, 복부종양, 위암, 간암, 담낭암,

담도암, 췌장암, 소장암, 대장암, 직장암, 항문암, 방광암, 신장암, 남성생식기종양, 음경암, 전립선암, 여성생식기종양, 자궁경부암, 자궁내막암, 난소암, 자궁육종, 질암, 여성외부생식기암, 여성요도암 또는 피부암인 것인 암의 예방 또는 치료용 약학 조성물.

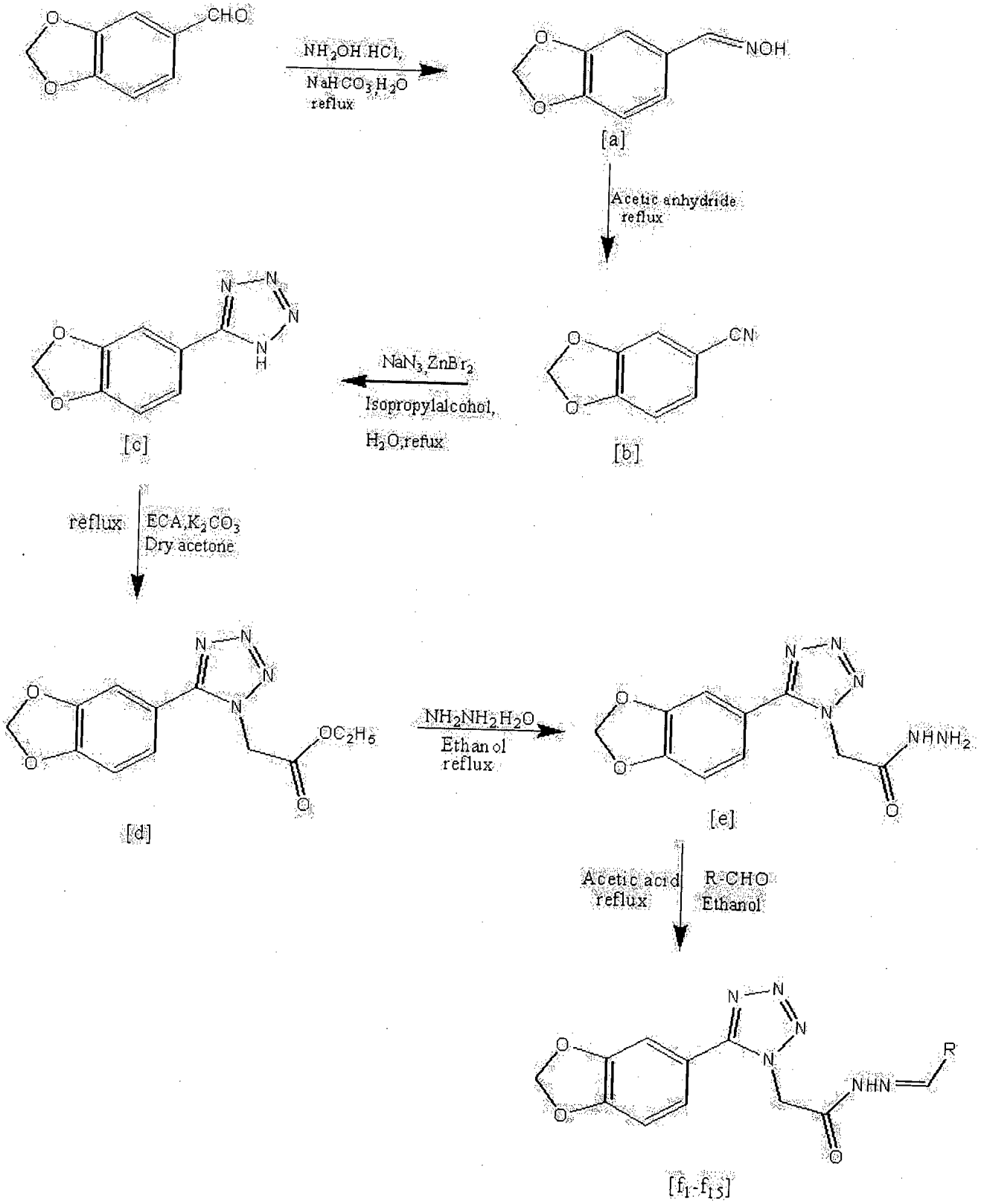
【청구항 9】

제1항 내지 제5항 중 어느 한 항의 테트라졸로 하이드라존 유도체 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염의 암의 예방 또는 치료용 약학 조성물의 제조를 위한 용도.

