

(19) 대한민국특허청(KR)  
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2022-0051563

(43) 공개일자 2022년04월26일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)

*A61K 31/4184* (2006.01) *A61P 35/00* (2006.01)

(52) CPC특허분류

*A61K 31/4184* (2013.01)*A61P 35/00* (2018.01)

(21) 출원번호 10-2020-0135113

(22) 출원일자 2020년10월19일

심사청구일자 2020년10월19일

(71) 출원인

고려대학교 산학협력단

서울특별시 성북구 안암로 145, 고려대학교 (안암동5가)

(72) 발명자

서재홍

경기도 과천시 관문로 166, 1018동 303호 (중앙동, 주공아파트)

남기달

서울특별시 동대문구 고산자로 534, 107동 803호 (제기동, 한신아파트)

(뒷면에 계속)

(74) 대리인

특허법인 무한

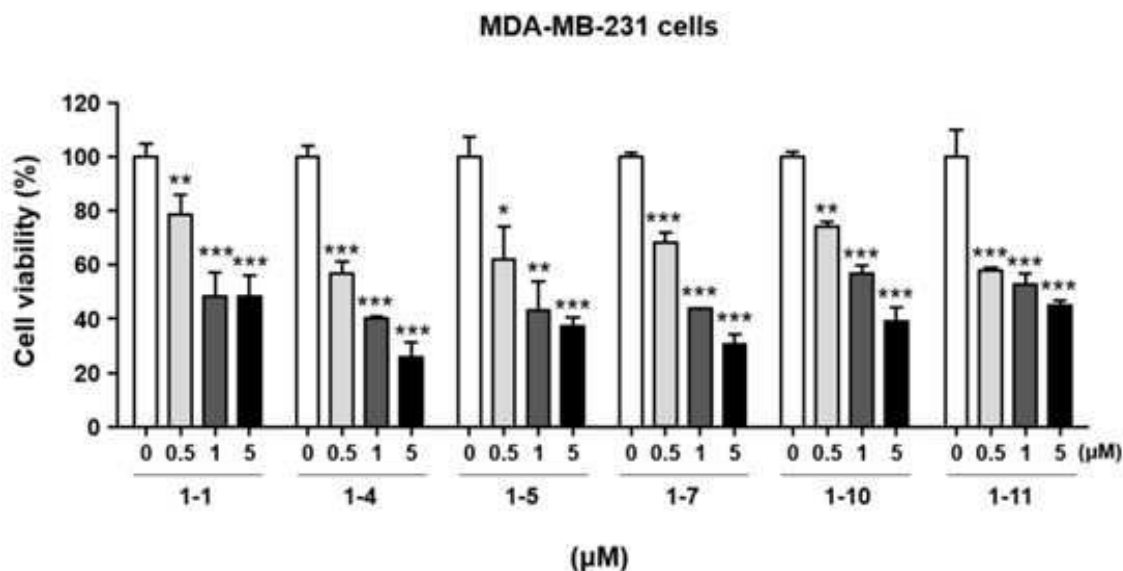
전체 청구항 수 : 총 9 항

(54) 발명의 명칭 티오세미카바존 유도체 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염 및 이의 용도

## (57) 요약

본 발명은 티오세미카바존(thiosemicarbazone) 유도체 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염 및 상기 유도체를 유효성분으로 포함하는 암 예방 또는 치료용 조성물에 관한 것으로서, 본 발명의 티오세미카바존 유도체는 암 세포에서 활성화되어 튜불린 중합(tubulin polymerization)을 저해하여, 개체에 투여 시 암 세포의 세포 주기를 차단하고 세포사멸을 유도함으로써 세포 독성을 나타내는바, 암의 예방 또는 치료, 바람직하게는 삼중음성유방암의 예방 또는 치료에 사용될 수 있다.

## 대표도 - 도1



(72) 발명자

**김지영**

서울특별시 구로구 가마산로20라길 28-8, 204호 (구로동)

**김윤재**

경기도 과천시 한빛로 11, 308동 1502호 (야당동, 한빛마을3단지 자유로아이파크)

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

|             |                                       |
|-------------|---------------------------------------|
| 과제고유번호      | 1711103492                            |
| 과제번호        | 2019M3E5D1A01068998                   |
| 부처명         | 과학기술정보통신부, 보건복지부                      |
| 과제관리(전문)기관명 | 한국연구재단                                |
| 연구사업명       | 선도혁신형의사과학자공동연구                        |
| 연구과제명       | 난치성 삼중음성유방암의 신규 표적치료제 상용화를 위한 프로드럭 개발 |
| 기 여 율       | 1/2                                   |
| 과제수행기관명     | 고려대학교                                 |
| 연구기간        | 2019.07.01 ~ 2022.12.31               |

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

|             |                               |
|-------------|-------------------------------|
| 과제고유번호      | 1465031662                    |
| 과제번호        | HR20C0021                     |
| 부처명         | 보건복지부                         |
| 과제관리(전문)기관명 | 한국보건산업진흥원                     |
| 연구사업명       | 연구중심병원육성R&D                   |
| 연구과제명       | 인공지능 기반 차세대 항암신약 개발 및 플랫폼 고도화 |
| 기 여 율       | 1/2                           |
| 과제수행기관명     | 고려대학교 구로병원                    |
| 연구기간        | 2020.07.16 ~ 2020.12.31       |

---

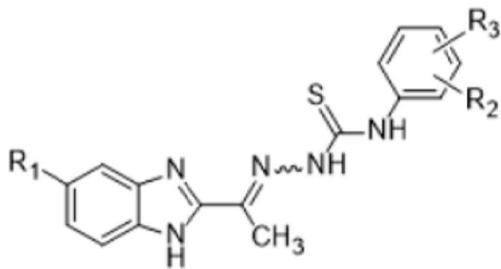
## 명세서

### 청구범위

#### 청구항 1

하기 [화학식 1]로 표시되는 티오세미카바존 유도체 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염:

[화학식 1]



상기 화학식 1에서,

R<sub>1</sub>은 -C(=O)-R<sub>4</sub>, -O-R<sub>4</sub>, 또는 -S-R<sub>4</sub>이고,

R<sub>2</sub> 및 R<sub>3</sub>는 각각 독립적으로 C<sub>1</sub> 내지 C<sub>12</sub>의 사슬형 또는 고리형 알킬기, C<sub>1</sub> 내지 C<sub>12</sub>의 알콕시기, 할로젠기, 또는 수소이며,

R<sub>4</sub>는 C<sub>1</sub> 내지 C<sub>12</sub>의 사슬형 또는 고리형 알킬기, 또는 치환 또는 비치환된 C<sub>6</sub> 내지 C<sub>12</sub>의 아릴기임.

#### 청구항 2

제1항에 있어서,

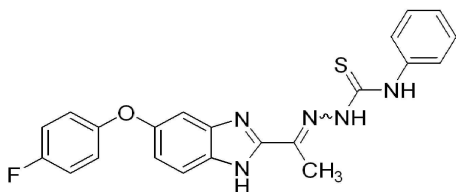
상기 [화학식 1]에서, 치환된 아릴기는 C<sub>1</sub> 내지 C<sub>12</sub>의 사슬형 또는 고리형 알킬기, 또는 할로젠으로 치환된 것을 특징으로 하는 티오세미카바존 유도체 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염.

#### 청구항 3

제1항에 있어서,

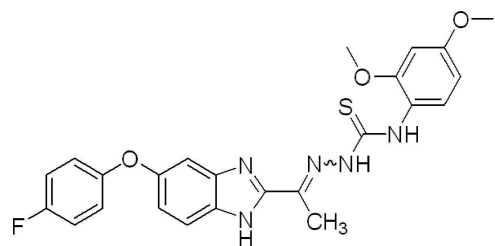
상기 [화학식 1]로 표시되는 티오세미카바존 유도체는 하기 화합물들로 이루어진 군으로부터 선택되는 어느 하나인 것을 특징으로 하는 티오세미카바존 유도체 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염:

[화학식 1-1]

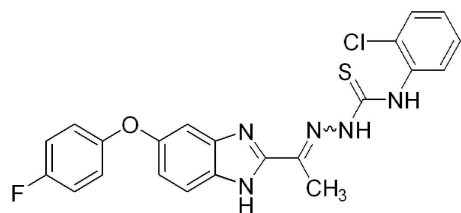




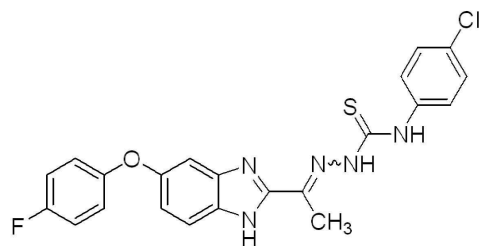
[화학식 1-8]



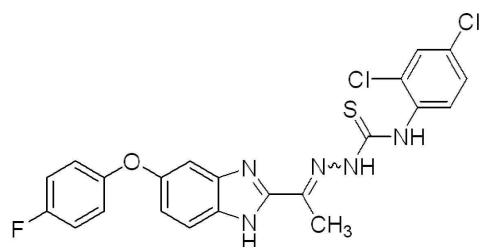
[화학식 1-9]



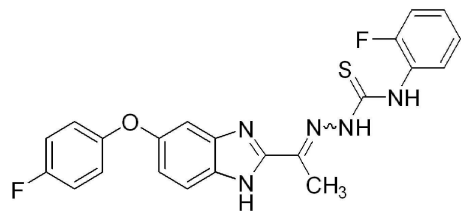
[화학식 1-10]



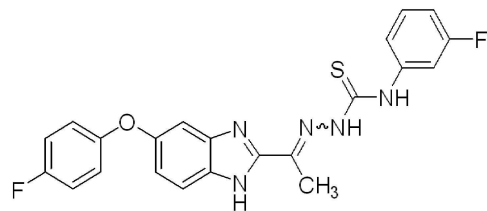
[화학식 1-11]



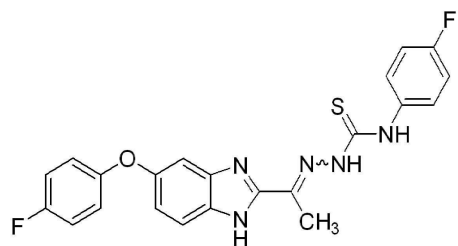
[화학식 1-12]



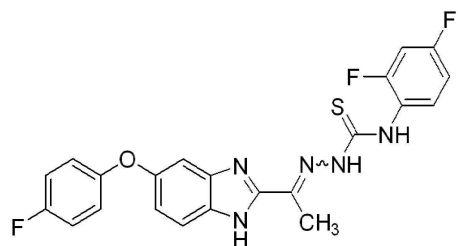
[화학식 1-13]



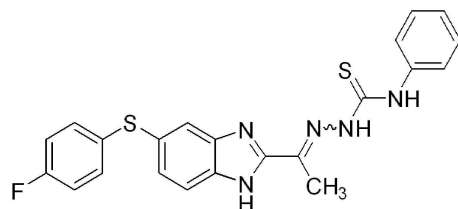
[화학식 1-14]



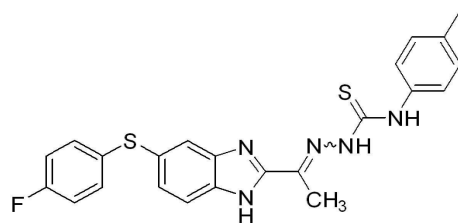
[화학식 1-15]



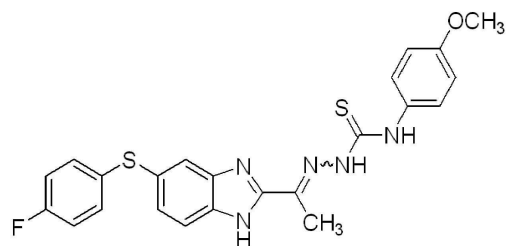
[화학식 1-16]



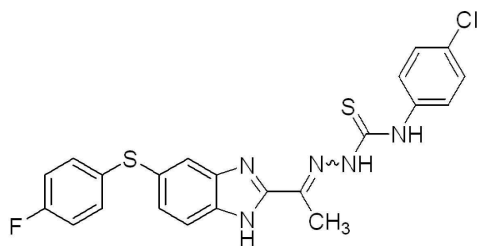
[화학식 1-17]



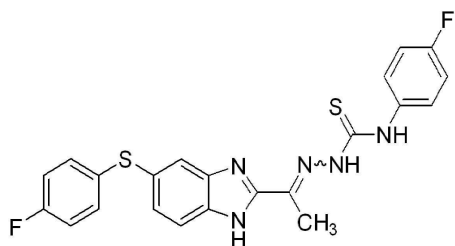
[화학식 1-18]



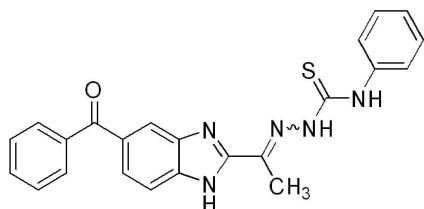
[화학식 1-19]



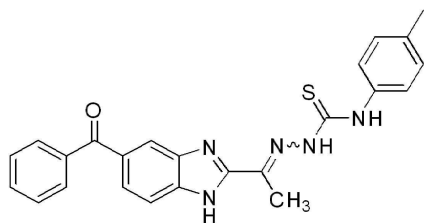
[화학식 1-20]



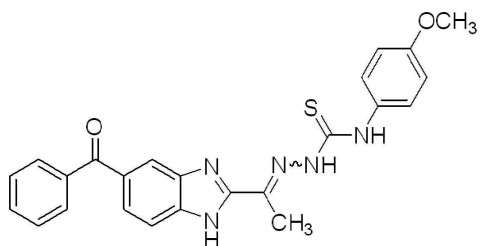
[화학식 1-21]



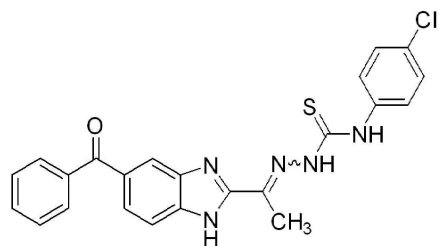
[화학식 1-22]



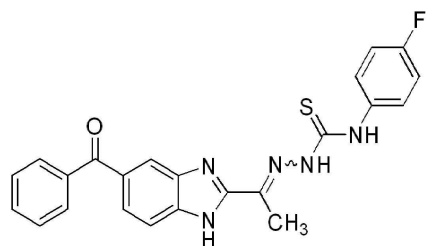
[화학식 1-23]



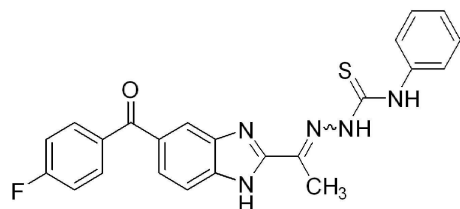
[화학식 1-24]



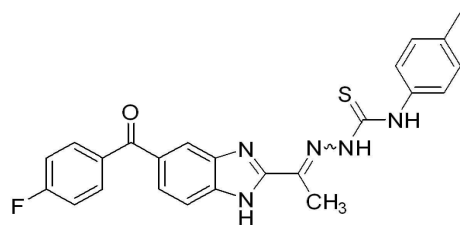
[화학식 1-25]



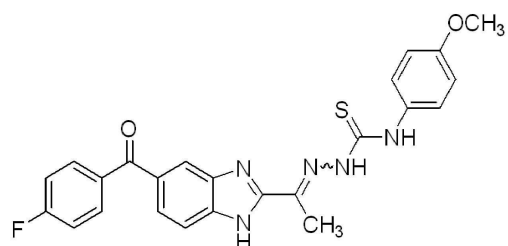
[화학식 1-26]



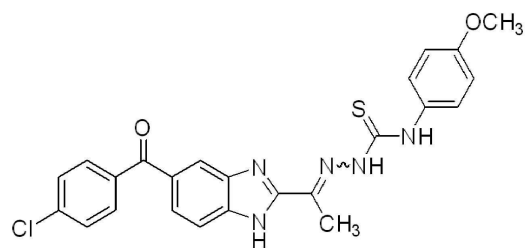
[화학식 1-27]



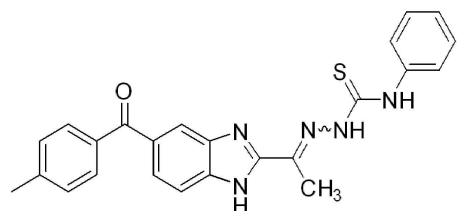
[화학식 1-28]



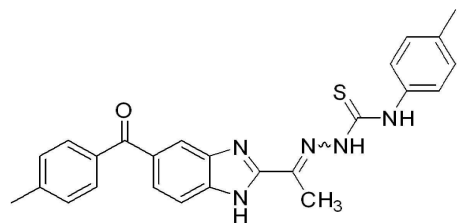
[화학식 1-29]



