



**(19) 대한민국특허청(KR)**  
**(12) 등록특허공보(B1)**

(45) 공고일자 2014년01월14일  
 (11) 등록번호 10-1350077  
 (24) 등록일자 2014년01월03일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)  
*C07D 209/36* (2006.01) *C07D 209/24* (2006.01)  
*A61K 49/00* (2006.01) *G01N 33/58* (2006.01)

(21) 출원번호 10-2011-0086551  
 (22) 출원일자 2011년08월29일  
 심사청구일자 2011년08월29일

(65) 공개번호 10-2012-0065926  
 (43) 공개일자 2012년06월21일

(30) 우선권주장  
 1020100126694 2010년12월13일 대한민국(KR)

(56) 선행기술조사문헌  
 WO2006023590 A1\*  
 WO2000046196 A1\*  
 US20020091148 A1\*  
 미국 특허공보 US5424329(1995.06.13.), J. Heterocyclic Chem. 35권, 421-428쪽. (1998), Bioorganic & Medicinal Chemistry 3권, 1호, 67-77쪽. (1995), Journal of Heterocyclic Chemistry, 16(2), pp. 221-224.(1979)\*  
 \*는 심사관에 의하여 인용된 문헌

(73) 특허권자  
**한국화학연구원**  
 대전광역시 유성구 가정로 141 (장동)

(72) 발명자  
**안진희**  
 대전광역시 유성구 유성대로 1741, - 109동 804호 (전민동, 세종아파트)

**배명애**  
 대전광역시 유성구 장대로71번길 34, - 101동 401호 (장대동, 장대푸르지오)

**최은복**  
 대전광역시 유성구 배울2로 6, 한화아파트 101동 2303호 (관평동)

(74) 대리인  
**특허법인태백**

전체 청구항 수 : 총 10 항

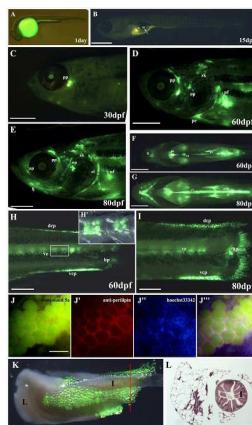
심사관 : 이정아

(54) 발명의 명칭 **신규한 3-인돌리논 유도체 및 이를 포함하는 조성물**

**(57) 요약**

본 발명은 신규한 3-인돌리논 유도체 및 이를 포함하는 조성물에 관한 것으로, 이는 특히 지방을 선택적으로 형광염색할 수 있어 생체 진단시약으로 유용하게 사용될 수 있다.

**대표도 - 도3**



이 발명을 지원한 국가연구개발사업  
과제고유번호 KK-1003-D0  
부처명 산업기술연구회  
연구사업명 기관고유사업  
연구과제명 대사중후군 치료제 개발 연구  
기 여 율 1/1  
주관기관 한국화학연구원  
연구기간 2010.01.01 ~ 2010.12.31

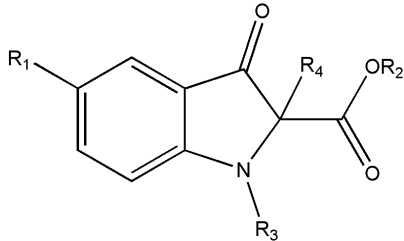
---

**특허청구의 범위**

**청구항 1**

하기 화학식 1 로 표시된 3-인돌리논 유도체 또는 그의 염:

[화학식 1]



R<sub>1</sub>은 C<sub>1-6</sub> 알콕시, C<sub>1-4</sub> 알킬로 치환되거나 치환되지 않은 C<sub>2-6</sub> 알케닐옥시, 벤질옥시 또는 C<sub>1-4</sub> 알콕시페닐이고;

R<sub>2</sub>는 C<sub>1-6</sub> 알킬이고;

R<sub>3</sub> 및 R<sub>4</sub>는 각각 독립적으로 C<sub>1-6</sub> 알킬, C<sub>1-4</sub> 알킬로 치환되거나 치환되지 않은 C<sub>2-6</sub> 알케닐, C<sub>2-6</sub> 알키닐, 벤질 또는 C<sub>3-6</sub> 사이클로알킬메틸임.