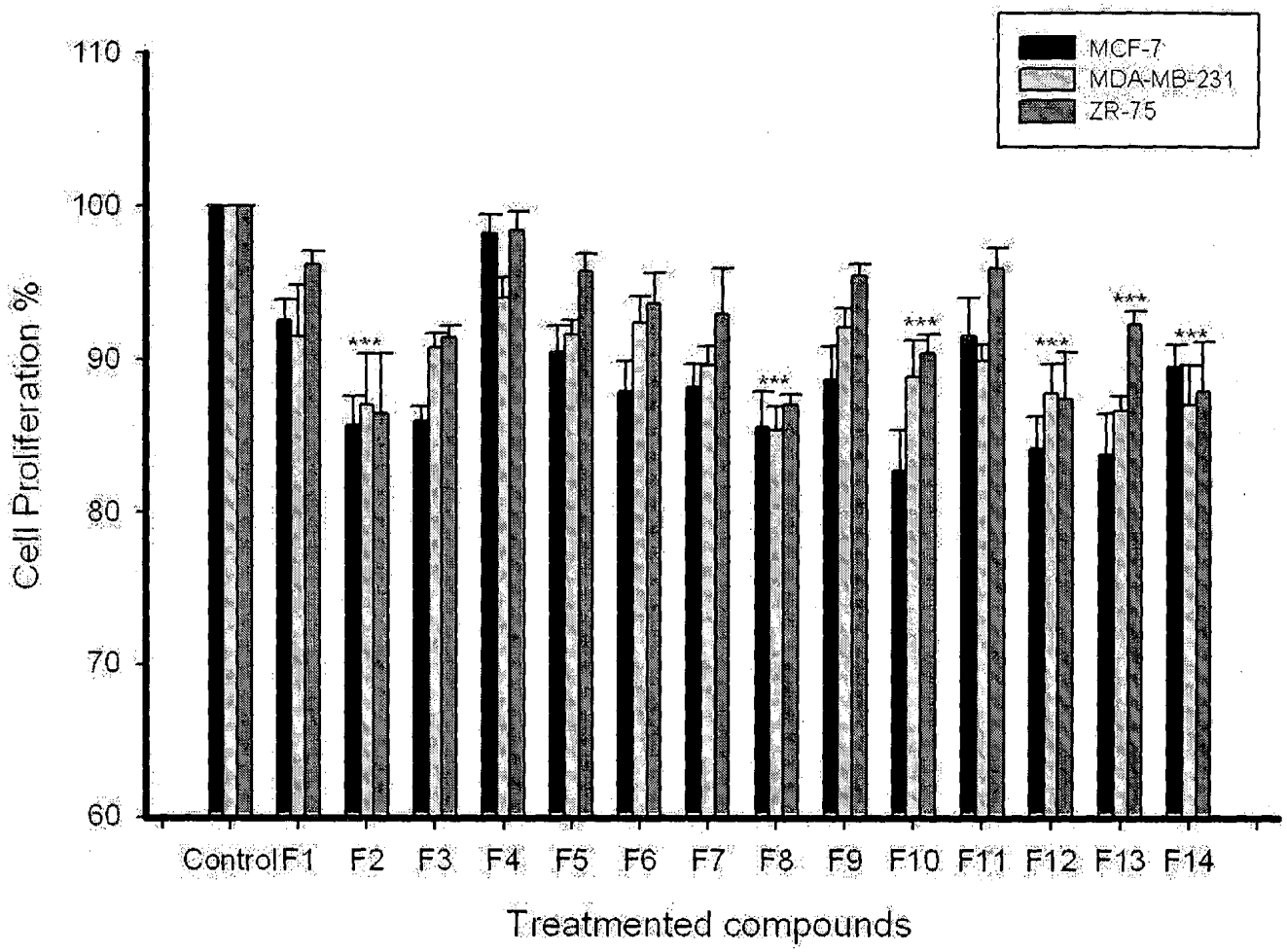
【청구항 10】

치료학적으로 유효량의 제1항 내지 제5항 중 어느 한 항의 테트라졸로 하이드라존 유도체 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 대상체에 투여하는 것을 포함하는 암의 예방 또는 치료 방법.