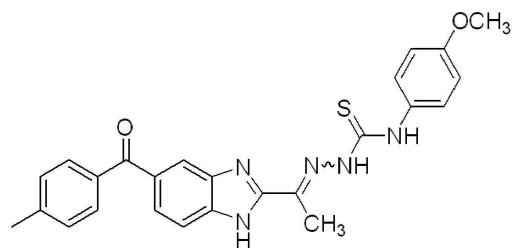
[화학식 1-30]



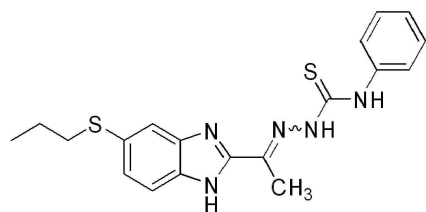
[화학식 1-31]



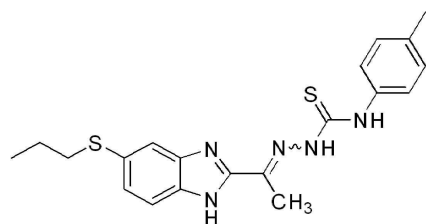
[화학식 1-32]



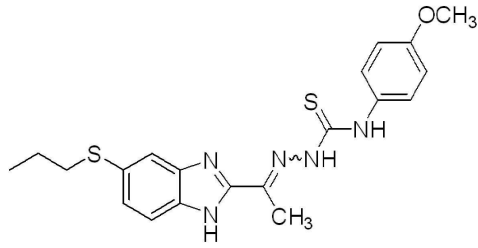
[화학식 1-33]



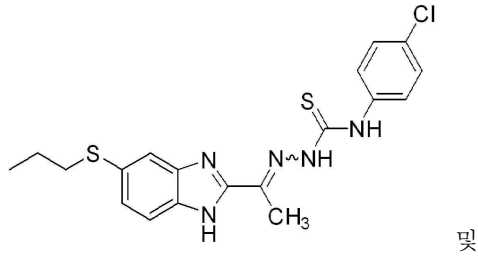
[화학식 1-34]



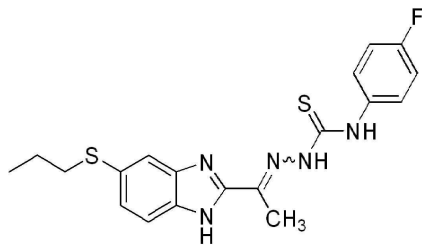
[화학식 1-35]



[화학식 1-36]



[화학식 1-37]

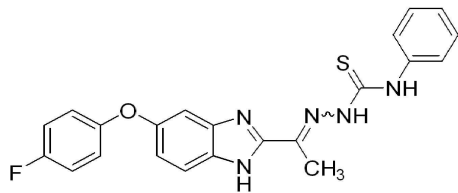


#### 청구항 4

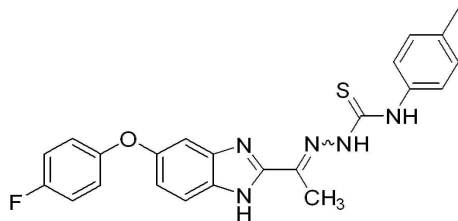
제1항에 있어서,

상기 [화학식 1]로 표시되는 티오세미카바존 유도체는 하기 화합물들로 이루어진 군에서 선택되는 어느 하나인 것을 특징으로 하는 티오세미카바존 유도체 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염:

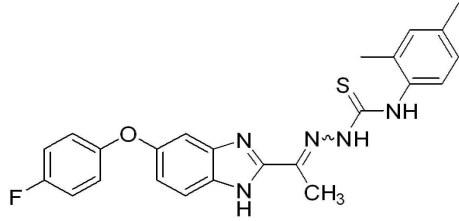
[화학식 1-1]



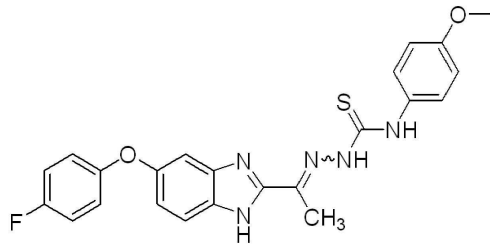
[화학식 1-4]



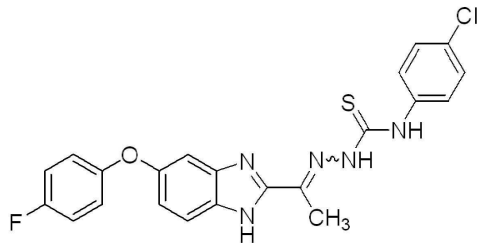
[화학식 1-5]



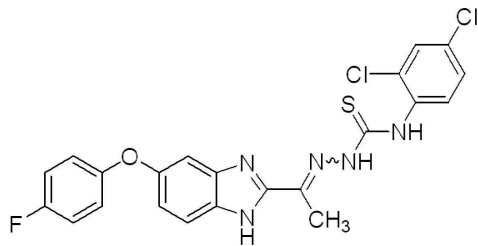
[화학식 1-7]



[화학식 1-10]

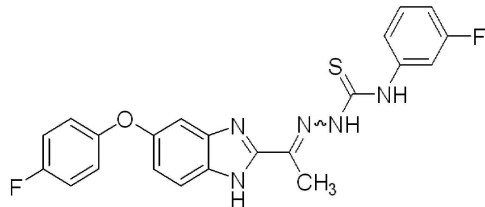


[화학식 1-11]



및

[화학식 1-13]



## 청구항 5

제1항에 있어서,

상기 티오세미카바존 유도체는 튜불린 중합(tubulin polymerization)을 저해하는 것을 특징으로 하는 티오세미카바존 유도체 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염.

## 청구항 6

제1항 내지 제5항 중 어느 한 항에 따른 티오세미카바존 유도체, 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 유효성분으로 포함하는 포함하는, 암 예방 또는 치료용 약학적 조성물.

## 청구항 7

제6항에 있어서,

상기 약학적 조성물은 암 세포 주기를 중지(cell cycle arrest)시켜 세포사멸(apoptosis)을 유도하는 것을 특징으로 하는, 암 예방 또는 치료용 약학적 조성물.

## 청구항 8

제6항에 있어서,

상기 암은 유방암인 것을 특징으로 하는 암 예방 또는 치료용 약학적 조성물.

## 청구항 9

제6항에 있어서,

상기 암은 삼중음성유방암인 것을 특징으로 하는 암 예방 또는 치료용 약학적 조성물.

## 발명의 설명

### 기술 분야

[0001] 본 발명은 티오세미카바존 유도체 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염 및 이의 용도 등에 관한 것이다.

### 배경 기술

[0003] 삼중음성유방암(triple-negative breast cancer; ER-, PR-, HER2-) 환자는 전체 유방암 환자의 10~15 %를 차지하고, 호르몬 수용체(ER (estrogen receptor), PR(progesterone receptor)) 및 HER2 단백질이 결여되어 있어, 호르몬 치료법이나 HER2 표적치료제의 혜택을 받지 못한다. 현재 삼중음성유방암의 표준치료는 일반적인 세포독성항암제(Taxane계 또는 Anthracycline계)에 전적으로 의존하고 있는 실정이다. 확립된 표적 치료제가 없기 때문에 다른 아형은 유방암에 비해 치료 전략이 다양하지 못하다. 더욱 심각한 것은 수술이나 항암치료 후, 대부분의 환자에서 2~3년 이내에 재발이 나타나고, 폐, 간, 뇌 및 뼈 등의 타 기관으로 전이가 쉽게 유발되어 환자의 생존율 감소에 영향을 미친다.

[0004] 3기(stage-III)로 진단받은 환자의 5년 이내 생존율(5-years overall survival)은 55 % 이하이며, 이미 암전이가 진행된 환자(advanced-stage)는 5 년 이내 생존율이 30 % 이하로 매우 낮다. 이들 환자의 대부분은 궁극적으로 수년 내에 모두 사망에 이르게 되는 매우 심각한 질병이다.

[0005] 미세소관(microtubule)은 세포 골격의 주요 구성요소로서,  $\alpha$  소단위체와  $\beta$  소단위체로 이루어진 튜불린(tubulin) 이형중합체로 구성된다. 미세소관은 세포 내 수송, 극성 유지, 세포 내 신호 전달, 세포 이주 및 증식 등 다양한 세포의 작용을 수행한다. 세포의 유사분열 중에는 방추사를 형성하여 염색체가 세포 중심에 배열된 후 양극으로 분리되는 과정을 수행한다. 방추사가 제대로 기능하지 못하면 세포 분열이 억제되어 세포자살(apoptosis)이 일어나게 되므로, 항암제의 타겟으로 주목받고 있다.

[0006] 미세소관을 타겟으로 하는 약물들은 크게 미세소관을 안정시키는 역할을 하는 약물과 미세소관을 불안정하게 만드는 약물의 두 가지 그룹으로 나뉜다. 첫째, 미세소관 안정제에는 taxane, paclitaxel(Taxol), decetaxel 등

이 있으며, 미세소관이 탈중합되는 것을 막고 중합을 강화시키는 작용을 한다. 대부분의 미세소관 안정 물질들은 taxane- 결합 부위 또는  $\beta$  튜불린의 overlapping site에 결합한다. 둘째, 미세소관 탈안정제에는 콜키친(colchicine), vinca alkaloid 등이 있는데, 콜키친 결합 부위나 vinca 결합 부위에 결합한다. 미세소관 중합체에 영향을 주는 약물보다 이들 미세소관 자체를 타겟으로 하는 약물이 더 낮은 농도에서 효과를 보이며, 결과적으로 세포 유사분열을 저해한다는 점은 동일하다. 따라서, 항암제로서 잠재적인 튜불린 중합 저해제를 개발하는 것이 요구되는 실정이다.

[0007] 한편, 플루벤다졸(flubendazole), 알벤다졸(Albendazole)은 tubulin polymerization inhibitor로서 구충제로 시판된 약품이나, cell cycle arrest에 의한 세포사멸 확인 가능하며, 느리게 자라는 암세포에도 사멸 효과가 확인되어 다양한 암의 치료제로서 주목받고 있다. 다만 물에 대한 낮은 용해도에 의해 체내 흡수가 어려운 한계를 보이고 있고, 다량 섭취시 간효소 수치 상승과 같은 부작용이 나타나, 새로운 구조의 유도체의 개발이 요구되고 있다.

[0008] 이에, 본 발명자들은 신규한 티오세미카바존 유도체 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염이 튜불린 중합 저해제로서 암 세포의 세포주기를 중지시켜(cell cycle arrest) 세포 사멸(apoptosis)을 유도한다는 점을 확인하고, 본 발명을 완성하게 되었다.

## 선행기술문헌

### 비특허문헌

[0010] (비특허문헌 0001) Indian Journal of Chemistry, Vol. 52B, April 2013, pp 535-545

## 발명의 내용

### 해결하려는 과제

[0011] 본 발명이 이루고자 하는 기술적 과제는 티오세미카바존 유도체 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 제공하는 것이다.

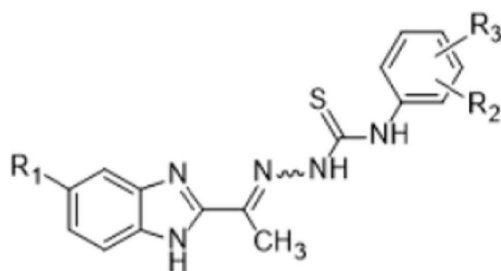
[0012] 또한, 본 발명의 다른 목적은 상기 티오세미카바존 유도체 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 유효성분으로 포함하는 암 예방 또는 치료용 약학적 조성물을 제공하는 것이다.

[0013] 그러나 본 발명이 이루고자 하는 기술적 과제는 이상에서 언급한 과제에 제한되지 않으며, 언급되지 않은 또 다른 과제들은 아래의 기재로부터 당해 기술분야의 통상의 기술자에게 명확하게 이해될 수 있을 것이다.

### 과제의 해결 수단

[0015] 상기 과제를 해결하기 위하여, 본 발명은 하기 [화학식 1]로 표시되는 티오세미카바존 유도체 또는 이의 라세미체, 이성질체, 용매화물 또는 약학적으로 허용가능한 염을 제공한다:

[0016] [화학식 1]



[0017]

[0018] 상기 화학식 1에서,

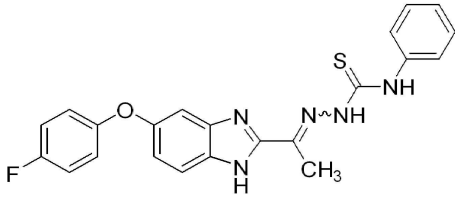
[0019] R<sub>1</sub>은 R<sub>4</sub>로 치환된 케톤기, -O-R<sub>4</sub>, 또는 -S-R<sub>4</sub>이고, R<sub>2</sub> 및 R<sub>3</sub>는 각각 독립적으로 C<sub>1</sub> 내지 C<sub>12</sub>의 사슬형 또는 고리형 알킬기, C<sub>1</sub> 내지 C<sub>12</sub>의 알콕시기, 할로젠기, 또는 수소이며,

[0020] R<sub>4</sub>는 C<sub>1</sub> 내지 C<sub>12</sub>의 사슬형 또는 고리형 알킬기, 또는 치환 또는 비치환된 C<sub>6</sub> 내지 C<sub>20</sub>의 아릴기임.

[0021] 본 발명의 일 구현예로서, 상기 [화학식 1]에서, 치환된 아릴기는 C<sub>1</sub> 내지 C<sub>12</sub>의 사슬형 또는 고리형 알킬기 또는 할로젠으로 치환된 것일 수 있다.

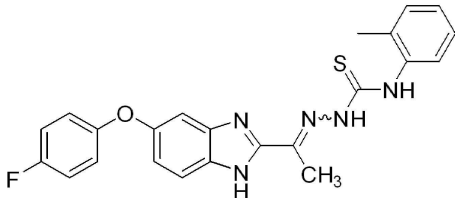
[0022] 본 발명의 다른 구현예로서, 상기 [화학식 1]로 표시되는 티오세미카바존 유도체는 하기 화합물들로 이루어진 군으로부터 선택되는 어느 하나인 것일 수 있다:

[0023] [화학식 1-1]



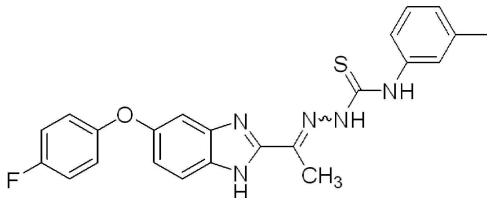
[0024]

[0025] [화학식 1-2]



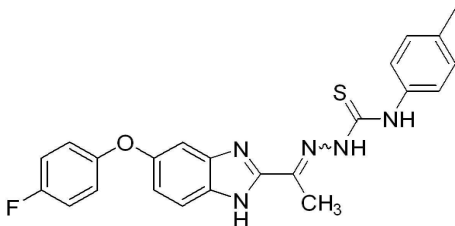
[0026]

[0027] [화학식 1-3]



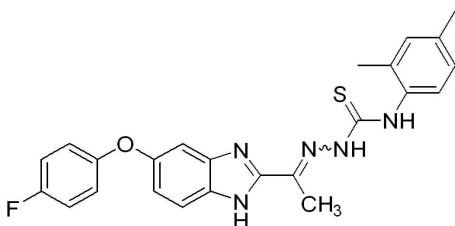
[0028]

[0029] [화학식 1-4]



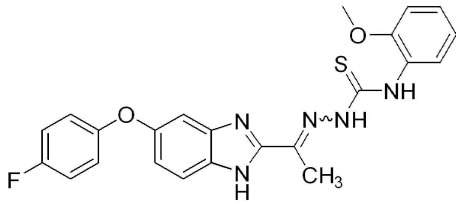
[0030]

[0031] [화학식 1-5]



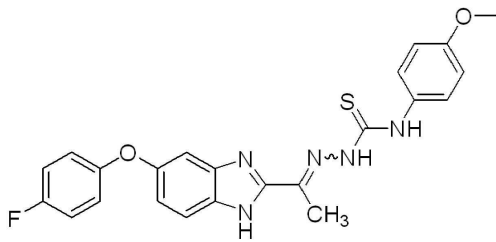
[0032]

[0033] [화학식 1-6]



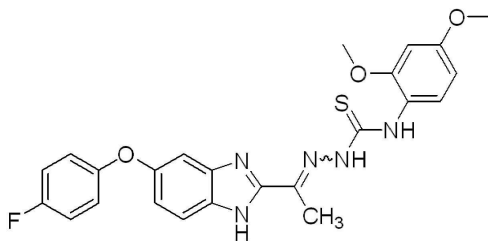
[0034]

[0035] [화학식 1-7]



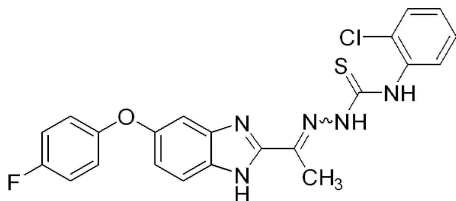
[0036]

[0037] [화학식 1-8]