**청구항 2**

제 1 항에 있어서,

상기 R<sub>1</sub>이 메톡시, 알릴옥시, 벤질옥시 또는 메톡시페닐이고, 상기 R<sub>2</sub>가 메틸, 에틸 또는 이소프로필이고, 상기 R<sub>3</sub> 및 R<sub>4</sub>가 각각 독립적으로 메틸, 프로필, 헥실, 알릴, 프로파길, 2-부테닐, 3-메틸부트-2-에닐, 벤질 또는 사이클로프로필메틸인 것을 특징으로 하는 3-인돌리논 유도체 또는 그의 염.

**청구항 3**

제 1 항에 있어서,

하기 화합물들로 이루어진 군으로부터 선택되는 것을 특징으로 하는 3-인돌리논 유도체 또는 그의 염:

- 에틸 1,2-디알릴-5-메톡시-3-옥소인돌린-2-카복실레이트;
- 에틸 1,2-디((E)-부트-2-에닐)-5-메톡시-3-옥소인돌린-2-카복실레이트;
- 에틸 5-메톡시-1,2-비스(3-메틸부트-2-에닐)-3-옥소인돌린-2-카복실레이트;
- 에틸 1-알릴-5-메톡시-2-(3-메틸부트-2-에닐)-3-옥소인돌린-2-카복실레이트;
- (E)-에틸 2-알릴-1-(부트-2-에닐)-5-메톡시-3-옥소인돌린-2-카복실레이트;
- 에틸 5-메톡시-3-옥소-1,2-디(프로프-2-에닐)인돌린-2-카복실레이트;
- 에틸 2-알릴-1-벤질-5-메톡시-3-옥소인돌린-2-카복실레이트;
- 에틸 1,2-디벤질-5-메톡시-3-옥소인돌린-2-카복실레이트;
- 에틸 2-알릴-5-메톡시-1-메틸-3-옥소인돌린-2-카복실레이트;
- 에틸 5-메톡시-1,2-디메틸-3-옥소인돌린-2-카복실레이트;

에틸 5-메톡시-3-옥소-1,2-디프로필인돌린-2-카복실레이트;  
에틸 1,2-디헥실-5-메톡시-3-옥소인돌린-2-카복실레이트;  
에틸 1,2-비스(사이클로프로필메틸)-5-메톡시-3-옥소인돌린-2-카복실레이트;  
에틸 1,2-디알릴-5-(4-메톡시페닐)-3-옥소인돌린-2-카복실레이트;  
에틸 1,2-디알릴-5-(벤질옥시)-3-옥소인돌린-2-카복실레이트; 및  
에틸 1,2-디알릴-5-(알릴옥시)-3-옥소인돌린-2-카복실레이트.

**청구항 4**

제 1 항 내지 제 3 항 중 어느 한 항의 3-인돌린은 유도체 또는 그의 염을 유효성분으로 포함하는 형광염색용 조성물.

**청구항 5**

제 4 항에 있어서,  
상기 3-인돌린은 유도체 또는 그의 염을 1 내지 100  $\mu\text{M}$ 의 농도로 포함하는 것을 특징으로 하는 형광염색용 조성물.

**청구항 6**

제 4 항에 있어서,  
상기 조성물이 지방을 형광염색하는 데에 사용되는 것을 특징으로 하는 형광염색용 조성물.

**청구항 7**

제 4 항에 있어서,  
상기 조성물이 생체를 진단하는 데에 이용되는 것을 특징으로 하는 형광염색용 조성물.

**청구항 8**

제 1 항 내지 제 3 항 중 어느 한 항의 3-인돌린은 유도체 또는 그의 염을 유효성분으로 포함하는 지질 검출용 키트.

**청구항 9**

제 1 항 내지 제 3 항 중 어느 한 항의 3-인돌린은 유도체 또는 그의 염을 유효성분으로 포함하는 대사증후군 진단용 키트.

**청구항 10**

제9항에 있어서,  
상기 대사증후군은 비만, 고혈압, 동맥경화, 고지혈증, 간질환, 과인슐린혈증, 과혈당증, 1형 및 2형 당뇨병, 인슐린 내성을 특징으로 하는 이상지혈증, 발기부전, 심혈관계질환 및 허혈성질환을 포함하는 것인 대사증후군

진단용 키트.

**명세서**

**기술분야**

[0001] 본 발명은 신규한 3-인돌리논 유도체 및 이를 포함하는 조성물에 관한 것이다.