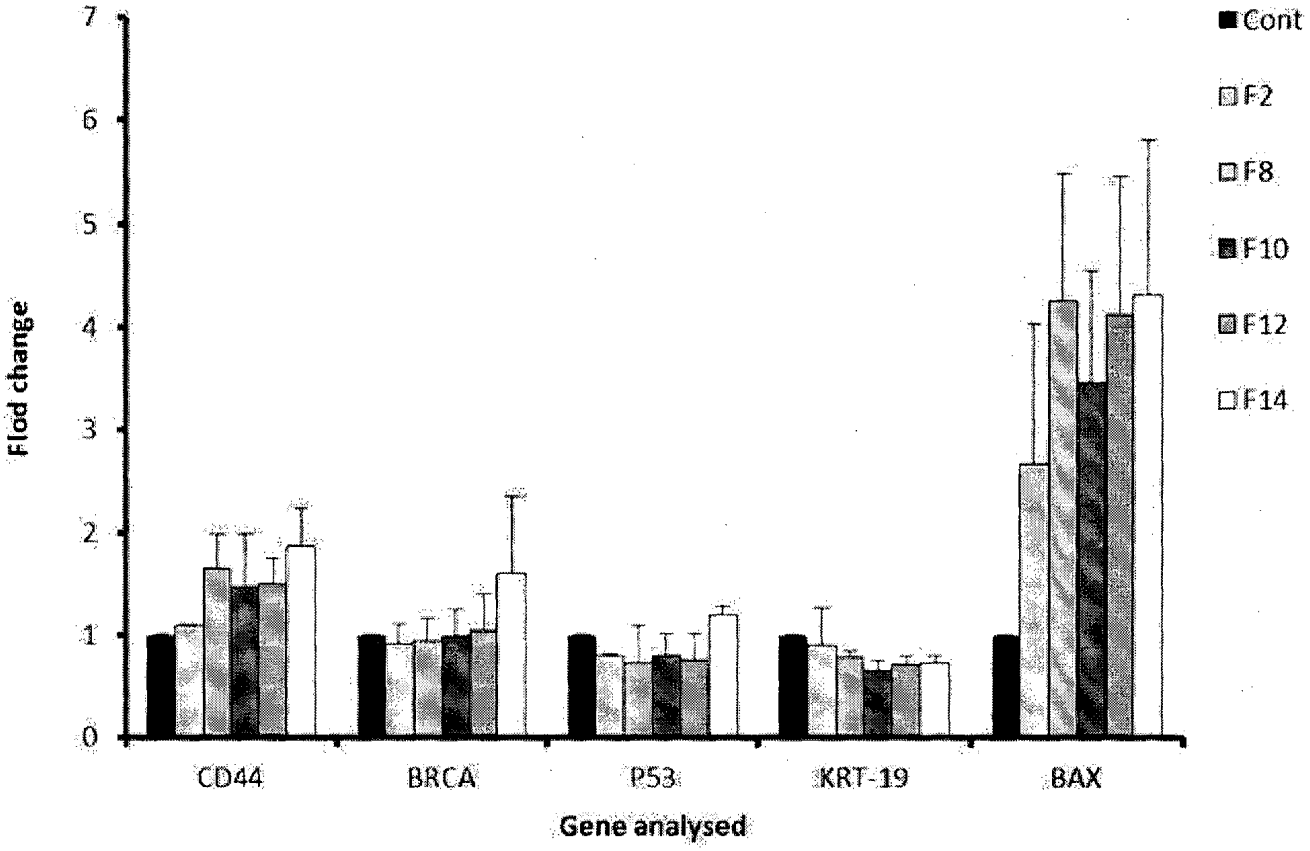
도 1


CHO
NH2OH·HCl,
NaHCO3,H2O
reflux
NOH
[a]
Acetic anhydride
reflux
CN
[b]
NaN3,ZnBr2
Isopropylalcohol,
H2O,refux
[c]
reflux
ECA,K2CO3
Dry acetone
OC2H5
[d]
NH2NH2·H2O
Ethanol
reflux
NHNH2
[e]
Acetic acid
reflux
R-CHO
Ethanol
NHN
R
[f1-f15]