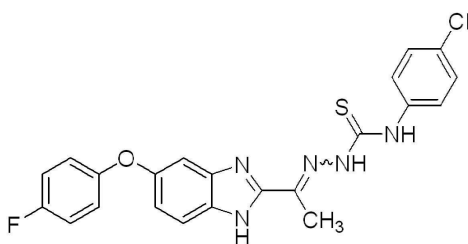
[0038]

[0039] [화학식 1-9]



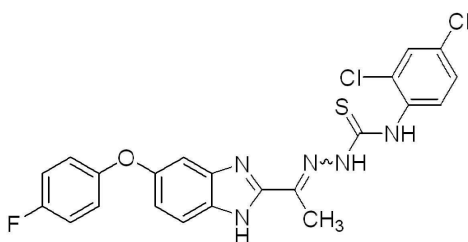
[0040]

[0041] [화학식 1-10]



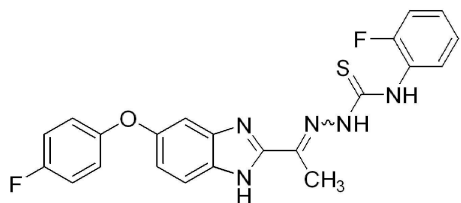
[0042]

[0043] [화학식 1-11]



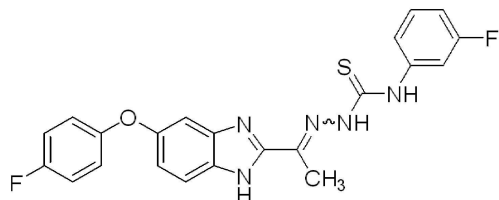
[0044]

[0045] [화학식 1-12]



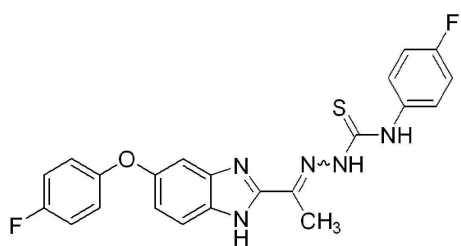
[0046]

[0047] [화학식 1-13]



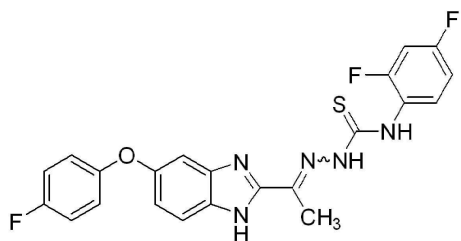
[0048]

[0049] [화학식 1-14]



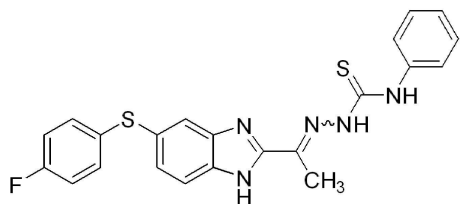
[0050]

[0051] [화학식 1-15]



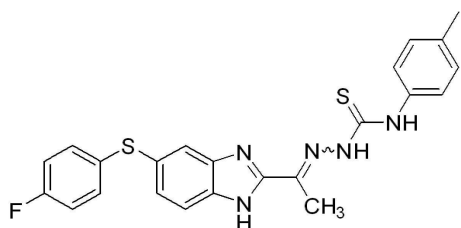
[0052]

[0053] [화학식 1-16]



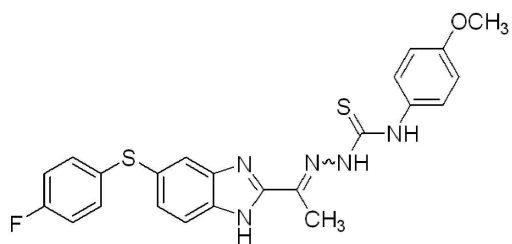
[0054]

[0055] [화학식 1-17]



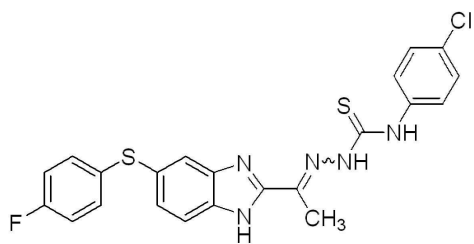
[0056]

[0057] [화학식 1-18]



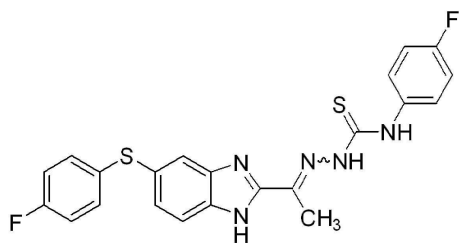
[0058]

[0059] [화학식 1-19]



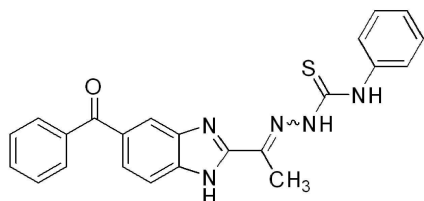
[0060]

[0061] [화학식 1-20]



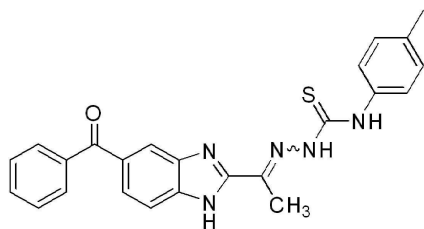
[0062]

[0063] [화학식 1-21]



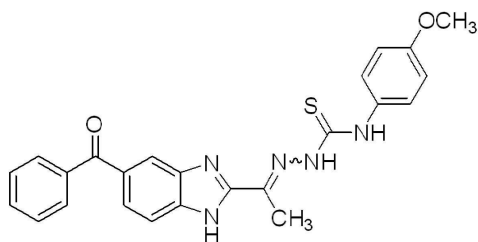
[0064]

[0065] [화학식 1-22]



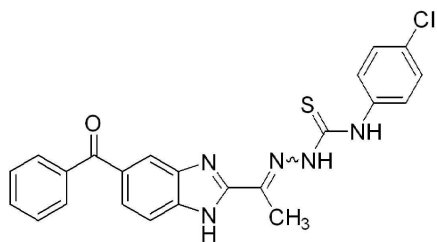
[0066]

[0067] [화학식 1-23]



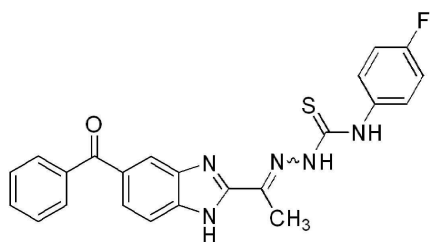
[0068]

[0069] [화학식 1-24]



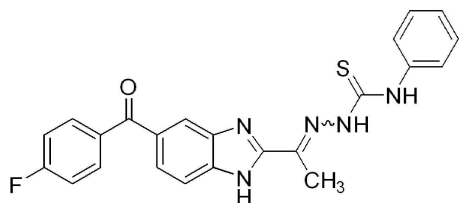
[0070]

[0071] [화학식 1-25]



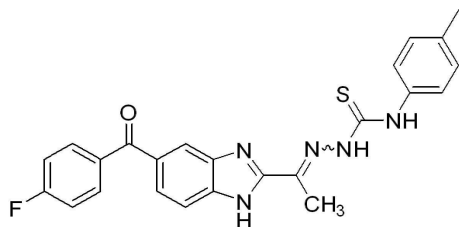
[0072]

[0073] [화학식 1-26]



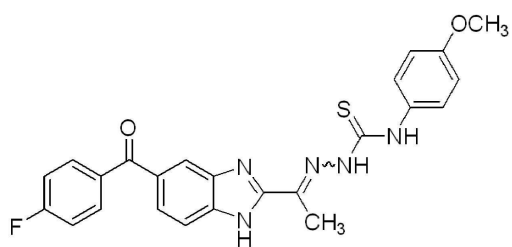
[0074]

[0075] [화학식 1-27]



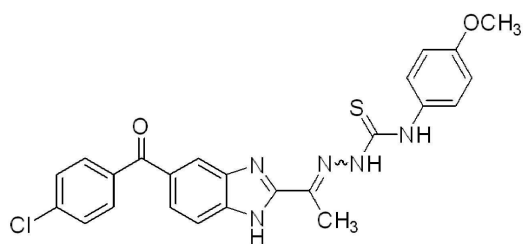
[0076]

[0077] [화학식 1-28]



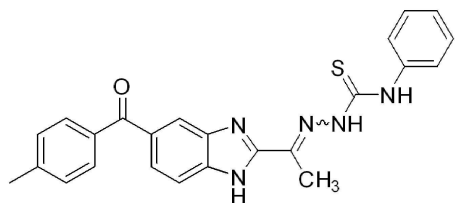
[0078]

[0079] [화학식 1-29]



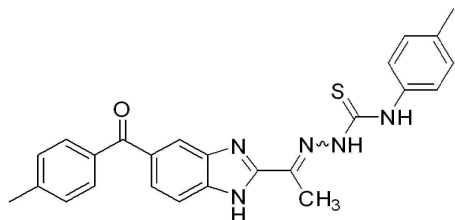
[0080]

[0081] [화학식 1-30]



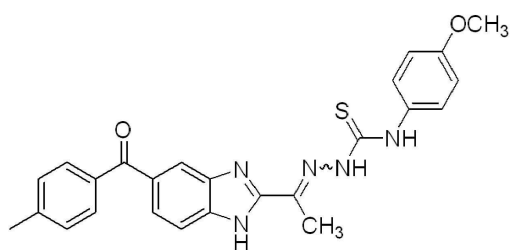
[0082]

[0083] [화학식 1-31]



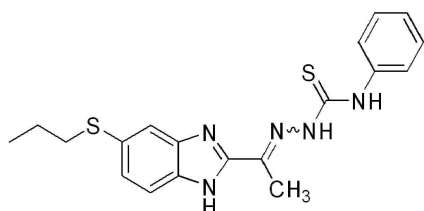
[0084]

[0085] [화학식 1-32]



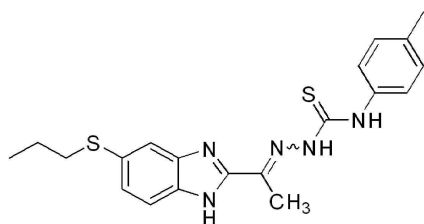
[0086]

[0087] [화학식 1-33]



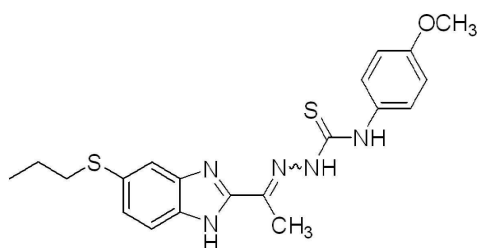
[0088]

[0089] [화학식 1-34]



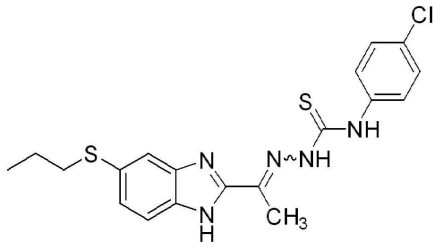
[0090]

[0091] [화학식 1-35]



[0092]

[0093] [화학식 1-36]

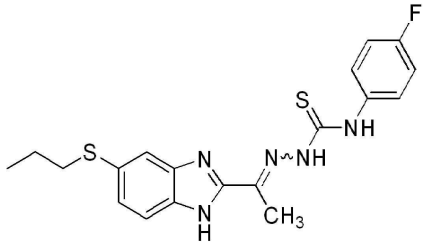


[0094]

및

[0095]

[화학식 1-37]



[0096]

[0097]

본 발명의 또 다른 구현예로서, 상기 티오세미카바존 유도체는 튜불린 중합(tubulin polymerization)을 저해하는 것일 수 있다.

[0098]

또한, 본 발명은 상기 티오세미카바존 유도체 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 유효성분으로 하는 암 예방 또는 치료용 조성물을 제공한다.

[0099]

또한, 본 발명은 상기 티오세미카바존 유도체 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 개체에 투여하는 단계를 포함하는 암의 예방 또는 치료 방법을 제공한다.

[0100]

또한, 본 발명은 암의 예방 또는 치료용 약제의 제조를 위한 상기 티오세미카바존 유도체 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염의 용도를 제공한다.

[0101]

또한, 본 발명은 상기 티오세미카바존 유도체 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 개체에 투여하는 단계를 포함하는 암의 진단 방법을 제공한다.

[0102]

또한, 본 발명은 암 진단용 약제의 제조를 위한 상기 티오세미카바존 유도체 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염의 용도를 제공한다.

[0103]

본 발명의 일 구현예로서, 상기 약학적 조성물은 암 세포의 세포주기를 중지(cell cycle arrest)시켜 세포사멸(apoptosis)을 유도하는 것일 수 있다.

[0104]

본 발명의 다른 구현예로서, 상기 암은 유방암일 수 있다.

### 발명의 효과

[0106]

본 발명은 티오세미카바존(thiosemicarbazone) 유도체 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염 및 상기 유도체를 유효성분으로 포함하는 암 예방 또는 치료용 조성물 등에 관한 것으로서, 본 발명의 티오세미카바존 유도체는 암 세포에서 활성화되어 튜불린 중합(tubulin polymerization)을 저해하며, 개체에 투여 시 암 세포 주기를 차단하고 세포사멸을 유도함으로써 세포 독성을 나타내는바, 암의 예방 또는 치료, 바람직하게는 삼중음성유방암의 예방 또는 치료에 사용될 수 있다.

### 도면의 간단한 설명

[0108]

도 1은 삼중음성유방암(triple-negative breast cancer, TNBC) 세포주인 MDA-MB-231에서 화학식 1-1, 1-4, 1-5, 1-7, 1-10 및 1-11의 티오세미카바존 유도체를 처리한 후 세포 생존율을 확인한 결과를 나타낸 것이다.

도 2는 HER2 양성 유방암 세포주인 JIMT-1에서 화학식 1-1, 1-4, 1-5, 1-7, 1-10 및 1-13의 티오세미카바존 유도체를 처리한 후 세포 생존율을 확인한 결과를 나타낸 것이다.

도 3은 JIMT-1, MDA-MB-231, HEK293, MCF10A 세포주에서 화학식 1-1의 티오세미카바존 유도체의 용량에 따른 세포 생존율을 확인한 결과를 나타낸 것이다.

도 4는 JIMT-1, MDA-MB-231, HEK293 세포주에서 화학식 1-7의 티오세미카바존 유도체의 용량에 따른 세포 생존율을 확인한 결과를 나타낸 것이다.

도 5는 MDA-MB-231 세포주에서 종래 공지된 티오카바존 화합물과 본 발명의 화학식 1-1, 1-4, 1-7 및 1-10의 용량에 따른 세포 생존율을 확인한 결과를 나타낸 것이다.

도 6은 JIMT-1 세포주에서 종래 공지된 티오카바존 화합물과 본 발명의 화학식 1-1, 1-4, 1-7 및 1-10의 용량에 따른 세포 생존율을 확인한 결과를 나타낸 것이다.

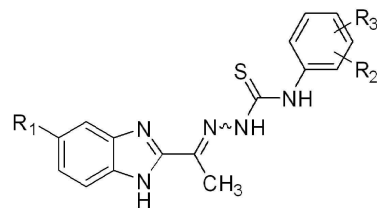
### 발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0109] 본 발명자들은 티오세미카바존 유도체 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염에 대해 예의 연구한 결과, 상기 유도체의 항암 활성을 확인하여 본 발명을 완성하였다.

[0110] 보다 구체적으로 상기 티오세미카바존 유도체가 암 세포에서 활성화되어 튜블린 중합을 저해하여 암 세포 주기를 차단하고 세포사멸을 유도함으로써 세포 독성을 나타낸다는 점을 확인하였다.

[0111] 상기 결과로부터, 본 발명은 하기 [화학식 1]로 표시되는 티오세미카바존 유도체 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 제공할 수 있다.

[0112] [화학식 1]



[0113]

상기 화학식 1에서,

[0114]

[0115] R<sub>1</sub>은 -C(=O)-R<sub>4</sub>, -O-R<sub>4</sub>, 또는 -S-R<sub>4</sub>이고,

[0115]

[0116] R<sub>2</sub> 및 R<sub>3</sub>는 각각 독립적으로 C<sub>1</sub> 내지 C<sub>12</sub>의 사슬형 또는 고리형 알킬기, C<sub>1</sub> 내지 C<sub>12</sub>의 알콕시기, 할로젠기, 또는 수소이며,

[0116]

[0117] R<sub>4</sub>는 C<sub>1</sub> 내지 C<sub>12</sub>의 사슬형 또는 고리형 알킬기, 또는 치환 또는 비치환된 C<sub>6</sub> 내지 C<sub>20</sub>의 아릴기임.

[0117]

[0118] 본 발명에서, 용어 "치환"은 화합물의 분자 중에 포함되는 원자 또는 원자단을 다른 원자 또는 원자단으로 바꾸어 놓는 반응이다.