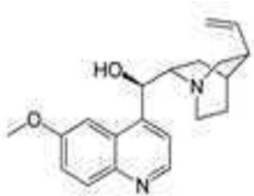
**배경기술**

[0002] 분자영상(molecular imaging)은 세포 또는 생체 내에서 일어나는 분자 수준의 변화, 즉 생화학적, 생물학적 변화를 감지하고 이를 영상화하는 기술로서, 복잡한 생명현상을 이해하고 질병의 조기진단 등을 위해서 살아있는 세포를 직접 관찰할 수 있는 방법이다.

[0003] 한편, 저분자 형광물질은 화학적 생물학(chemical biology) 분야에서 절대적으로 필요한 연구 수단으로서, 이들은 다양한 곳에서 생분자 라벨(biomolecular labels), 효소 기질(enzyme substrates), 환경 지표(environmental indicators), 그리고 세포내 착색체(cellular stains) 등으로 작용한다. 그리하여, 저분자 형광물질은 세포내의 생명 현상을 실시간으로 이미징할 수 있는 것으로 알려져 있다.

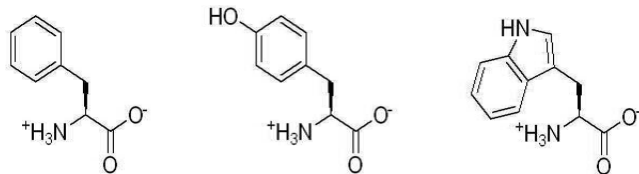
[0004] 저분자 형광물질을 이용하여 세포를 형광염색할 경우 방사능 물질로 인해 발생하는 위험이 없고, 감도가 뛰어나며, 감지 시간이 짧고, 비침습적이라는 장점이 있어, 세포 형광염색용 저분자 형광물질에 대한 연구가 국내외 연구진에 의해서 다양하게 진행되어 왔다. 지금까지 알려진 형광물질들을 도 1에 분류하여 나타내었으며, 이들의 발광 특성을 구체적으로 정리하면 다음과 같다:

[0005] 가장 먼저 발견된 저분자 형광물질은 퀴닌(quinine)인데, 퀴닌은  $\lambda_{max} = 347 \text{ nm}$ ,  $\lambda_{em} = 448 \text{ nm}$ ,  $\epsilon = 5.4 \times 10^3 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ ,  $F = 0.55$ 를 나타낸다.



[0006]

[0007] 천연 아미노산 중에서는 페닐알라닌, 티로신, 트립토판 등이 형광성을 내는데, 이중 트립토판이 가장 형광성 있는 화합물이다.

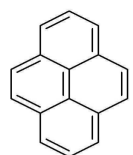


[0008] Phenylalanine

Tyrosine

Tryptophan

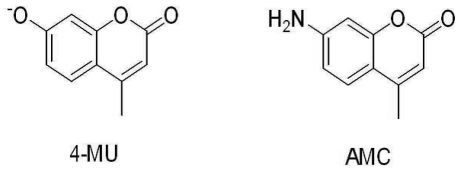
[0009] 피렌-유도된 분자는 형광 프로브(fluorescent probe)로 이용되고 있다. 피렌은  $\lambda_{max} = 340 \text{ nm}$ ,  $\lambda_{em} = 376 \text{ nm}$ ,  $\epsilon = 4.3 \times 10^4 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ ,  $F = 0.75$ 를 나타낸다. 페릴렌(perylene)은 좋은 양자 수율(quantum yield)을 보여주는 물질이지만 물에서 이용되기 어렵다는 단점을 갖는다.



[0010] Pyrene

[0011] 또한 안트라센(anthracene)과 같은 또다른 폴리사이클릭 방향족 분자들도 유용한 형광 도구(fluorescent tool)로 이용되고 있다.

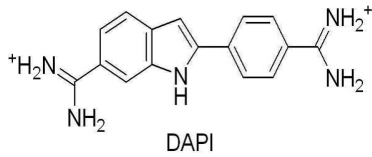
[0012] 쿠마린(coumarins)은 형광체(fluorophore)이면서 약학물질(pharmaceuticals)이기도 하며, 이의 대표적인 예로는 7-하이드록시-4-메틸쿠마린 (즉, 4-메틸움벨리페론(methylumbelliferone): 4-MU)을 들 수 있다. 염기 조건 하에서, 4-MU의 페놀레이트 형태(phenolate form)는  $\lambda_{max} = 360 \text{ nm}$ ,  $\lambda_{em} = 450 \text{ nm}$ ,  $\epsilon = 1.7 \times 10^4 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ ,  $F = 0.63$ 을 나타낸다. 또한 AMC의 경우도 유사한 스펙트럼 물성을 보여준다.