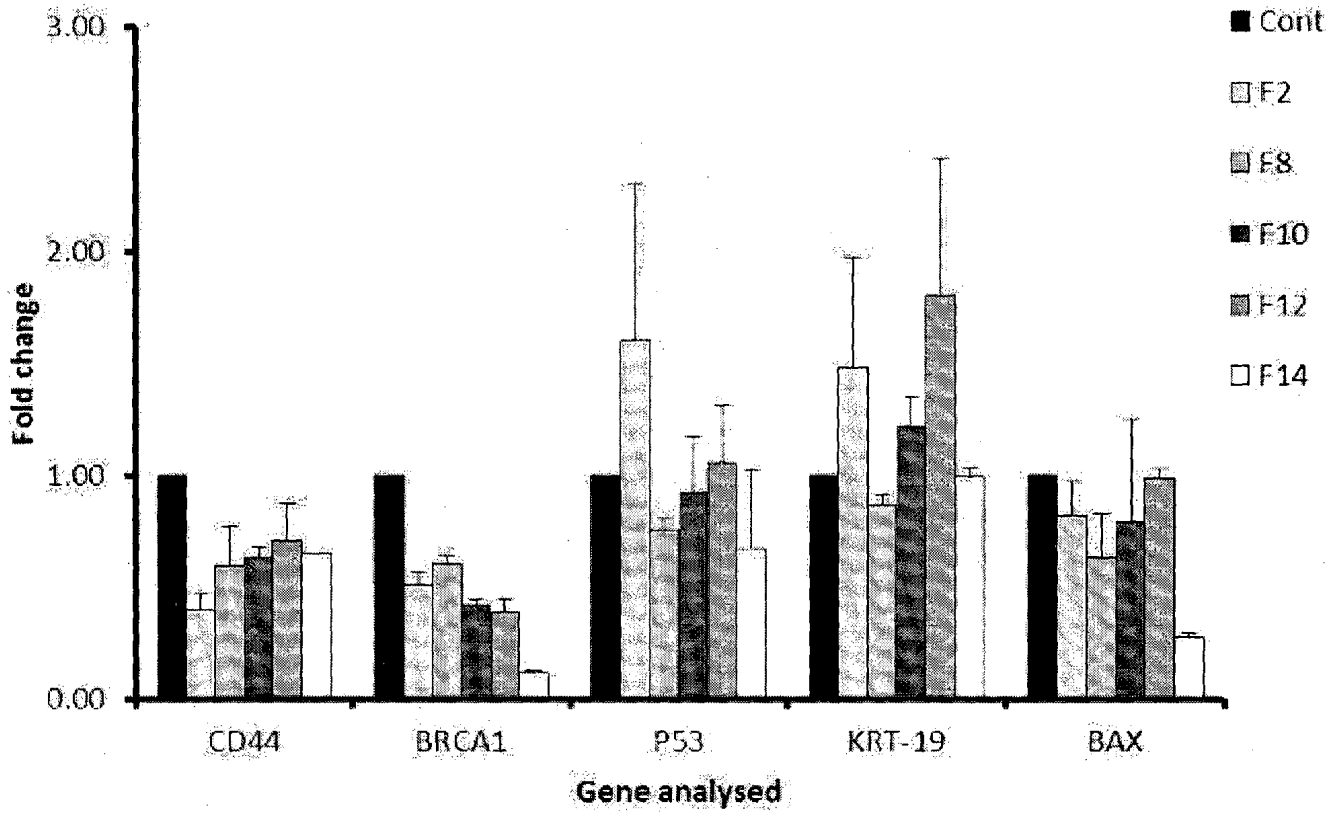
도 2


MCF-7
MDA-MB-231
ZR-75
110
100
90
80
70
60
Cell Proliferation %
***
Control F1 F2 F3 F4 F5 F6 F7 F8 F9 F10 F11 F12 F13 F14
Treatmented compounds