[0118]

[0119] 본 발명에서, 용어 "사슬형"이란, 사슬형 구조가 있는 분자를 일컬으며, 사슬형 구조는 탄소 원자가 사슬 모양으로 이어진 화학구조로, 곧은 사슬 모양의 것과 분지한 모양의 것이 있다.

[0119]

[0120] 본 발명에서, 용어 "고리형"이란, 유기 화합물의 골격에서 연속된 양단이 이어져 고리모양이 된 구조를 말한다.

[0120]

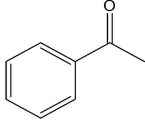
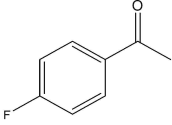
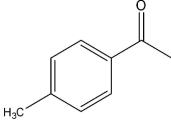
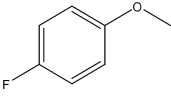
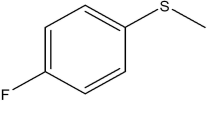
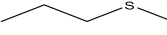
[0121] 본 발명에서, 용어 "사슬형 또는 고리형 알킬기"는 1 내지 12개의 탄소 원자를 갖는, 오직 탄소와 수소 원자로만 이루어진 1가 선형 또는 분지형 또는 고리형 포화된 탄화수소 잔기를 의미한다. 이러한 알킬기의 예로는 메틸, 에틸, 프로필, 아이소프로필, 부틸, 아이소부틸, 2-부틸, 3-부틸, 펜틸, n-헥실, 사이클로부틸기, 사이클로펜틸기, 사이클로헥실기 등을 포함하나 이들로 한정되지 않는다.

[0121]

[0122] 본 발명에서, 용어 "아릴기"는 단일링(예를 들면 페닐) 또는 복수의 축합링(예를 들면 나프틸)을 갖는 탄소원자수 6 내지 20의 불포화 방향족 고리화합물을 의미한다. 이러한 아릴의 예로는 페닐, 나프틸 등을 포함하나 이들로 한정되지 않는다. 본 발명에서 치환된 아릴기는 C<sub>1</sub> 내지 C<sub>12</sub>의 사슬형 또는 고리형 알킬기 또는 할로젠으로 치환된 것일 수 있다. 상기 할로젠은 플루오린(F), 클로라이드(Cl), 브로민(Br), 또는 아이오딘(I) 등일 수 있다.

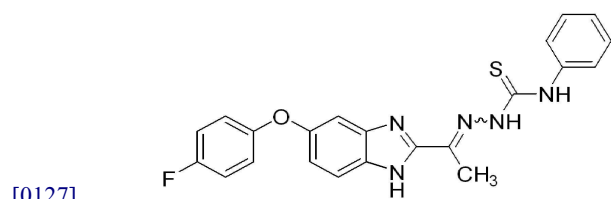
[0122]

[0123] 본 발명에서 용어 "알콕시기"는 알킬기에 산소원자가 결합하여 구성된 원자단  $C_nH_{2n+1}O$ -를 의미하는 것으로, 이러한 알콕시기의 예로는 메톡시, 에톡시, 프로폭시, 또는 프톡시 등을 포함하나 이들로 한정되지 않는다.

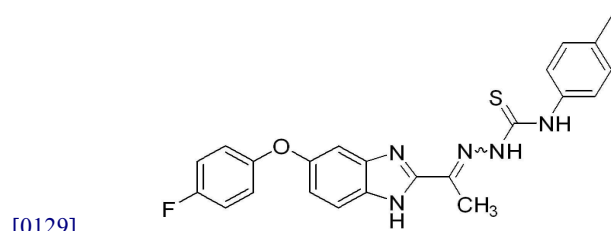
[0124] 본 발명에 있어서, 상기  $R_1$ 은 보다 구체적으로, , , , , , 또는  일 수 있다.

[0125] 본 발명의 바람직한 구현예로서, 상기 화학식 1로 표시되는 화합물은, 하기 화합물들로 이루어지는 군으로부터 선택되는 1종 이상인 것이 바람직하다:

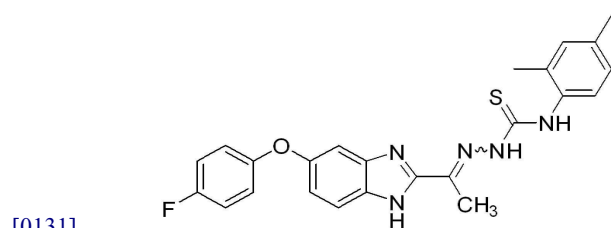
[0126] [화학식 1-1]



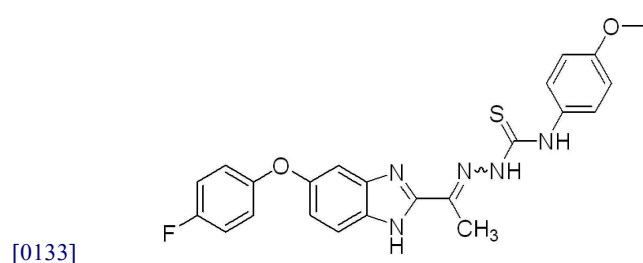
[0128] [화학식 1-4]



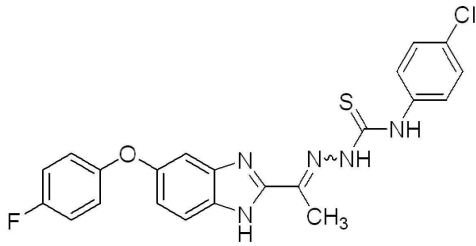
[0130] [화학식 1-5]



[0132] [화학식 1-7]

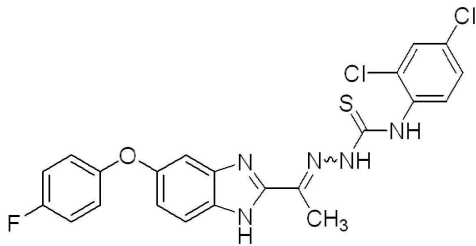


[0134] [화학식 1-10]



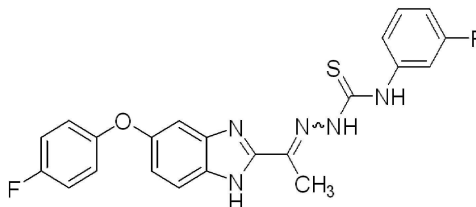
[0135]

[0136] [화학식 1-11]



[0137]

[0138] [화학식 1-13]



[0139]

[0140] 본 발명의 상기 티오세미카바존 유도체는 암 세포 특이적으로 활성화되어 튜불린 중합을 저해하고, 세포 사멸을 유도하는바, 상기 티오세미카바존 유도체 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 유효성분으로 포함하는 암 예방 또는 치료용 약학적 조성물로 이용될 수 있다.

[0141] 또한, 본 발명은 상기 티오세미카바존 유도체 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 개체에 투여하는 단계를 포함하는 암의 예방, 치료, 및/또는 진단 방법을 제공할 수 있다.

[0142] 본 발명에서 용어, "예방"은 본 발명의 조성물의 투여로 암의 발생, 확산 또는 재발을 억제시키거나 지연시키는 모든 행위를 의미하고, "치료"는 본 발명의 조성물의 투여로 상기 질환의 증세가 호전되거나 이롭게 변경되는 모든 행위를 의미한다.

[0143] 본 발명에서 용어, "약학적 조성물"은 질병의 예방 또는 치료를 목적으로 제조된 것을 의미하며, 각각 통상의 방법에 따라 다양한 형태로 제형화하여 사용될 수 있다. 예컨대, 산제, 과립제, 정제, 캡슐제, 현탁액, 에멀전, 시럽 등의 경구형 제형으로 제형화할 수 있고, 외용제, 좌제 및 멸균 주사용액의 형태로 제형화하여 사용될 수 있다.

[0144] 본 발명에서, "유효성분으로 포함"은 원하는 생물학적 효과를 실현하는데 필요하거나 또는 충분한 양으로 해당 성분이 포함되는 것을 의미한다 실제 적용에 있어서 유효 성분으로 포함되는 양의 결정은 대상 질병을 치료하기 위한 양으로서, 다른 독성을 야기하지 않는 사항을 고려해서 결정될 수 있으며, 예를 들어 치료되는 질병 또는 병태, 투여되는 조성물의 형태, 피험체의 크기, 또는 질병 또는 병태의 심각도 등과 같은 다양한 인자에 따라서 변화될 수 있다 본 발명이 속하는 분야에서 통상의 기술을 지닌 기술자라면 과도한 실험을 동반하지 않고 개별 적 조성물의 유효량을 경험적으로 결정할 수 있다.

[0145] 또한, 본 발명의 약학적 조성물은, 각각의 제형에 따라 상기 기재한 유효성분 이외에 추가로 약학적으로 허용가능한 담체를 1종 이상 포함할 수 있다.

[0146] 상기 약학적으로 허용 가능한 담체는 식염수, 멸균수, 링거액, 완충 식염수, 텍스트로오스 용액, 말토텍스트린 용액, 글리세롤, 에탄올 및 이들 성분 중 하나 이상의 혼합물일 수 있으며, 필요에 따라 항산화제, 완충액, 정균제 등 다른 통상의 첨가제를 더 포함할 수도 있다. 또한, 희석제, 분산제, 계면활성제, 결합제 및 윤활제를

부가적으로 첨가하여 수용액, 현탁액, 유탁액 등과 같은 주사용 제형, 환약, 캡슐, 과립 또는 정제로 제제화할 수도 있다. 더 나아가, 당분야의 적절한 방법으로, 또는 Remington's Pharmaceutical Science (Mack Publishing Company, Easton PA)에 개시되어 있는 방법을 이용하여 각 질환에 따라 또는 성분에 따라 바람직하게 제제화할 수도 있다.

- [0148] 본 발명에서, 용어, "약학적으로 허용 가능한 염"은 화합물이 투여되는 유기체에 심각한 자극을 유발하지 않고 화합물의 생물학적 활성과 물성들을 손상시키지 않은 화합물의 제형을 의미한다. 상기 약학적으로 허용 가능한 염은 본 발명의 화합물을 염산, 브롬산, 황산, 질산, 인산 등의 무기산, 메탄술폰산, 에탄술폰산, p-톨루엔술폰산 등의 술폰산, 타타르산, 포름산, 시트르산, 아세트산, 트리클로로아세트산, 트리플루오로아세트산, 카프릭산, 이소부탄산, 말론산, 석신산, 프탈산, 클루콘산, 벤조산, 락트산, 푸마르산, 말레인산, 살리실산 등과 같은 유기 카본산과 반응시켜 얻어질 수 있다. 또한, 본 발명의 화합물을 염기와 반응시켜, 암모니움 염, 나트륨 또는 칼륨염 등의 알칼리 금속염, 칼슘 또는 마그네슘 염 등의 알칼리 토금속염 등의 염, 디시클로헥실아민, N-메틸-D-글루카민, 트리스(히드록시메틸) 메틸아민 등의 유기염기들의 염 및 아르기닌, 리신 등의 아미노산 염을 형성함으로써 얻어질 수도 있다.
- [0149] 또한, 상기 티오세미카바존 유도체 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염은 약학적으로 허용되는 염뿐만 아니라, 통상의 방법에 의해 제조될 수 있는 모든 염, 수화물 및 용매화물을 모두 포함할 수 있다.
- [0150] 본 발명의 조성물은 목적하는 방법에 따라 약학적으로 유효한 양으로 경구 투여하거나 비경구 투여할 수 있으며, 본 발명의 용어 "약학적으로 유효한 양"은 의학적 치료에 적용 가능한 합리적인 수해/위험 비율로 질환을 치료하기에 충분하며 부작용을 일으키지 않을 정도의 양을 의미하며, 유효용량 수준은 환자의 건강상태, 중증도, 약물의 활성, 약물에 대한 민감도, 투여 방법, 투여 시간, 투여 경로 및 배출 비율, 치료기간, 배합 또는 동시 사용되는 약물을 포함한 요소 및 기타 의학 분야에 잘 알려진 요소에 따라 결정될 수 있다.
- [0151] 따라서, 본 발명의 약학적 조성물을 개체에 투여하여 암을 예방, 치료, 및/또는 진단할 수 있으며, 상기 암의 종류에는 제한이 없으나, 바람직하게는 산도가 정상세포보다 높고, 튜블린 중합 억제제에 의해 세포 독성이 저해되는 특성의 암일 수 있고, 그 비제한적인 예로서 유방암, 바람직하게는 삼중음성유방암 등이 있다.
- [0152] 본 발명에서 용어, "개체"는 암의 예방, 치료, 및/또는 진단이 필요한 가축, 인간 등의 포유류라면 제한되지 아니하나, 바람직하게는 인간일 수 있다.
- [0153] 본 발명의 약학적 조성물은 개체에 투여를 위한 다양한 형태로 제형화 될 수 있으며, 비경구 투여용 제형의 대표적인 것은 주사용 제형으로 등장성 수용액 또는 현탁액이 바람직하다. 주사용 제형은 적합한 분산제 또는 습윤제 및 현탁화제를 사용하여 당업계에 공지된 기술에 따라 제조할 수 있다. 예를 들면, 각 성분을 식염수 또는 완충액에 용해시켜 주사용으로 제형화 될 수 있다. 또한, 경구 투여용 제형으로는 예를들면 섭취형 정제, 협착정제, 트로키, 캡슐, 엘릭시르, 서스펜션, 시럽 및 웨이퍼 등이 있는데, 이들 제형은 유효성분 이외에 희석제(예: 락토즈, 텍스트로즈, 수크로즈, 만니톨, 솔비톨, 셀룰로즈 및/또는 글리신)와 활탁제(예: 실리카, 탈크, 스테아르산 및 그의 마그네슘 또는 칼슘염 및/또는 폴리에틸렌 글리콜)를 포함할 수 있다. 상기 정제는 마그네슘 알루미늄 실리케이트, 전분페이스트, 젤라틴, 트라가칸스, 메틸셀룰로즈, 나트륨 카복시메틸셀룰로즈 및/또는 폴리비닐피롤리딘과 같은 결합제를 포함할 수 있으며, 경우에 따라 전분, 한천, 알긴산 또는 그의 나트륨 염과 같은 붕해제, 흡수제, 착색제, 향미제 및/또는 감미제를 추가로 포함할 수 있다. 상기 제형은 통상적인 혼합, 과립화 또는 코팅 방법에 의해 제조될 수 있다.
- [0154] 또한, 본 발명의 약학적 조성물은 방부제, 수화제, 유효 촉진제, 삼투압 조절을 위한 염 또는 완충제와 같은 보조제와 기타 치료적으로 유용한 물질을 추가로 포함할 수 있으며, 통상적인 방법에 따라 제제화 될 수 있다.
- [0155] 본 발명에 따른 약학적 조성물은 경구, 경피, 피하, 정맥 또는 근육을 포함한 여러 경로를 통해 투여될 수 있으며, 활성 성분의 투여량은 투여 경로, 환자의 연령, 성별, 체중 및 환자의 중증도 등의 여러 인자에 따라 적절히 선택될 수 있다. 또한, 본 발명의 조성물은 목적하는 효과를 상승시킬 수 있는 공지의 화합물과도 병행하여 투여할 수 있다.
- [0156] 본 발명에 따른 약학적 조성물의 투여 경로로는 경구적으로 또는 정맥 내, 피하, 비강 내 또는 복강 내 등과 같은 비경구적으로 사람과 동물에게 투여될 수 있다. 경구 투여는 설하 적용도 포함한다. 비경구적 투여는 피하주사, 근육 내 주사 및 정맥 주사와 같은 주사법 및 점적법을 포함한다.

[0158] 본 발명의 약학적 조성물에 있어서, 본 발명에 따른 티오세미카바존 유도체 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염의 총 유효량은 단일 투여량(single dose)으로 환자에게 투여될 수 있으며, 다중 투여량(multiple dose)이 장기간 투여되는 분할 치료 방법 (fractionated treatment protocol)에 의해 투여될 수 있다. 본 발명의 약학적 조성물은 질환의 정도에 따라 유효성분의 함량을 달리할 수 있으나, 통상적으로 성인을 기준으로 1회 투여시 100 $\mu$ g 내지 3,000mg의 유효용량으로 하루에 수차례 반복 투여될 수 있다. 그러나 상기 티오세미카바존 유도체 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염의 농도는 약의 투여 경로 및 치료 횟수뿐 만 아니라 환자의 연령, 체중, 건강 상태, 성별, 질환의 중증도, 식이 및 배설을 등 다양한 요인들을 고려하여 환자에 대한 유효 투여량이 결정될 수 있다.

[0159] 또한, 본 발명에 따른 약학적 조성물은 본 발명의 효과를 보이는 한 그 제형, 투여 경로 및 투여 방법에 특별히 제한되지는 않으며, 본 발명의 약학적 조성물은 유효성분으로서 상기 티오세미카바존 유도체 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염 이외에 공지된 항암제를 추가로 포함할 수 있고, 이들 질환의 치료를 위해 공지된 다른 치료와 병용될 수 있다.