[0013]

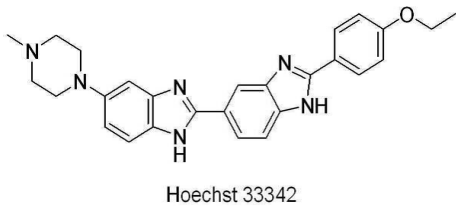
[0014] 쿠마린의 경우 큰 스토크스 시프트(stokes shift)를 보여주는데, 이는 여기상태(excitation)에서 큰 쌍극자(dipole)의 변화와 용매 재조직(solvent reorganization)에 의한 에너지 손실(energy loss)에 의한 것이며, 3,4-위치에 치환체가 붙은 화합물의 유용한 생분자 프로브(biomolecular probe)로 이용되고 있다.

[0015] 인돌 및 이미다졸: 전통적인 인돌 유도체는 트립토판이다. 이후에 4',6-디아미디노-2-페닐인돌(DAPI, 도 1에서 12)이 DNA의 작은 그루브(minor groove)에 결합하고 이는 DNA를 염색하는 데에 유용하게 이용되고 있다.



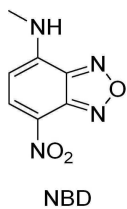
[0016]

[0017] 또한, 디벤즈이미다졸 염료는 Hoechst AG에서 개발되어 유용한 DNA-결합 프로브로 이용되고 있다. Hoechst 33342(도 1에서 13)의 경우 세포 침투성이 있어 살아있는 세포에서 이용이 가능하다.



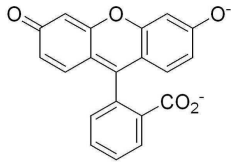
[0018]

[0019] 4-니트로벤즈-2-옥사-1,3-디아졸(NBD)은 잘 알려진 저분자 헤테로사이클릭 형광체이다. NBD-C1의 주요 아민 부가생성물(예컨대 도 1에서 14)은 녹색 영역의 빛을 방출한다.  $\lambda_{max} = 465 \text{ nm}$ ,  $\lambda_{em} = 535 \text{ nm}$ ,  $\epsilon = 2.2 \times 10^4 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ ,  $F = 0.3$ .



[0020]

[0021] 잘 알려진 잔틴 염료 플루오레신(xanthenes dye fluorescein)(도 1에서 17)은 1871년 Bayer에 의해서 합성되었다. 플루오레신은 현재 생화학, 생물학, 그리고 의학 분야에서 가장 널리 이용되고 있는 형광체이다.

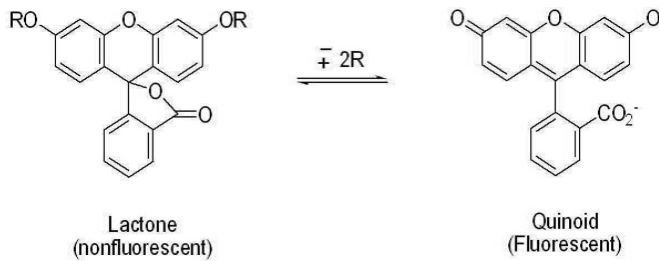


Fluorescein

[0022]

[0023]

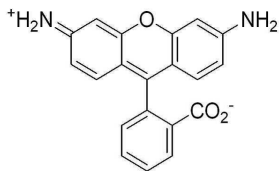
플루오레신은 수용액 중에서 몇 가지 재미있는 성질을 보여주며, 가장 생물학적으로 유용한 분자형태는 일가음이온(monoanion)과 이가음이온(dianion)이다. 이가음이온의 경우  $\lambda_{max} = 490 \text{ nm}$ ,  $\lambda_{em} = 514 \text{ nm}$ ,  $\epsilon = 9.3 \times 10^4 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ ,  $F = 0.95$ 을 나타낸다. 플루오레신은 "닫힌(closed)" 락톤형(lactone form)과 "열린(open)" 퀴노이드형(quinoid form)으로 존재한다.



[0024]

[0025]

로다민(rhodamine)은 플루오레신의 동급체(isologue)로서 널리 이용되는 형광체이며, 대표적으로 Rh<sub>118</sub>은  $\lambda_{max} = 496 \text{ nm}$ ,  $\lambda_{em} = 517 \text{ nm}$ ,  $\epsilon = 7.4 \times 10^4 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ ,  $F = 0.92$ 를 나타낸다.