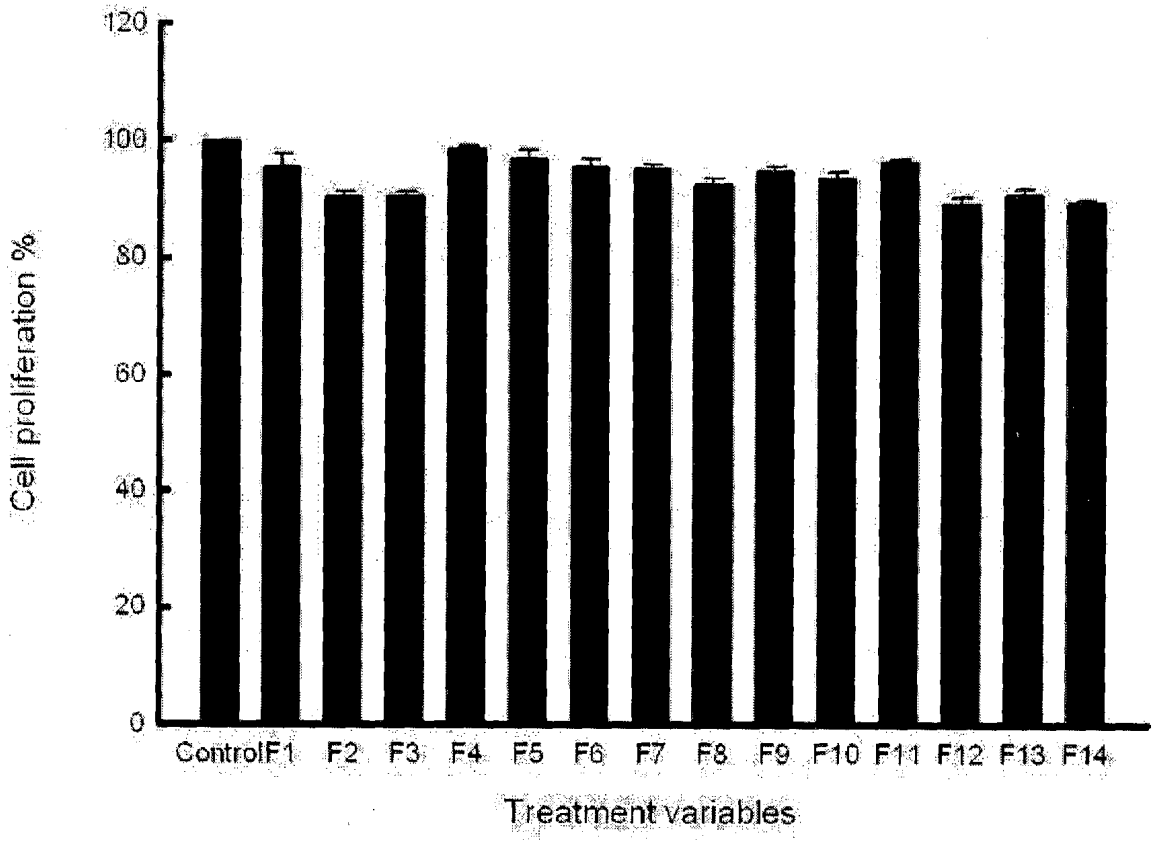
도 3


7
6
5
4
3
2
1
0
Flod change
Cont
F2
F8
F10
F12
F14
CD44
BRCA
P53
KRT-19
BAX
Gene analysed

도 4


3.00
2.00
1.00
0.00
Fold change
Cont
F2
F8
F10
F12
F14
CD44
BRCA1
P53
KRT-19
BAX
Gene analysed

도 5


120
100
80
60
40
20
0
Cell proliferation %
Control
F1
F2
F3
F4
F5
F6
F7
F8
F9
F10
F11
F12
F13
F14
Treatment variables

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/KR2013/007083

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

C07D 405/04(2006.01)i, A61K 31/41(2006.01)i, A61P 35/00(2006.01)i

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

C07D 405/04; C07D 43/02; A61K 31/517; A61K 9/48; A61K 31/41; A61P 35/00

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched
Korean Utility models and applications for Utility models: IPC as above
Japanese Utility models and applications for Utility models: IPC as above

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

eKOMPASS (KIPO internal) & Keywords: tetrazole, anti-cancer

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	US 2004-0186295 A1 (COSFORD, Nicholas D P et al.) 23 September 2004 See claims 1-26	1-9
A	US 2008-0206320 A1 (MICHELET, Jean-Francois et al.) 28 August 2008 See pages 7-9	1-9
A	WANI, M. Y. et al., "Probing the antiamoebic and cytotoxicity potency of novel tetrazole and triazine derivatives", European Journal of Medicinal Chemistry, 2012, vol. 48, pp. 313-320. Published on online, 30 December 2011 See pages 314-315	1-9

☐ Further documents are listed in the continuation of Box C. ☒ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search	Date of mailing of the international search report
13 NOVEMBER 2013 (13.11.2013)	**13 NOVEMBER 2013 (13.11.2013)**
Name and mailing address of the ISA/KR Korean Intellectual Property Office Government Complex-Daejeon, 189 Seonsa-ro, Daejeon 302-701, Republic of Korea Facsimile No. 82-42-472-7140	Authorized officer Telephone No.

Box No. II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 2 of first sheet)

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. ☒ Claims Nos.: **10**
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:

Claim 10 pertains to a method for treatment of the human body by surgery or therapy, and thus pertains to subject matter on which the International Searching Authority is not required to carry out an international search under the provisions of PCT Article 17(2)(a)(i) and PCT Rule 39.1(iv).

2. ☐ Claims Nos.:
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:

3. ☐ Claims Nos.:
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

Box No. III Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 3 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.

2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying additional fees, this Authority did not invite payment of additional fees.

3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:

4. ☐ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

Remark on Protest

☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest and, where applicable, the payment of a protest fee.

☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest but the applicable protest fee was not paid within the time limit specified in the invitation.

☐ No protest accompanied the payment of additional search fees.