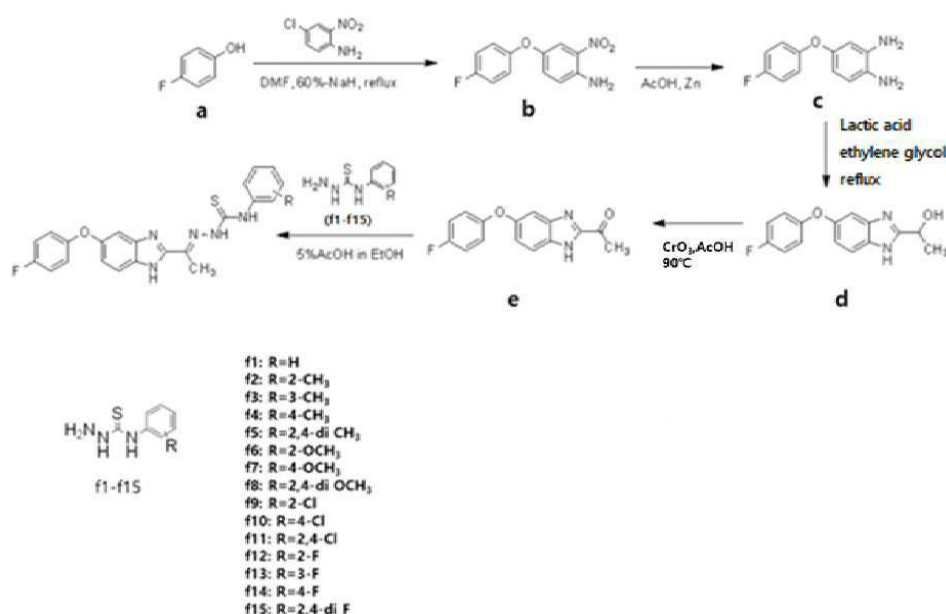
[0161] 본 발명은 다양한 변환을 가할 수 있고 여러 가지 실시예를 가질 수 있는 바, 이하 특정 실시예들을 도면에 예시하고 상세한 설명에 상세하게 설명하고자 한다. 그러나, 이는 본 발명을 특정한 실시 형태에 대해 한정하려는 것이 아니며, 본 발명의 사상 및 기술 범위에 포함되는 모든 변환, 균등물 내지 대체물을 포함하는 것으로 이해되어야 한다. 본 발명을 설명함에 있어서 관련된 공지 기술에 대한 구체적인 설명이 본 발명의 요지를 흐릴 수 있다고 판단되는 경우 그 상세한 설명을 생략한다.

## [0163] [실시예]

### [0164] 실시예 1. 티오세미카바존 유도체의 제조

[0165] 모든 화학 시약은 상업적으로 이용 가능한 것을 사용하였다. 실리카겔 컬럼 크로마토 그래피는 실리카겔 230-400 메쉬, Merck에서 수행하였다. H NMR 스펙트럼은 Bruker 400 MHz NMR에서 기록되었다. 하기에 본 발명의 티오세미카바존 유도체의 합성 과정의 설명을 돕기 위하여 p-F phenol로부터 본 발명의 화합물 1의 합성과정을 대표적으로 하기 반응식 1에 나타내었다.

### [0166] [반응식 1]



[0167]

[0169] 1-(5-(4-fluorophenoxy)-1H-benzo[d]imidazol-2-yl)ethanol (d)의 합성

[0170] 4-(4-fluorophenoxy)benzene-1,2-diamine(9.24 g, 42.3 mmole)을 ethylene glycol 50 mL에 녹인 후 lactic acid 50 mL를 가하고 3 시간 동안 가열환류하였다. 반응혼합물을 상온으로 냉각하고 반응혼합물의 pH가 8이 될 때까지 포화 중탄산소다수를 가하였다. 반응혼합물을 ethyl acetate 200 mL로 추출한다음 추출액을 정제수로 수회 세척한 후 무수  $MgSO_4$ 으로 건조하고 여과한 다음 감압 증발하여 용매를 제거하였다. 생성된 기름상의 액체를 column chromatography (ethyl acetate:n-hexane = 1:1)( $R_f$  = 0.20)를 이용하여 갈색 액체인 1-(5-(4-fluorophenoxy)-1H-benzo[d]imidazol-2-yl)ethanol (8.28 g, yield: 85.77 %)을 분리하였다.

[0172] 1-(5-(4-fluorophenoxy)-1H-benzo[d]imidazol-2-yl)ethanone (e)의 합성

[0173] Chromium trioxide(0.43 g, 16.87 mmole)을 정제수 2 mL에 녹인 후 90 °C로 가열하면서 acetic acid 5 mL에 녹인 1-(5-(4-fluorophenoxy)-1H-benzo[d]imidazol-2-yl)ethanol(2.95 g, 12.9 mmole) 용액을 천천히 적가하였다. 같은 온도에서 4 시간 동안 교반 한 후 반응혼합물을 실온으로 식히고 정제수 100 mL를 가한 다음 ethyl acetate 200 mL로 추출하였다. 추출액을 무수  $MgSO_4$ 로 건조하고 여과한 다음 감압 증발하여 용매를 제거하였다. 잔여물인 기름상의 액체를 column chromatography (EtOAc:n-Hexane = 1:1)( $R_f$  = 0.93)로 정제하여 노란색 고체인 1-(5-(4-fluorophenoxy)-1H-benzo[d]imidazol-2-yl)ethanone (0.92 g, yield: 31.5 %)를 수득하였다.

[0175] 화학식 1-1의 제조

[0176] Ethanol에 녹인 5 % 초산 용액(5 mL)에 1-(5-(4-fluorophenoxy)-1H-benzo[d]imidazol-2-yl)ethanone(0.4 g, 1.78 mmole)와 아미노티오우레아 f1(0.29 g, 1.78 mmole)를 넣고, 8 시간 가열 환류하였다. 반응혼합물을 실온으로 냉각하고 반응혼합물을 감압증류한 후 column chromatography (EtOAc:n-Hexane = 1:1)( $R_f$  = 0.48)로 정제하여 노란색 고체인 (E)-1-(1-(5-(4-fluorophenoxy)-1H-benzo[d]imidazol-2-yl)ethylidene)-4-phenylthiosemicarbazide (화학식 1-1, 0.29 g, yield: 44 %)를 수득하였다.

[0177] Melting Point: 126 °C,  $R_f$  = 0.48 (Ethyl acetate : Hexane, 1:1. v/v)

[0178]  $^1H$  NMR (400 MHz,  $CDCl_3$ ,  $\delta$ , ppm): 2.53(s, 3H,  $-CH_3$ ), 6.98~7.71(m, 12H, ArH), 8.85(s, 1H,  $-NH-$ ), 9.40(br. s, 1H,  $-NH-$ ), 10.41(s, 1H,  $-NH-$ )

[0180] 화학식 1-2의 제조

[0181] Ethanol에 녹인 5 % 초산 용액(5 mL)에 1-(5-(4-fluorophenoxy)-1H-benzo[d]imidazol-2-yl)ethanone(0.4 g, 1.78 mmole)와 아미노티오우레아 f2(0.32 g, 1.78 mmole)를 넣고, 8 시간 가열 환류하였다. 반응혼합물을 실온으로 냉각하고 반응혼합물을 감압증류한 후 column chromatography (EtOAc:n-Hexane = 1:1)( $R_f$  = 0.58)로 정제하여 노란색 고체인 (E)-1-(1-(5-(4-fluorophenoxy)-1H-benzo[d]imidazol-2-yl)ethylidene)-4-(2-methylphenyl)thiosemicarbazide (화학식 1-2, 0.25 g, yield: 37 %)를 수득하였다.

[0182] Yield 37 %, Melting Point: 149 °C,  $R_f$  = 0.58 (EtOAc:n-Hexane = 1:1)

[0183]  $^1H$  NMR: 2.32(s, 3H, Ar- $CH_3$ ), 2.54(s, 3H,  $-CH_3$ ), 6.94~7.71(m, 11H, ArH), 8.87(s, 1H,  $-NH-$ ), 8.95(br. s, 1H,  $-NH-$ ), 10.1(s, 1H,  $-NH-$ )

[0185] 화학식 1-3의 제조

[0186] Ethanol에 녹인 5 % 초산 용액(5 mL)에 1-(5-(4-fluorophenoxy)-1H-benzo[d]imidazol-2-yl)ethanone(0.4 g, 1.78 mmole)와 아미노티오우레아 f3(0.32 g, 1.78 mmole)를 넣고, 8 시간 가열 환류하였다. 반응혼합물을 실온으로 냉각하고 반응혼합물을 감압증류한 후 column chromatography (EtOAc:n-Hexane = 1:1)( $R_f$  = 0.55)로 정제

하여 노란색 고체인 (E)-1-(1-(5-(4-fluorophenoxy)-1H-benzo[d]imidazol-2-yl)ethylidene)-4-(3-methylphenyl)thiosemicarbazide (화학식 1-3, 0.26 g, yield: 38 %)를 수득하였다.

[0187] Yield 38 %, Melting Point: 132 °C,  $R_f$  = 0.55 (EtOAc:n-Hexane = 1:1)

[0188]  $^1\text{H}$  NMR: 2.34(s, 3H, Ar-CH<sub>3</sub>), 2.52(s, 3H, -CH<sub>3</sub>), 6.89~7.51(m, 11H, ArH), 8.85(s, 1H, -NH-), 9.23(br. s, 1H, -NH-), 9.42(s, 1H, -NH-)

[0190] **화학식 1-4의 제조**

[0191] Ethanol에 녹인 5 % 초산 용액(5 mL)에 1-(5-(4-fluorophenoxy)-1H-benzo[d]imidazol-2-yl)ethanone(0.4 g, 1.78 mmole)와 아미노티오우레아 f4(0.32 g, 1.78 mmole)를 넣고, 8시간 가열 환류하였다. 반응혼합물을 실온으로 냉각하고 반응혼합물을 감압증류한 후 column chromatography(EtOAc:n-Hexane = 1:1)( $R_f$  = 0.65)로 정제하여 노란색 고체인 (E)-1-(1-(5-(4-fluorophenoxy)-1H-benzo[d]imidazol-2-yl)ethylidene)-4-(4-methylphenyl)thiosemicarbazide (화학식 1-4, 0.35 g, yield: 51 %)를 수득하였다.

[0192] Yield 51 %, Melting Point: 142 °C,  $R_f$  = 0.65 (EtOAc:n-Hexane = 1:1)

[0193]  $^1\text{H}$  NMR: 2.26(s, 3H, Ar-CH<sub>3</sub>), 2.47(s, 3H, -CH<sub>3</sub>), 6.98~7.75(m, 11H, ArH), 8.75(s, 1H, -NH-), 9.34(br. s, 1H, -NH-), 10.52(s, 1H, -NH-)

[0195] **화학식 1-5의 제조**

[0196] Ethanol에 녹인 5 % 초산 용액(5 mL)에 1-(5-(4-fluorophenoxy)-1H-benzo[d]imidazol-2-yl)ethanone(0.4 g, 1.78 mmole)와 아미노티오우레아 f5(0.34 g, 1.78 mmole)를 넣고, 8시간 가열 환류하였다. 반응혼합물을 실온으로 냉각하고 반응혼합물을 감압증류한 후 column chromatography (EtOAc:n-Hexane = 1:1)( $R_f$  = 0.59)로 정제하여 노란색 고체인 (E)-1-(1-(5-(4-fluorophenoxy)-1H-benzo[d]imidazol-2-yl)ethylidene)-4-(2,4-dimethylphenyl)thiosemicarbazide (화학식 1-5, 0.40 g, yield: 56 %)를 수득하였다.

[0197] Yield 56 %, Melting Point: 151 °C,  $R_f$  = 0.59 (EtOAc:n-Hexane = 1:1)

[0198]  $^1\text{H}$  NMR : 2.13(s, 3H, Ar-CH<sub>3</sub>), 2.24(s, 3H, Ar-CH<sub>3</sub>), 2.43(s, 3H, -CH<sub>3</sub>), 6.84~7.75(m, 10H, ArH), 8.68(s, 1H, -NH-), 9.12(br. s, 1H, -NH-), 10.50(s, 1H, -NH-)

[0200] **화학식 1-6의 제조**

[0201] Ethanol에 녹인 5 % 초산 용액(5 mL)에 1-(5-(4-fluorophenoxy)-1H-benzo[d]imidazol-2-yl)ethanone(0.4 g, 1.78 mmole)와 아미노티오우레아 f6(0.35 g, 1.78 mmole)를 넣고, 8시간 가열 환류하였다. 반응혼합물을 실온으로 냉각하고 반응혼합물을 감압증류한 후 column chromatography (EtOAc:n-Hexane = 1:1)( $R_f$  = 0.42)로 정제하여 노란색 고체인 (E)-1-(1-(5-(4-fluorophenoxy)-1H-benzo[d]imidazol-2-yl)ethylidene)-4-(2-methoxyphenyl)thiosemicarbazide (화학식 1-6, 0.32 g, yield: 45 %)를 수득하였다.

[0202] Yield 45 %, Melting Point: 157 °C,  $R_f$  = 0.42 (EtOAc:n-Hexane = 1:1)

[0203]  $^1\text{H}$  NMR: 2.50(s, 3H, -CH<sub>3</sub>), 3.97(s, 3H, Ar-OCH<sub>3</sub>), 7.03~7.81(m, 11H, ArH), 8.60(s, 1H, -NH-), 8.81(br. s, 1H, -NH-), 9.95(s, 1H, -NH-)

[0205] **화학식 1-7의 제조**

[0206] Ethanol에 녹인 5 % 초산 용액(5 mL)에 1-(5-(4-fluorophenoxy)-1H-benzo[d]imidazol-2-yl)ethanone(0.4 g,

1.78 mmole)와 아미노티오우레아 f7(0.35 g, 1.78 mmole)를 넣고, 8 시간 가열 환류하였다. 반응혼합물을 실온으로 냉각하고 반응혼합물을 감압증류한 후 column chromatography (EtOAc:n-Hexane = 1:1)( $R_f$  = 0.42)로 정제하여 노란색 고체인 (E)-1-(1-(5-(4-fluorophenoxy)-1H-benzo[d]imidazol-2-yl)ethylidene)-4-(4-methoxyphenyl)thiosemicarbazide (화학식 1-7, 0.35 g, yield: 49 %)를 수득하였다.

[0207] Yield 49 %, Melting Point: 167 °C,  $R_f$  = 0.42 (EtOAc:n-Hexane = 1:1)

[0208]  $^1\text{H}$  NMR: 2.50(s, 3H, -CH<sub>3</sub>), 3.78(s, 3H, Ar-OCH<sub>3</sub>), 6.91~7.70(m, 11H, ArH), 10.28(s, 1H, -NH-), 10.99(br. s, 1H, -NH-), 12.8(s, 1H, -NH-)

#### [0210] 화학식 1-8의 제조

[0211] Ethanol에 녹인 5 % 초산 용액(5 mL)에 1-(5-(4-fluorophenoxy)-1H-benzo[d]imidazol-2-yl)ethanone(0.4 g, 1.78 mmole)와 아미노티오우레아 f8(0.40 g, 1.78 mmole)를 넣고, 8 시간 가열 환류하였다. 반응혼합물을 실온으로 냉각하고 반응혼합물을 감압증류한 후 column chromatography (EtOAc:n-Hexane = 1:1)( $R_f$  = 0.38)로 정제하여 노란색 고체인 (E)-1-(1-(5-(4-fluorophenoxy)-1H-benzo[d]imidazol-2-yl)ethylidene)-4-(2,4-methoxyphenyl)thiosemicarbazide (화학식 1-8, 0.35 g, yield: 45 %)를 수득하였다.

[0212] Yield 45 %, Melting Point: 128 °C,  $R_f$  = 0.38 (EtOAc:n-Hexane = 1:1)

[0213]  $^1\text{H}$  NMR : 2.49(s, 3H, -CH<sub>3</sub>), 3.75(s, 3H, Ar-OCH<sub>3</sub>), 3.82(s, 3H, Ar-OCH<sub>3</sub>), 6.64~9.75(m, 10H, ArH), 9.75(s, 1H, -NH-), 10.41(br. s, 1H, -NH-), 14.08(s, 1H, -NH-)

#### [0215] 화학식 1-9의 제조

[0216] Ethanol에 녹인 5 % 초산 용액(5 mL)에 1-(5-(4-fluorophenoxy)-1H-benzo[d]imidazol-2-yl)ethanone(0.4 g, 1.78 mmole)와 아미노티오우레아 f9 (0.36 g, 1.78 mmole)를 넣고, 8시간 가열 환류하였다. 반응혼합물을 실온으로 냉각하고 반응혼합물을 감압증류한 후 column chromatography (EtOAc:n-Hexane = 1:1)( $R_f$  = 0.65)로 정제하여 노란색 고체인 (E)-1-(1-(5-(4-fluorophenoxy)-1H-benzo[d]imidazol-2-yl)ethylidene)-4-(2-chlorophenyl)thiosemicarbazide (화학식 1-9, 0.27 g, yield: 37 %)를 수득하였다.