International application No.
PCT/KR2013/007083

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member	Publication date
US 2004-0186295 A1	23/09/2004	AT 396186 T	15/06/2008
		AU 2002-341921 B2	31/05/2007
		AU 2002-341921 B8	14/04/2003
		AU 2002-341921 B8	31/05/2007
		AU 2002-359714 A1	30/06/2003
		AU 2002-359714 B2	21/12/2006
		AU 2002-360621 A1	09/07/2003
		AU 2002-360621 B2	25/01/2007
		AU 2002-364906 A1	30/07/2003
		AU 2002-364906 B2	16/08/2007
		AU 2002-366388 A1	30/06/2003
		AU 2002-366388 B2	18/09/2008
		AU 2003-218462 A1	23/04/2004
		AU 2003-218462 A8	23/04/2004
		CA 2462289 A1	10/04/2003
		CA 2462289 C	23/02/2010
		CA 2469813 A1	26/06/2003
		CA 2469813 C	24/02/2009
		CA 2469821 A1	26/06/2003
		CA 2469821 C	20/10/2009
		CA 2470519 A1	24/07/2004
		CA 2470519 C	17/11/2009
		CA 2470612 A1	03/07/2003
		DE 60226756 D1	03/07/2008
		EP 1434773 A2	07/07/2004
		EP 1434773 A4	12/01/2005
		EP 1434773 B1	21/05/2008
		EP 1458383 A2	22/09/2004
		EP 1458383 B1	21/11/2007
		EP 1458385 A2	22/09/2004
		EP 1458708 A2	22/09/2004
		EP 1458708 B1	26/09/2007
		EP 1458710 A1	22/09/2004
		JP 04-286146 B2	24/06/2009
		JP 04-299139 B2	22/07/2009
		JP 04-303109 B2	29/07/2009
		JP 04-357965 B2	04/11/2009
		JP 2005-508344 A	31/03/2005
		JP 2005-508344 T	31/03/2005
		JP 2005-516920 A	09/06/2005
		JP 2005-516934 A	09/06/2005
		JP 2005-516950 A	09/06/2005
		JP 2005-516969 A	09/06/2005
		US 2004-0259917 A1	23/12/2004
		US 2005-0020585 A1	27/01/2005
		US 2005-0026963 A1	03/02/2005
		US 2005-0085514 A1	21/04/2005
		US 7105548 B2	12/09/2006
		US 7253190 B2	07/08/2007

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member	Publication date
		US 7371767 B2	13/05/2008
		US 7569592 B2	04/08/2009
		WO 03-029210 A2	10/04/2003
		WO 03-029210 A3	20/11/2003
		WO 03-051315 A2	26/06/2003
		WO 03-051315 A3	23/10/2003
		WO 03-051833 A2	26/06/2003
		WO 03-051833 A3	30/10/2003
		WO 03-053922 A2	03/07/2003
		WO 03-053922 A3	16/10/2003
		WO 03-059904 A1	24/07/2003
		WO 0302-9210 A2	10/04/2003
		WO 0302-9210 A3	20/11/2003
		WO 2004-030637 A2	15/04/2004
		WO 2004-030637 A3	23/09/2004
US 2008-0206320 A1	28/08/2008	CA 2482711 A1	06/11/2003
		EP 1358868 A3	19/11/2003
		JP 04-340545 B2	07/10/2009
		JP 2005-529886 A	06/10/2005
		JP 2009-149637 A	09/07/2009
		US 2004-0052760 A1	18/03/2004
		US 2008-0249117 A1	09/10/2008
		US 7320967 B2	22/01/2008
		WO 03-090699 A1	06/11/2003

국제조사보고서

국제출원번호
PCT/KR2013/007083

A. 발명이 속하는 기술분류(국제특허분류(IPC))

C07D 405/04(2006.01)i, A61K 31/41(2006.01)i, A61P 35/00(2006.01)i

B. 조사된 분야

조사된 최소문헌(국제특허분류를 기재)
C07D 405/04; C07D 43/02; A61K 31/517; A61K 9/48; A61K 31/41; A61P 35/00

조사된 기술분야에 속하는 최소문헌 이외의 문헌
한국등록실용신안공보 및 한국공개실용신안공보: 조사된 최소문헌란에 기재된 IPC
일본등록실용신안공보 및 일본공개실용신안공보: 조사된 최소문헌란에 기재된 IPC

국제조사에 이용된 전산 데이터베이스(데이터베이스의 명칭 및 검색어(해당하는 경우))
eKOMPASS(특허청 내부 검색시스템) & 키워드: tetrazole, 항암