[0217] Yield 37 %, Melting Point: 159 °C,  $R_f$  = 0.65 (EtOAc:n-Hexane = 1:1)

[0218]  $^1\text{H}$  NMR: 2.57(s, 3H, -CH<sub>3</sub>), 6.98~9.70(m, 11H, ArH), 9.70(s, 1H, -NH-), 10.12(br. s, 1H, -NH-), 14.28(s, 1H, -NH-)

#### [0220] 화학식 1-10의 제조

[0221] Ethanol에 녹인 5 % 초산 용액(5 mL)에 1-(5-(4-fluorophenoxy)-1H-benzo[d]imidazol-2-yl)ethanone(0.4 g, 1.78 mmole)와 아미노티오우레아 f10 (0.36 g, 1.78 mmole)를 넣고, 8 시간 가열 환류하였다. 반응혼합물을 실온으로 냉각하고 반응혼합물을 감압증류한 후 column chromatography (EtOAc:n-Hexane = 1:1)( $R_f$  = 0.48)로 정제하여 노란색 고체인 (E)-1-(1-(5-(4-fluorophenoxy)-1H-benzo[d]imidazol-2-yl)ethylidene)-4-(4-chlorophenyl)thiosemicarbazide (화학식 1-10, 0.36 g, yield: 50 %)를 수득하였다.

[0222] Yield 50 %, Melting Point: 135 °C,  $R_f$  = 0.48 (EtOAc:n-Hexane = 1:1)

[0223]  $^1\text{H}$  NMR : 2.56(s, 3H, -CH<sub>3</sub>), 7.00~8.84(m, 11H, ArH), 9.20(s, 1H, -NH-), 10.51(br. s, 1H, -NH-), 14.25(s, 1H, -NH-)

[0225] **화학식 1-11의 제조**

[0226] Ethanol에 녹인 5 % 초산 용액(5 mL)에 1-(5-(4-fluorophenoxy)-1H-benzo[d]imidazol-2-yl)ethanone(0.4 g, 1.78 mmole)와 아미노티오우레아 f11(0.41 g, 1.78 mmole)를 넣고, 8 시간 가열 환류하였다. 반응혼합물을 실온으로 냉각하고 반응혼합물을 감압증류한 후 column chromatography (EtOAc:n-Hexane = 1:1)( $R_f$  = 0.53)로 정제하여 노란색 고체인 (E)-1-(1-(5-(4-fluorophenoxy)-1H-benzo[d]imidazol-2-yl)ethylidene)-4-(2,4-chlorophenyl)thiosemicarbazide (화학식 1-11, 0.38 g, yield: 49 %)를 수득하였다.

[0227] Yield 49 %, Melting Point: 171 °C,  $R_f$  = 0.53 (EtOAc:n-Hexane = 1:1)

[0228]  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz, DMSO- $d_6$ ,  $\delta$ , ppm): 2.50(s, 3H, -CH<sub>3</sub>), 6.91~7.80(m, 10H, ArH), 10.30(s, 1H, -NH-), 11.37(br. s, 1H, -NH-), 12.70(s, 1H, -NH-)

[0230] **화학식 1-12의 제조**

[0231] Ethanol에 녹인 5 % 초산 용액(5 mL)에 1-(5-(4-fluorophenoxy)-1H-benzo[d]imidazol-2-yl)ethanone(0.4 g, 1.78 mmole)와 아미노티오우레아 f12(0.33 g, 1.78 mmole)를 넣고, 8 시간 가열 환류하였다. 반응혼합물을 실온으로 냉각하고 반응혼합물을 감압증류한 후 column chromatography (EtOAc:n-Hexane = 1:1)( $R_f$  = 0.53)로 정제하여 노란색 고체인 (E)-1-(1-(5-(4-fluorophenoxy)-1H-benzo[d]imidazol-2-yl)ethylidene)-4-(2-fluorophenyl)thiosemicarbazide (화학식 1-12, 0.27 g, yield: 39 %)를 수득하였다.

[0232] Yield 39 %, Melting Point: 127 °C,  $R_f$  = 0.53 (EtOAc:n-Hexane = 1:1)

[0233]  $^1\text{H}$  NMR : 2.50(s, 3H, -CH<sub>3</sub>), 7.00~8.93(m, 11H, ArH), 9.32(s, 1H, -NH-), 10.31(br. s, 1H, -NH-), 14.30(s, 1H, -NH-)

[0235] **화학식 1-13의 제조**

[0236] Ethanol에 녹인 5 % 초산 용액(5 mL)에 1-(5-(4-fluorophenoxy)-1H-benzo[d]imidazol-2-yl)ethanone(0.4 g, 1.78 mmole)와 아미노티오우레아 f13(0.33 g, 1.78 mmole)를 넣고, 8 시간 가열 환류하였다. 반응혼합물을 실온으로 냉각하고 반응혼합물을 감압증류한 후 column chromatography (EtOAc:n-Hexane = 1:1)( $R_f$  = 0.69)로 정제하여 노란색 고체인 (E)-1-(1-(5-(4-fluorophenoxy)-1H-benzo[d]imidazol-2-yl)ethylidene)-4-(3-fluorophenyl)thiosemicarbazide (화학식 1-13, 0.27 g, yield: 39 %)를 수득하였다.

[0237] Yield 36 %, Melting Point: 162 °C,  $R_f$  = 0.69 (EtOAc:n-Hexane = 1:1)

[0238]  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz, DMSO- $d_6$ ,  $\delta$ , ppm): 2.50(s, 3H, -CH<sub>3</sub>), 6.75~7.71(m, 11H, ArH), 10.17(s, 1H, -NH-), 11.20(br. s, 1H, -NH-), 12.81(s, 1H, -NH-)

[0240] **화학식 1-14의 제조**

[0241] Ethanol에 녹인 5 % 초산 용액(5 mL)에 1-(5-(4-fluorophenoxy)-1H-benzo[d]imidazol-2-yl)ethanone(0.4 g, 1.78 mmole)와 아미노티오우레아 f14(0.33 g, 1.78 mmole)를 넣고, 8시간 가열 환류하였다. 반응혼합물을 실온으로 냉각하고 반응혼합물을 감압증류한 후 column chromatography (EtOAc:n-Hexane = 1:1)( $R_f$  = 0.44)로 정제하여 노란색 고체인 (E)-1-(1-(5-(4-fluorophenoxy)-1H-benzo[d]imidazol-2-yl)ethylidene)-4-(4-fluorophenyl)thiosemicarbazide (화학식 1-14, 0.36 g, yield: 52 %)를 수득하였다.

[0242] Yield 52 %, Melting Point: 170 °C,  $R_f$  = 0.44 (EtOAc:n-Hexane = 1:1)

[0243]  $^1\text{H}$  NMR : 2.51(s, 3H, -CH<sub>3</sub>), 7.00~8.87(m, 11H, ArH), 9.39(s, 1H, -NH-), 9.47(br. s, 1H, -NH-), 14.23(s,

<sup>1</sup>H, -NH-)

[0245] **화학식 1-15의 제조**

[0246] Ethanol에 녹인 5 % 초산 용액(5 mL)에 1-(5-(4-fluorophenoxy)-1H-benzo[d]imidazol-2-yl)ethanone(0.4 g, 1.78 mmole)와 아미노티오우레아 f15(0.36 g, 1.78 mmole)를 넣고, 8 시간 가열 환류하였다. 반응혼합물을 실온으로 냉각하고 반응혼합물을 감압증류한 후 column chromatography (EtOAc:n-Hexane = 1:1)(R<sub>f</sub> = 0.53)로 정제하여 노란색 고체인 (E)-1-(1-(5-(4-fluorophenoxy)-1H-benzo[d]imidazol-2-yl)ethylidene)-4-(2,4-fluorophenyl)thiosemicarbazide (화학식 1-15, 0.33 g, yield: 46 %)를 수득하였다.

[0247] Yield 46 %, Melting Point: 130 °C, R<sub>f</sub> = 0.53 (EtOAc:n-Hexane = 1:1)

[0248] <sup>1</sup>H NMR : 2.56(s, 3H, -CH<sub>3</sub>), 6.91~8.29(m, 11H, ArH), 9.49(s, 1H, -NH-), 10.26(br. s, 1H, -NH-), 14.32(s, 1H, -NH-)

[0250] **화학식 1-16의 제조**

[0251] Ethanol에 녹인 5 % 초산 용액(5 mL)에 1-(5-(4-fluorophenylthio)-1H-benzo[d]imidazol-2-yl)ethanone(0.15 g, 0.52 mmole)와 아미노티오우레아 f1(87.6 mg, 0.52 mmole)를 넣고, 8 시간 가열 환류하였다. 반응혼합물을 실온으로 냉각하고 반응혼합물을 감압증류한 후 column chromatography (EtOAc:n-Hexane = 1:1)(R<sub>f</sub> = 0.16)로 정제하여 노란색 고체인 (E)-1-(1-(5-(4-fluorophenylthio)-1H-benzo[d]imidazol-2-yl)ethylidene)-4-phenylthiosemicarbazide (화학식 1-16, 0.11 g, yield: 48 %)를 수득하였다.

[0252] Yield 48 %, Melting Point: 122.5 °C, R<sub>f</sub> = 0.16 (EtOAc:n-Hexane = 1:1)

[0253] <sup>1</sup>H NMR : 2.54(s, 3H, -CH<sub>3</sub>), 7.09~9.47(m, 12H, ArH), 10.91(s, 1H, -NH-), 11.07(br. s, 1H, -NH-), 14.17(s, 1H, -NH-)

[0255] **화학식 1-17의 제조**

[0256] Ethanol에 녹인 5 % 초산 용액(5 mL)에 1-(5-(4-fluorophenylthio)-1H-benzo[d]imidazol-2-yl)ethanone(0.15 g, 0.52 mmole)와 아미노티오우레아 f4(94.9 mg, 0.52 mmole)를 넣고, 8 시간 가열 환류하였다. 반응혼합물을 실온으로 냉각하고 반응혼합물을 감압증류한 후 column chromatography (EtOAc:n-Hexane = 1:1)(R<sub>f</sub> = 0.13)로 정제하여 노란색 고체인 (E)-1-(1-(5-(4-fluorophenylthio)-1H-benzo[d]imidazol-2-yl)ethylidene)-4-p-tolylthiosemicarbazide (화학식 1-17, 0.12 g, yield: 51 %)를 수득하였다.

[0257] Yield 51 %, Melting Point: 134.4 °C, R<sub>f</sub> = 0.13 (EtOAc:n-Hexane = 1:1)

[0258] <sup>1</sup>H NMR : 2.25(s, 3H, Ar-CH<sub>3</sub>), 2.52(s, 3H, -CH<sub>3</sub>), 7.02~9.42(m, 11H, ArH), 10.94(s, 1H, -NH-), 11.07(br. s, 1H, -NH-), 14.12(s, 1H, -NH-)

[0260] **화학식 1-18의 제조**

[0261] Ethanol에 녹인 5 % 초산 용액(5 mL)에 1-(5-(4-fluorophenylthio)-1H-benzo[d]imidazol-2-yl)ethanone(0.15 g, 0.52 mmole)와 아미노티오우레아 f7(103 mg, 0.52 mmole)를 넣고, 8 시간 가열 환류하였다. 반응혼합물을 실온으로 냉각하고 반응혼합물을 감압증류한 후 column chromatography (EtOAc:n-Hexane = 1:1)(R<sub>f</sub> = 0.13)로 정제하여 흰색 고체인 (E)-1-(1-(5-(4-fluorophenylthio)-1H-benzo[d]imidazol-2-yl)ethylidene)-4-p-methoxyphenylthiosemicarbazide (화학식 1-18, 0.15 g, yield: 62 %)를 수득하였다.

[0262] Yield 62 %, Melting Point: 138.3 °C,  $R_f$  = 0.13 (EtOAc:n-Hexane = 1:1)

[0263]  $^1\text{H}$  NMR : 2.49(s, 3H, -CH<sub>3</sub>), 3.65(s, 3H, Ar-OCH<sub>3</sub>), 6.64~8.81(m, 11H, ArH), 9.48(s, 1H, -NH-), 11.31(br. s, 1H, -NH-), 14.11(s, 1H, -NH-)

[0265] **화학식 1-19의 제조**

[0266] Ethanol에 녹인 5 % 초산 용액(5 mL)에 1-(5-(4-fluorophenylthio)-1H-benzo[d]imidazol-2-yl)ethanone(0.15 g, 0.52 mmole)와 아미노티오우레아 f10(105 mg, 0.52 mmole)를 넣고, 8 시간 가열 환류하였다. 반응혼합물을 실온으로 냉각하고 반응혼합물을 감압증류한 후 column chromatography (EtOAc:n-Hexane = 1:1)( $R_f$  = 0.14)로 정제하여 흰색 고체인 (E)-1-(1-(5-(4-fluorophenylthio)-1H-benzo[d]imidazol-2-yl)ethylidene)-4-p-chlorophenylthiosemicarbazide (화학식 1-19, 0.11 g, yield: 45 %)를 수득하였다.

[0267] Yield 45 %, Melting Point: 184 °C,  $R_f$  = 0.14 (EtOAc:n-Hexane = 1:1)

[0268]  $^1\text{H}$  NMR : 2.54(s, 3H, -CH<sub>3</sub>), 7.12~7.67(m, 11H, ArH), 9.48(s, 1H, -NH-), 10.33(br. s, 1H, -NH-), 12.71(s, 1H, -NH-)

[0270] **화학식 1-20의 제조**

[0271] Ethanol에 녹인 5 % 초산 용액(5 mL)에 1-(5-(4-fluorophenylthio)-1H-benzo[d]imidazol-2-yl)ethanone(0.15 g, 0.52 mmole)와 아미노티오우레아 f14(97 mg, 0.52 mmole)를 넣고, 8 시간 가열 환류하였다. 반응혼합물을 실온으로 냉각하고 반응혼합물을 감압증류한 후 column chromatography (EtOAc:n-Hexane = 1:1)( $R_f$  = 0.14)로 정제하여 흰색 고체인 (E),(Z)-1-(1-(5-(4-fluorophenylthio)-1H-benzo[d]imidazol-2-yl)ethylidene)-4-p-fluorophenylthiosemicarbazide (화학식 1-20, 0.13 g, yield: 55 %)를 수득하였다.

[0272] Yield 55 %, Melting Point: 184.1 °C,  $R_f$  = 0.14 (EtOAc:n-Hexane = 1:1)

[0273]  $^1\text{H}$  NMR : 2.58(s, 3H, -CH<sub>3</sub>), 7.12~8.06(m, 11H, ArH), 9.76(s, 1H, -NH-), 10.33(br. s, 1H, -NH-), 12.77(s, 1H, -NH-)

[0275] **화학식 1-21의 제조**

[0276] Ethanol에 녹인 5 % 초산 용액(5 mL)에 1-(5-phenyl-(1H-benzo[d]imidazol-2-yl)methanone(0.2 g, 0.75 mmole)와 아미노티오우레아 f1(103 mg, 0.75 mmole)를 넣고, 8 시간 가열 환류하였다. 반응혼합물을 실온으로 냉각하고 반응혼합물을 감압증류한 후 column chromatography (EtOAc:n-Hexane = 1:1)( $R_f$  = 0.28)로 정제하여 흰색 고체인(E)-1-(1-(5-phenyl)methanone-1H-benzo[d]imidazol-2-yl)ethylidene-4-phenylthiosemicarbazide(화학식 1-21, 0.13 g, yield: 54 %)를 수득하였다.

[0277] Yield 54 %, Melting Point: 135.1 °C,  $R_f$  = 0.28 (EtOAc:n-Hexane = 1:1)

[0278]  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>,  $\delta$ , ppm): 2.54(s, 3H, -CH<sub>3</sub>), 6.93~8.03(m, 13H, ArH), 9.86(s, 1H, -NH-), 10.47(br. s, 1H, -NH-), 11.12(s, 1H, -NH-)

[0280] **화학식 1-22의 제조**

[0281] Ethanol에 녹인 5 % 초산 용액(5 mL)에 1-(5-phenyl-(1H-benzo[d]imidazol-2-yl)methanone(0.2 g, 0.75 mmole)와 아미노티오우레아 f4(104 mg, 0.75 mmole)를 넣고, 8 시간 가열 환류하였다. 반응혼합물을 실온으로 냉각하고 반응혼합물을 감압증류한 후 column chromatography (EtOAc:n-Hexane = 1:1)( $R_f$  = 0.30)로 정제하여

흰색 고체인(E)-1-(1-(5-phenyl)methanone-1H-benzo[d]imidazol-2-yl)ethylidene-4-p-tolylthiosemicarbazide (화학식 1-22, 0.12 g, yield: 37 %)를 수득하였다.