C. 관련 문헌

카테고리*	인용문헌명 및 관련 구절(해당하는 경우)의 기재	관련 청구항
A	US 2004-0186295 A1 (NICHOLAS D P COSFORD 외 5명) 2004.09.23 청구항 1-26항 참고	1-9
A	US 2008-0206320 A1 (MICHELET JEAN-FRANCOIS 외 4명) 2008.08.28 페이지 7-9 참고	1-9
A	Wani, M. Y. et al., `Probing the antiamoebic and cytotoxicity potency of nov el tetrazole and triazine derivatives`, European Journal of Medicinal Chemistry, 2012, vo.48, pp. 313-320. 온라인 발간일 2011.12.30 페이지 314-315 참고	1-9

☐ 추가 문헌이 C(계속)에 기재되어 있습니다.

☒ 대응특허에 관한 별지를 참조하십시오.

* 인용된 문헌의 특별 카테고리:

"A" 특별히 관련이 없는 것으로 보이는 일반적인 기술수준을 정의한 문헌

"E" 국제출원일보다 빠른 출원일 또는 우선일을 가지나 국제출원일 이후에 공개된 선출원 또는 특허 문헌

"L" 우선권 주장에 의문을 제기하는 문헌 또는 다른 인용문헌의 공개일 또는 다른 특별한 이유(이유를 명시)를 밝히기 위하여 인용된 문헌

"O" 구두 개시, 사용, 전시 또는 기타 수단을 언급하고 있는 문헌

"P" 우선일 이후에 공개되었으나 국제출원일 이전에 공개된 문헌

"T" 국제출원일 또는 우선일 후에 공개된 문헌으로, 출원과 상충하지 않으며 발명의 기초가 되는 원리나 이론을 이해하기 위해 인용된 문헌

"X" 특별한 관련이 있는 문헌. 해당 문헌 하나만으로 청구된 발명의 신규성 또는 진보성이 없는 것으로 본다.

"Y" 특별한 관련이 있는 문헌. 해당 문헌이 하나 이상의 다른 문헌과 조합하는 경우로 그 조합이 당업자에게 자명한 경우 청구된 발명은 진보성이 없는 것으로 본다.

"&" 동일한 대응특허문헌에 속하는 문헌

국제조사의 실제 완료일	국제조사보고서 발송일
2013년 11월 13일 (13.11.2013)	2013년 11월 13일 (13.11.2013)

ISA/KR의 명칭 및 우편주소
대한민국 특허청
(302-701) 대전광역시 서구 청사로 189, 4동 (둔산동, 정부대전청사)
팩스 번호 +82-42-472-7140

심사관
나영민
전화번호 +82-42-481-8466

국 제 조 사 보 고 서

국제출원번호
PCT/KR2013/007083

제2기재란 일부 청구항을 조사할 수 없는 경우의 의견(첫 번째 용지의 2의 계속)

PCT 제17조(2)(a)의 규정에 따라 다음과 같은 이유로 일부 청구항에 대하여 본 국제조사보고서가 작성되지 아니하였습니다.

1. ☒ 청구항: 10
이 청구항은 본 기관이 조사할 필요가 없는 대상에 관련됩니다. 즉,
제10항은 수술 또는 치료에 의한 사람의 치료방법에 관한 것이므로 PCT조약 제17조(2)(a)(i) 및 PCT규칙 39.1(iv)의 규정에 의하여 국제조사기관이 국제 조사할 의무가 없는 대상에 해당됩니다.

2. ☐ 청구항:
이 청구항은 유효한 국제조사를 수행할 수 없을 정도로 소정의 요건을 충족하지 아니하는 국제출원의 부분과 관련됩니다. 구체적으로는,

3. ☐ 청구항:
이 청구항은 종속청구항이나 PCT규칙 6.4(a)의 두 번째 및 세 번째 문장의 규정에 따라 작성되어 있지 않습니다.

제3기재란 발명의 단일성이 결여된 경우의 의견(첫 번째 용지의 3의 계속)

본 국제조사기관은 본 국제출원에 다음과 같이 다수의 발명이 있다고 봅니다.

1. ☐ 출원인이 모든 추가수수료를 기간 내에 납부하였으므로, 본 국제조사보고서는 모든 조사 가능한 청구항을 대상으로 합니다.

2. ☐ 추가수수료 납부를 요구하지 않고도 모든 조사 가능한 청구항을 조사할 수 있었으므로, 본 기관은 추가수수료 납부를 요구하지 아니하였습니다.

3. ☐ 출원인이 추가수수료의 일부만을 기간 내에 납부하였으므로, 본 국제조사보고서는 수수료가 납부된 청구항만을 대상으로 합니다. 구체적인 청구항은 아래와 같습니다.

4. ☐ 출원인이 기간 내에 추가수수료를 납부하지 아니하였습니다. 따라서 본 국제조사보고서는 청구범위에 처음 기재된 발명에 한정되어 있으며, 해당 청구항은 아래와 같습니다.

이의신청에 관한 기재

☐ 출원인의 이의신청 및 이의신청료 납부(해당하는 경우)와 함께 추가수수료가 납부되었습니다.

☐ 출원인의 이의신청과 함께 추가수수료가 납부되었으나 이의신청료가 보정요구서에 명시된 기간 내에 납부되지 아니하였습니다.

☐ 이의신청 없이 추가수수료가 납부되었습니다.

국제조사보고서에서 인용된 특허문헌	공개일	대응특허문헌	공개일
US 2004-0186295 A1	2004/09/23	AT 396186 T	2008/06/15
		AU 2002-341921 B2	2007/05/31
		AU 2002-341921 B8	2003/04/14
		AU 2002-341921 B8	2007/05/31
		AU 2002-359714 A1	2003/06/30
		AU 2002-359714 B2	2006/12/21
		AU 2002-360621 A1	2003/07/09
		AU 2002-360621 B2	2007/01/25
		AU 2002-364906 A1	2003/07/30
		AU 2002-364906 B2	2007/08/16
		AU 2002-366388 A1	2003/06/30
		AU 2002-366388 B2	2008/09/18
		AU 2003-218462 A1	2004/04/23
		AU 2003-218462 A8	2004/04/23
		CA 2462289 A1	2003/04/10
		CA 2462289 C	2010/02/23
		CA 2469813 A1	2003/06/26
		CA 2469813 C	2009/02/24
		CA 2469821 A1	2003/06/26
		CA 2469821 C	2009/10/20
		CA 2470519 A1	2004/07/24
		CA 2470519 C	2009/11/17
		CA 2470612 A1	2003/07/03
		DE 60226756 D1	2008/07/03
		EP 1434773 A2	2004/07/07
		EP 1434773 A4	2005/01/12
		EP 1434773 B1	2008/05/21
		EP 1458383 A2	2004/09/22
		EP 1458383 B1	2007/11/21
		EP 1458385 A2	2004/09/22
		EP 1458708 A2	2004/09/22
		EP 1458708 B1	2007/09/26
		EP 1458710 A1	2004/09/22
		JP 04-286146 B2	2009/06/24
		JP 04-299139 B2	2009/07/22
		JP 04-303109 B2	2009/07/29
		JP 04-357965 B2	2009/11/04
		JP 2005-508344 A	2005/03/31
		JP 2005-508344 T	2005/03/31
		JP 2005-516920 A	2005/06/09
		JP 2005-516934 A	2005/06/09
		JP 2005-516950 A	2005/06/09
		JP 2005-516969 A	2005/06/09
		US 2004-0259917 A1	2004/12/23
		US 2005-0020585 A1	2005/01/27
		US 2005-0026963 A1	2005/02/03
		US 2005-0085514 A1	2005/04/21
		US 7105548 B2	2006/09/12
		US 7253190 B2	2007/08/07

국제조사보고서에서 인용된 특허문헌	공개일	대응특허문헌	공개일
		US 7371767 B2	2008/05/13
		US 7569592 B2	2009/08/04
		WO 03-029210 A2	2003/04/10
		WO 03-029210 A3	2003/11/20
		WO 03-051315 A2	2003/06/26
		WO 03-051315 A3	2003/10/23
		WO 03-051833 A2	2003/06/26
		WO 03-051833 A3	2003/10/30
		WO 03-053922 A2	2003/07/03
		WO 03-053922 A3	2003/10/16
		WO 03-059904 A1	2003/07/24
		WO 0302-9210 A2	2003/04/10
		WO 0302-9210 A3	2003/11/20
		WO 2004-030637 A2	2004/04/15
		WO 2004-030637 A3	2004/09/23
US 2008-0206320 A1	2008/08/28	CA 2482711 A1	2003/11/06
		EP 1358868 A3	2003/11/19
		JP 04-340545 B2	2009/10/07
		JP 2005-529886 A	2005/10/06
		JP 2009-149637 A	2009/07/09
		US 2004-0052760 A1	2004/03/18
		US 2008-0249117 A1	2008/10/09
		US 7320967 B2	2008/01/22
		WO 03-090699 A1	2003/11/06