[0282] Yield 37 %, Melting Point: 140.7 °C,  $R_f$  = 0.30 (EtOAc:n-Hexane = 1:1)

[0283]  $^1\text{H}$  NMR : 2.18(s, 3H, Ar-CH<sub>3</sub>), 2.48(s, 3H, -CH<sub>3</sub>), 6.92~8.83(m, 12 H, ArH), 9.86(s, 1H, -NH-), 10.47(br. s, 1H, -NH-), 11.12(s, 1H, -NH-)

[0285] **화학식 1-23의 제조**

[0286] Ethanol에 녹인 5 % 초산 용액(5 mL)에 1-(5-phenyl-(1H-benzo[d]imidazol-2-yl)methanone(0.2 g, 0.75 mmole)와 아미노티오우레아 f7(105 mg, 0.75 mmole)를 넣고, 8 시간 가열 환류하였다. 반응혼합물을 실온으로 냉각하고 반응혼합물을 감압증류한 후 column chromatography (EtOAc:n-Hexane = 1:1)( $R_f$  = 0.26)로 정제하여 흰색 고체인(E)-1-(1-(5-phenyl)methanone-1H-benzo[d]imidazol-2-yl)ethylidene-4-p-methoxyphenylthiosemicarbazide (화학식 1-23, 0.12 g, yield: 38 %)를 수득하였다.

[0287] Yield 38 %, Melting Point: 144 °C,  $R_f$  = 0.26 (EtOAc:n-Hexane = 1:1)

[0288]  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>,  $\delta$ , ppm): 2.49(s, 3H, -CH<sub>3</sub>), 3.79(s, 3H, -OCH<sub>3</sub>), 7.00~8.03(m, 12 H, ArH), 10.34(s, 1H, -NH-), 11.14(br. s, 1H, -NH-), 13.22(s, 1H, -NH-)

[0290] **화학식 1-24의 제조**

[0291] Ethanol에 녹인 5 % 초산 용액(5 mL)에 1-(5-phenyl-(1H-benzo[d]imidazol-2-yl)methanone(0.2 g, 0.75 mmole)와 아미노티오우레아 f10(105 mg, 0.75 mmole)를 넣고, 8 시간 가열 환류하였다. 반응혼합물을 실온으로 냉각하고 반응혼합물을 감압증류한 후 column chromatography (EtOAc:n-Hexane = 1:1)( $R_f$  = 0.14)로 정제하여 흰색 고체인(E)-1-(1-(5-phenyl)methanone-1H-benzo[d]imidazol-2-yl)ethylidene-4-p-chlorophenylthiosemicarbazide (화학식 1-24, 0.11 g, yield: 32 %)를 수득하였다.

[0292] Yield 32 %, Melting Point: 151 °C,  $R_f$  = 0.14 (EtOAc:n-Hexane = 1:1)

[0293]  $^1\text{H}$  NMR : 2.53(s, 3H, -CH<sub>3</sub>), 7.05~8.19(m, 12H, ArH), 9.73(s, 1H, -NH-), 11.59(br. s, 1H, -NH-), 13.22(s, 1H, -NH-)

[0295] **화학식 1-25의 제조**

[0296] Ethanol에 녹인 5 % 초산 용액(5 mL)에 1-(5-phenyl-(1H-benzo[d]imidazol-2-yl)methanone(0.2 g, 0.75 mmole)와 아미노티오우레아 f14(105 mg, 0.75 mmole)를 넣고, 8 시간 가열 환류하였다. 반응혼합물을 실온으로 냉각하고 반응혼합물을 감압증류한 후 column chromatography (EtOAc:n-Hexane = 1:1)( $R_f$  = 0.14)로 정제하여 흰색 고체인(E)-1-(1-(5-phenyl)methanone-1H-benzo[d]imidazol-2-yl)ethylidene-4-p-fluorophenylthiosemicarbazide(화학식 1-25, 0.13 g, yield: 40 %)를 수득하였다.

[0297] Yield 40 %, Melting Point: 149.5 °C,  $R_f$  = 0.14 (EtOAc:n-Hexane = 1:1)

[0298]  $^1\text{H}$  NMR : 2.58(s, 3H, -CH<sub>3</sub>), 6.99~8.22(m, 12 H, ArH), 8.94(s, 1H, -NH-), 9.39(br. s, 1H, -NH-), 10.75(s, 1H, -NH-)

[0300] **화학식 1-26의 제조**

[0301] Ethanol에 녹인 5 % 초산 용액(5 mL)에 1-(5-(4-fluorophenyl)-1H-benzo[d]imidazol-2-yl)methanone(0.2 g,

0.53 mmole)와 아미노티오우레아 f1(88.8 mg, 0.53 mmole)를 넣고, 8 시간 가열 환류하였다. 반응혼합물을 실온으로 냉각하고 반응혼합물을 감압증류한 후 column chromatography (EtOAc:n-Hexane = 1:1)( $R_f$  = 0.03)로 정제하여 흰색 고체인 (E)-1-(1-(5-(p-fluorophenyl)methanone-1H-benzo[d]imidazol-2-yl)ethylidene-4-phenylthiosemicarbazide (화학식 1-26, 0.11 g, yield: 48 %)를 수득하였다.

[0302] Yield 48 %, Melting Point: 138.4 °C,  $R_f$  = 0.03 (EtOAc:n-Hexane = 1:1)

[0303]  $^1\text{H}$  NMR : 2.44(s, 3H, -CH<sub>3</sub>), 7.02~7.65(m, 12 H, ArH), 8.20(s, 1H, -NH-), 8.81(br. s, 1H, -NH-), 10.20(s, 1H, -NH-)

[0305] **화학식 1-27의 제조**

[0306] Ethanol에 녹인 5 % 초산 용액(5 mL)에 1-(5-(4-fluorophenyl)-1H-benzo[d]imidazol-2-yl)methanone(0.2 g, 0.53 mmole)와 아미노티오우레아 f4(96.3 mg, 0.53 mmole)를 넣고, 8 시간 가열 환류하였다. 반응혼합물을 실온으로 냉각하고 반응혼합물을 감압증류한 후 column chromatography (EtOAc:n-Hexane = 1:1)( $R_f$  = 0.04)로 정제하여 흰색 고체인 (E)-1-(1-(5-(p-fluorophenyl)methanone-1H-benzo[d]imidazol-2-yl)ethylidene-4-phenylthiosemicarbazide (화학식 1-27, 0.11 g, yield: 46 %)를 수득하였다.

[0307] Yield 46 %, Melting Point: 142.4 °C,  $R_f$  = 0.04 (EtOAc:n-Hexane = 1:1)

[0308]  $^1\text{H}$  NMR : 2.32(s, 3H, Ar-CH<sub>3</sub>), 2.44(s, 3H, -CH<sub>3</sub>), 7.00~8.25(m, 11H, ArH), 8.78(s, 1H, -NH-), 10.16(br. s, 1H, -NH-), 12.47(s, 1H, -NH-)

[0310] **화학식 1-28의 제조**

[0311] Ethanol에 녹인 5 % 초산 용액(5 mL)에 1-(5-(4-fluorophenyl)-1H-benzo[d]imidazol-2-yl)methanone(0.2 g, 0.53 mmole)와 아미노티오우레아 f7(0.10 g, 0.53 mmole)를 넣고, 8 시간 가열 환류하였다. 반응혼합물을 실온으로 냉각하고 반응혼합물을 감압증류한 후 column chromatography (EtOAc:n-Hexane = 1:1)( $R_f$  = 0.03)로 정제하여 흰색 고체인 (E)-1-(1-(5-(p-fluorophenyl)methanone-1H-benzo[d]imidazol-2-yl)ethylidene-4-p-methoxyphenylthiosemicarbazide (화학식 1-28, 0.11 g, yield: 45 %)를 수득하였다.

[0312] Yield 45 %, Melting Point: 142.9 °C,  $R_f$  = 0.03 (EtOAc:n-Hexane = 1:1)

[0313]  $^1\text{H}$  NMR : 2.45(s, 3H, -CH<sub>3</sub>), 3.78(s, 3H, -OCH<sub>3</sub>), 6.75~8.16(m, 11H, ArH), 8.80(s, 1H, -NH-), 10.16(br. s, 1H, -NH-), 12.47(s, 1H, -NH-)

[0315] **화학식 1-29의 제조**

[0316] Ethanol에 녹인 5 % 초산 용액(5 mL)에 1-(5-(4-fluorophenyl)-1H-benzo[d]imidazol-2-yl)methanone (0.2 g, 0.53 mmole)와 아미노티오우레아 f10(0.11 g, 0.53 mmole)를 넣고, 8 시간 가열 환류하였다. 반응혼합물을 실온으로 냉각하고 반응혼합물을 감압증류한 후 column chromatography (EtOAc:n-Hexane = 1:1)( $R_f$  = 0.04)로 정제하여 흰색 고체인 (E)-1-(1-(5-(p-fluorophenyl)methanone-1H-benzo[d]imidazol-2-yl)ethylidene-4-p-chlorophenylthiosemicarbazide (화학식 1-29, 0.11 g, yield: 40 %)를 수득하였다.

[0317] Yield 40 %, Melting Point: 139.6 °C,  $R_f$  = 0.04 (EtOAc:n-Hexane = 1:1)

[0318]  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>,  $\delta$ , ppm): 2.55(s, 3H, -CH<sub>3</sub>), 7.34~8.04(m, 11H, ArH), 10.43(s, 1H, -NH-), 11.29(br. s, 1H, -NH-), 13.13(s, 1H, -NH-)

[0320] **화학식 1-30의 제조**

[0321] Ethanol에 녹인 5 % 초산 용액(5 mL)에 1-(5-(4-methylphenyl)-1H-benzo[d]imidazol-2-yl)methanone(0.2 g, 0.71 mmole)와 아미노티오우레아 f1(0.12 g, 0.71 mmole)를 넣고, 8 시간 가열 환류하였다. 반응혼합물을 실온으로 냉각하고 반응혼합물을 감압증류한 후 column chromatography (EtOAc:n-Hexane = 1:1)( $R_f$  = 0.15)로 정제하여 흰색 고체인 (E)-1-(1-(5-(p-methylphenyl)methanone-1H-benzo[d]imidazol-2-yl)ethylidene-4-phenylthiosemicarbazide (화학식 1-30, 0.12 g, yield: 39 %)를 수득하였다.

[0322] Yield 39 %, Melting Point: 180 °C,  $R_f$  = 0.15 (EtOAc:n-Hexane = 1:1)

[0323]  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz, DMSO- $d_6$ ,  $\delta$ , ppm): 2.40(s, 3H, Ar-CH<sub>3</sub>), 2.55(s, 3H, -CH<sub>3</sub>), 7.30~8.02(m, 12H, ArH), 10.42(s, 1H, -NH-), 11.21(br. s, 1H, -NH-), 12.32 (s, 1H, -NH-)

[0325] **화학식 1-31의 제조**

[0326] Ethanol에 녹인 5 % 초산 용액(5 mL)에 1-(5-(4-methylphenyl)-1H-benzo[d]imidazol-2-yl)methanone(0.2 g, 0.71 mmole)와 아미노티오우레아 f4(0.13 g, 0.71 mmole)를 넣고, 8시간 가열 환류하였다. 반응혼합물을 실온으로 냉각하고 반응혼합물을 감압증류한 후 column chromatography (EtOAc:n-Hexane = 1:1)( $R_f$  = 0.15)로 정제하여 흰색 고체인 (E)-1-(1-(5-(p-methylphenyl)methanone-1H-benzo[d]imidazol-2-yl)ethylidene-4-p-tolylthiosemicarbazide (화학식 1-31, 0.11 g, yield: 35 %)를 수득하였다.

[0327] Yield 35 %, Melting Point: 194 °C,  $R_f$  = 0.15 (EtOAc:n-Hexane = 1:1)

[0328]  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz, DMSO- $d_6$ ,  $\delta$ , ppm): 2.28(s, 3H, Ar-CH<sub>3</sub>), 2.34(s, 3H, Ar-CH<sub>3</sub>), 2.43(s, 3H, -CH<sub>3</sub>), 7.30~8.02(m, 12H, ArH), 10.42(s, 1H, -NH-), 11.21(br. s, 1H, -NH-), 12.32 (s, 1H, -NH-)

[0330] **화학식 1-32의 제조**

[0331] Ethanol에 녹인 5 % 초산 용액(5 mL)에 1-(5-(4-methylphenyl)-1H-benzo[d]imidazol-2-yl)methanone(0.2 g, 0.71 mmole)와 아미노티오우레아 f7(0.14 g, 0.71 mmole)를 넣고, 8 시간 가열 환류하였다. 반응혼합물을 실온으로 냉각하고 반응혼합물을 감압증류한 후 column chromatography (EtOAc:n-Hexane = 1:1)( $R_f$  = 0.14)로 정제하여 흰색 고체인 (E)-1-(1-(5-(p-methylphenyl)methanone-1H-benzo[d]imidazol-2-yl)ethylidene-4-p-methoxyphenylthiosemicarbazide (화학식 1-32, 0.13 g, yield: 39 %)를 수득하였다.

[0332] Yield 39 %, Melting Point: 135 °C,  $R_f$  = 0.14 (EtOAc:n-Hexane = 1:1)

[0333]  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz, DMSO- $d_6$ ,  $\delta$ , ppm): 2.43(s, 3H, Ar-CH<sub>3</sub>), 2.53(s, 3H, Ar-CH<sub>3</sub>), 3.80(s, 3H, -OCH<sub>3</sub>), 6.98~8.01(m, 11H, ArH), 10.34(s, 1H, -NH-), 11.14(br. s, 1H, -NH-), 13.20 (s, 1H, -NH-)

[0335] **화학식 1-33의 제조**

[0336] Ethanol에 녹인 5 % 초산 용액(5 mL)에 1-(5-(propylthio)-1H-benzo[d]imidazol-2-yl)methanone(0.2 g, 0.85 mmole)와 아미노티오우레아 f1(0.14 g, 0.85 mmole)를 넣고, 8시간 가열 환류하였다. 반응혼합물을 실온으로 냉각하고 반응혼합물을 감압증류한 후 column chromatography (EtOAc:n-Hexane = 1:1)( $R_f$  = 0.08)로 정제하여 흰색 고체인 (E)-4-phenyl-1-(1-(1-(5-(propylthio)-1H-benzo[d]imidazol-2-yl)ethylidene)thiosemicarbazide (화학식 1-33, 0.15 g, yield: 46 %)를 수득하였다.

[0337] Yield 46 %, Melting Point: 123.5 °C,  $R_f$  = 0.08 (EtOAc:n-Hexane = 1:1)

[0338]  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz, DMSO- $d_6$ ,  $\delta$ , ppm): 0.95(t, 3H, S-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 1.45(m, 1H, S-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 1.63(m, 1H, S-

CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 2.79 (s, 3H, -CH<sub>3</sub>), 2.80(m, 1H, S-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 2.88(m, 1H, S-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 7.24~7.97(m, 8H, ArH), 10.39(s, 1H, -NH-), 11.10(br. s, 1H, -NH-), 13.16 (s, 1H, -NH-)

[0340] 화학식 1-34의 제조

[0341] Ethanol에 녹인 5 % 초산 용액(5 mL)에 1-(5-(propylthio)-1H-benzo[d]imidazol-2-yl)methanone(0.2 g, 0.85 mmole)와 아미노티오우레아 f4(0.15 g, 0.85 mmole)를 넣고, 8시간 가열 환류하였다. 반응혼합물을 실온으로 냉각하고 반응혼합물을 감압증류한 후 column chromatography (EtOAc:n-Hexane = 1:1)(R<sub>f</sub> = 0.14)로 정제하여 흰색 고체인 (E)-1-(1-(5-(propylthio)-1H-benzo[d]imidazol-2-yl)ethylidene)-4-p-tolylthiosemicarbazide (화학식 1-34, 0.12 g, yield: 35 %)를 수득하였다.

[0342] Yield 35 %, Melting Point: 131 °C, R<sub>f</sub> = 0.14 (EtOAc:n-Hexane = 1:1)

[0343] <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>, δ, ppm): 0.95(t, 3H, S-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 1.45(m, 1H, S-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 1.63(m, 1H, S-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 2.24 (s, 3H, Ar-CH<sub>3</sub>), 2.79 (s, 3H, -CH<sub>3</sub>), 2.80(m, 1H, S-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 2.88(m, 1H, S-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 7.25~7.97(m, 7H, ArH), 10.39(s, 1H, -NH-), 11.12(br. s, 1H, -NH-), 13.17 (s, 1H, -NH-)

[0345] 화학식 1-35의 제조

[0346] Ethanol에 녹인 5 % 초산 용액(5 mL)에 1-(5-(propylthio)-1H-benzo[d]imidazol-2-yl)methanone(0.2 g, 0.85 mmole)와 아미노티오우레아 f7(0.17 g, 0.85 mmole)를 넣고, 8 시간 가열 환류하였다. 반응혼합물을 실온으로 냉각하고 반응혼합물을 감압증류한 후 column chromatography (EtOAc:n-Hexane = 1:1)(R<sub>f</sub> = 0.05)로 정제하여 흰색 고체인 (E)-4-(4-methoxyphenyl)-1-(1-(5-(propylthio)-1H-benzo[d]imidazol-2-yl)ethylidene)thiosemicarbazide (화학식 1-35, 0.11 g, yield: 31 %)를 수득하였다.

[0347] Yield 31 %, Melting Point: 142 °C, R<sub>f</sub> = 0.05 (EtOAc:n-Hexane = 1:1)

[0348] <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>, δ, ppm): 0.95(t, 3H, S-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 1.48(m, 1H, S-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 1.64(m, 1H, S-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 2.54 (s, 3H, -CH<sub>3</sub>), 2.80(m, 1H, S-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 2.88(m, 1H, S-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 3.79 (s, 3H, -OCH<sub>3</sub>), 7.02~7.97(m, 7H, ArH), 10.36(s, 1H, -NH-), 11.10(br. s, 1H, -NH-), 13.15 (s, 1H, -NH-)

[0350] 화학식 1-36의 제조

[0351] Ethanol에 녹인 5 % 초산 용액(5 mL)에 1-(5-(propylthio)-1H-benzo[d]imidazol-2-yl)methanone(0.2 g, 0.85 mmole)와 아미노티오우레아 f10(0.17 g, 0.85 mmole)를 넣고, 8 시간 가열 환류하였다. 반응혼합물을 실온으로 냉각하고 반응혼합물을 감압증류한 후 column chromatography (EtOAc:n-Hexane = 1:1)(R<sub>f</sub> = 0.14)로 정제하여 흰색 고체인 (E)-4-(4-chlorophenyl)-1-(1-(5-(propylthio)-1H-benzo[d]imidazol-2-yl)ethylidene)thiosemicarbazide (화학식 1-36, 0.13 g, yield: 37 %)를 수득하였다.

[0352] Yield 37 %, Melting Point: 130 °C, R<sub>f</sub> = 0.14 (EtOAc:n-Hexane = 1:1)

[0353] <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>, δ, ppm): 0.95(t, 3H, S-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 1.48(m, 1H, S-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 1.64(m, 1H, S-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 2.54 (s, 3H, -CH<sub>3</sub>), 2.80(m, 1H, S-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 2.88(m, 1H, S-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 7.38~8.02(m, 7H, ArH), 10.44(s, 1H, -NH-), 12.57(br. s, 1H, -NH-), 13.30 (s, 1H, -NH-)

[0355] 화학식 1-37의 제조

[0356] Ethanol에 녹인 5 % 초산 용액(5 mL)에 1-(5-(propylthio)-1H-benzo[d]imidazol-2-yl)methanone(0.2 g, 0.85 mmole)와 아미노티오우레아 f14(0.17 g, 0.85 mmole)를 넣고, 8 시간 가열 환류하였다. 반응혼합물을 실온으로

냉각하고 반응혼합물을 감압증류한 후 column chromatography (EtOAc:n-Hexane = 1:1)( $R_f$  = 0.08)로 정제하여 흰색 고체인 (E)-4-(4-fluorophenyl)-1-(1-(5-(propylthio)-1H-benzo[d]imidazol-2-yl)ethylidene)thiosemicarbazide (화학식 1-37, 0.14 g, yield: 41 %)를 수득하였다.

[0357] Yield 41 %, Melting Point: 128 °C,  $R_f$  = 0.08 (EtOAc:n-Hexane = 1:1)

[0358]  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz, DMSO- $d_6$ ,  $\delta$ , ppm): 0.95(t, 3H, S-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 1.48(m, 1H, S-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 1.64(m, 1H, S-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 2.53 (s, 3H, -CH<sub>3</sub>), 2.80(m, 1H, S-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 2.88(m, 1H, S-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 7.14-7.97(m, 7H, ArH), 10.44(s, 1H, -NH-), 11.22(br. s, 1H, -NH-), 13.13 (s, 1H, -NH-)

## [0360] 실시예 2. 유방암 세포주에서 티오세미카바존 유도체의 세포 생존율 측정

[0361] 인간 삼중음성유방암(triple-negative breast cancer, TNBC) 세포주인 MDA-MB-231 Cell seeding numbers:  $1(M231) \times 10^4$  cells/wells (confluency  $\geq 25$  %), HER2 양성 유방암(HER2 positive breast cancer, HER2+ BC) 세포주인 JIMT-1(Cell seeding numbers:  $1.2(JIMT) \times 10^4$  cells/wells (confluency  $\geq 25$  %))를 실험에 사용하였다.

[0362] 상기 세포주들은 각각 10 % fetal bovine serum (FBS), streptomycin-penicillin (100 U/ml) 및 Fungizone (0.625  $\mu\text{g/ml}$ )을 함유하는 Dulbecco's modified Eagle's medium (DMEM)에서 5 % CO<sub>2</sub>, 37 °C 환경으로 배양하였다.

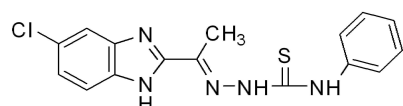
[0363] 상기 인간 삼중음성유방암 세포주 MDA-MB-231에서 화학식 1-1, 1-4, 1-5, 1-7, 1-10 및 1-11의 티오세미카바존 유도체를, 상기 인간 HER2 양성 유방암 세포주 JIMT-1에서 화학식 1-1, 1-4, 1-5, 1-7, 1-10 및 1-13의 이미다졸티오세미카바존 유도체를 각각 0, 0.5, 1, 5  $\mu\text{M}$ 의 다양한 농도로 72 시간 동안 처리한 후, MTS assay 기법으로 세포생존율을 측정하였다. MTS assay는 96 well plate에 24 시간 동안 세포를 부착시킨 후, 상기 티오세미카바존 유도체를 72 시간 동안 처리하여, MTS(3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-5-(3-carboxymethoxyphenyl)-2-(4-sulfophenyl)-2H-tetrazolium)로 4시간 동안 발색한 뒤, Spectramax Plus384 microplate analyzer를 이용하여 490 nm에서 흡광도로 측정하였다.

[0364] 측정된 결과를 도 1 및 2에 나타내었다. 도 1 및 2는 각각 MDA-MB-231 및 JIMT-1에 대한 세포생존율을 확인한 것이다.

[0365] 그 결과 상기 인간 유방암 세포주 MDA-MB-231 및 JIMT-1에서 상기 티오세미카바존 유도체들은 대부분이 농도 의존적으로 세포생존율을 저해하는 것이 확인되었다. 이에 화학식 1-1의 티오세미카바존 유도체를 정상세포 HEK293 및 MCF10A 세포주에 대해서도 세포 생존율을 확인하였으며, 그 결과 도 3에 나타낸 것과 같이 정상세포 HEK293 및 MCF10A와 비교하여 유방암 세포주에서 우수한 세포생존율 저해 효과가 확인되었다. 또한, 화학식 1-7의 티오세미카바존 유도체를 HEK293 세포주와 비교하였으며, 그 결과 도 4에 나타낸 것과 같이 정상세포 HEK293와 비교하여 유방암 세포주에서 우수한 세포생존율 저해 효과가 확인되었다.

[0366] 또한, 공개된 하기 화학식 2의 티오카바존 유도체((E)-2-(1-(5-chloro-1H-benzo[d]imidazol-2-yl)ethylidene)-N-phenylhydrazine-1-carbothioamide, Indian Journal of Chemistry, Vol. 52B, 2013, pp 535-545)와 MDA-MB-231 및 JIMT-1에서 세포 생존율을 비교하여 도 5 및 도 6에 나타내었다.

[0367] [화학식 2]



[0368]

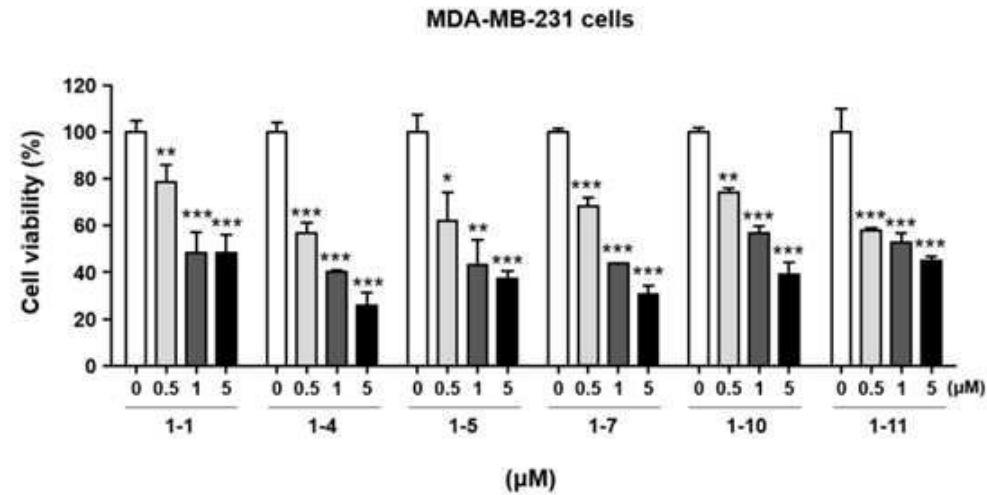
[0369] 그 결과, 본 발명의 티오세미카바존 화합물에서 더 우수한 세포 생존율 저해 효과가 확인되었다.

[0371] 이상으로 본 발명 내용의 특정한 부분을 상세히 기술하였는바, 당업계의 통상의 지식을 가진 자에게 있어서, 이러한 구체적 기술은 단지 바람직한 실시 양태일 뿐이며, 이에 의해 본 발명의 범위가 제한되는 것이 아닌 점은

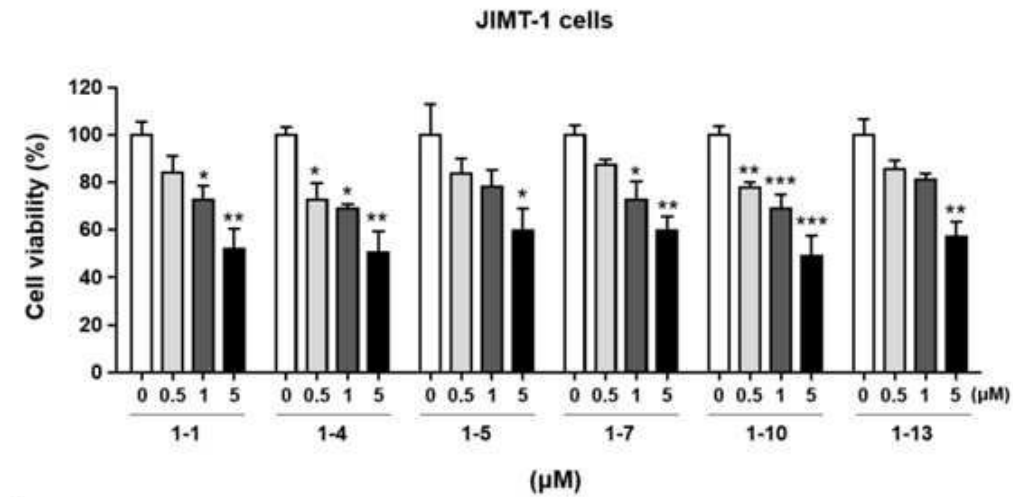
명백할 것이다. 따라서 본 발명의 실질적인 범위는 첨부된 청구항들과 그것들의 등가물에 의하여 정의된다고 할 것이다.

## 도면

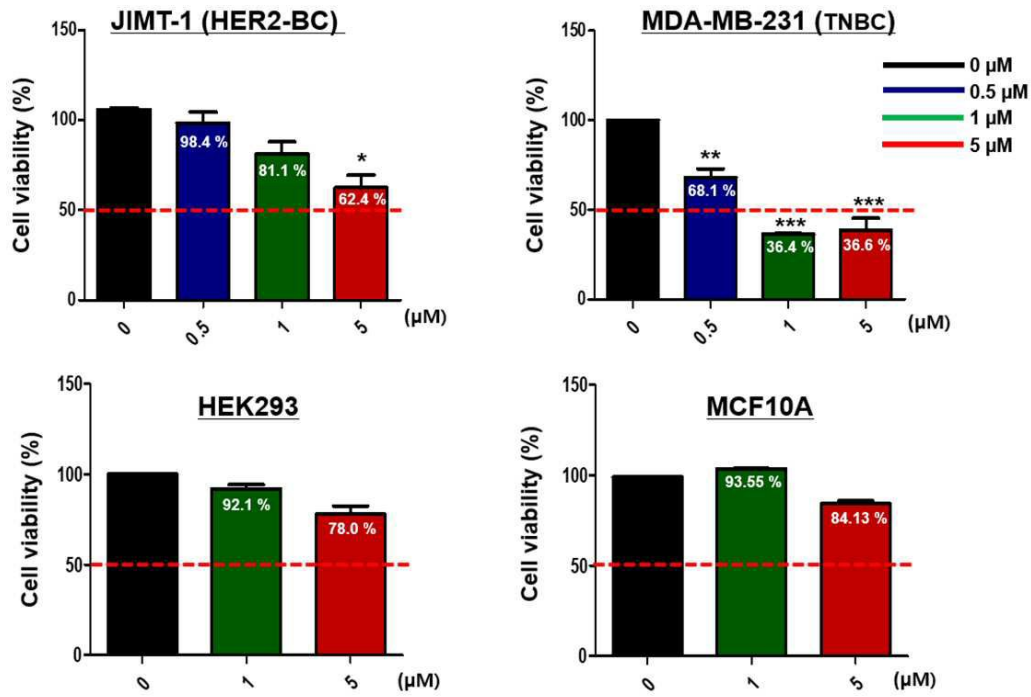
### 도면1



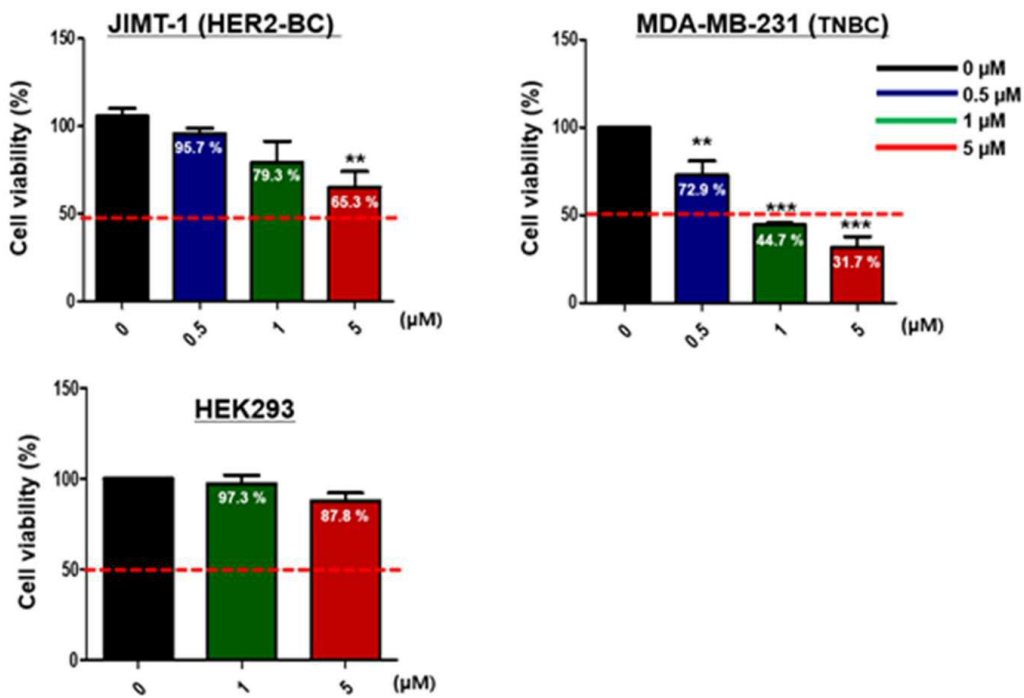
### 도면2



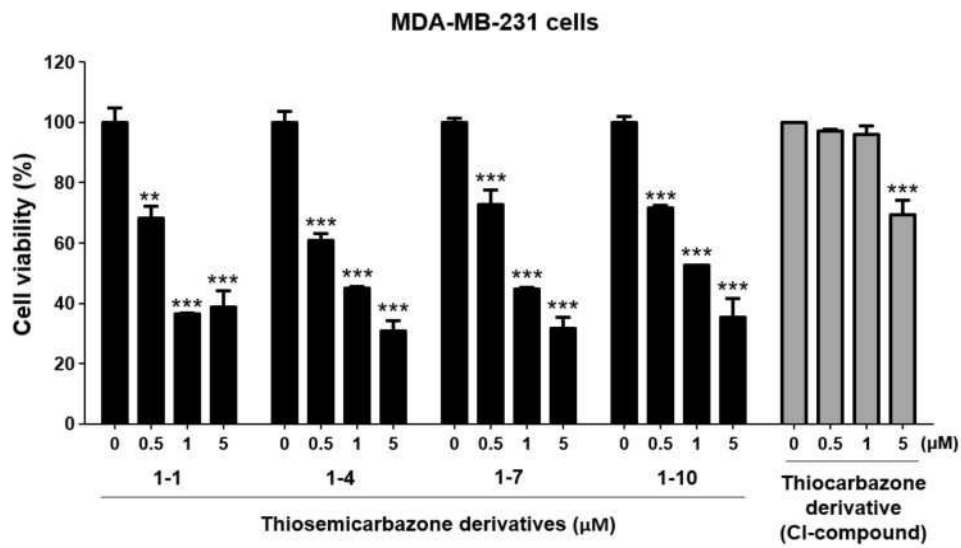
도면3



도면4



도면5



도면6