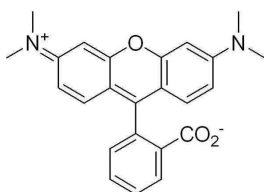


Rh<sub>118</sub>

[0026]

[0027]

테트라메틸로다민(TMR, 도 1에서 19)은 긴 여기 및 방출 파장( $\lambda_{max} = 540 \text{ nm}$ ,  $\lambda_{em} = 565 \text{ nm}$ )을 나타내고 보통의 양자수율( $F = 0.68$ )을 나타낸다.

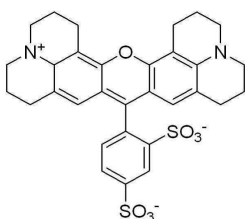


TMR

[0028]

[0029]

설포로다민(sulforhodamine) 101 (SRh<sub>101</sub>, 도 1에서 20)은 줄로리딘계 염료로서 높은 양자수율을 보여주며, Texas red라는 상표로서 판매되고 있다.



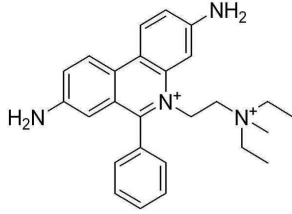
SRh<sub>101</sub>

[0030]

[0031]

페난트리딘(phenanthridine) 유도체는 높은 형광강도(fluorescence intensity)를 가지고 핵산(nucleic acid)과

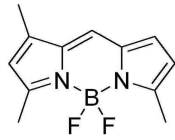
결합함으로써 DNA 인터칼레이터(intercalator)로서 널리 이용된다. 대표적으로 프로피디움(propidium, 도 1에서 23)이 있다. 이는 DNA 존재하에서  $\lambda_{max} = 535 \text{ nm}$ ,  $\lambda_{em} = 617 \text{ nm}$ ,  $e = 5.4 \times 10^3 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ ,  $F = 0.13$ 를 나타내며, 이 강도는 자유로운(free) 상태보다 20-30배 증가된다.



Propidium

[0032]

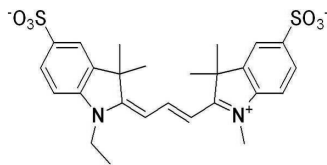
[0033] 보론 디플루오라이드 디피로메텐(boron difluoride dipyrromethene(BODIPY), 도 1에서 24)은 플루오레신과 유사한 파라미터(parameter)를 나타낸다 ( $\lambda_{max} = 505 \text{ nm}$ ,  $\lambda_{em} = 511$ ,  $e = 9.1 \times 10^4 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ ,  $F = 0.94$ ). 대표적으로 BODIPY-FL가 알려져 있다.



BODIPY-FL

[0034]

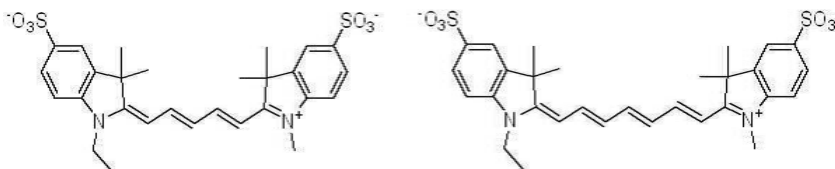
[0035] "시아닌 염료(cyanine dye)"는 2개의 질소 사이에 폴리메틴 결합(polymethine chain)을 가진 것을 의미한다 ( $R_2N-(CH=CH)_n-CH=N^+R_2$ ). Cy3 (도 1에서 26)은  $\lambda_{max} = 554 \text{ nm}$ ,  $\lambda_{em} = 568$ ,  $e = 1.3 \times 10^5 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ ,  $F = 0.14$ 를 나타내며, 이는 TMR과 유사한 성질을 보인다.



Cy3

[0036]

[0037] Cy5 (도 1에서 27)은 긴 파장을 보여주며,  $\lambda_{max} = 652 \text{ nm}$ ,  $\lambda_{em} = 672$ ,  $e = 2.0 \times 10^5 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ ,  $F = 0.18$ 을 나타낸다. 또한 Cy7 (도 1에서 28)은 더욱 긴 파장( $\lambda_{max} = 755 \text{ nm}$ ,  $\lambda_{em} = 788$ )과 낮은 양자수율( $F = 0.02$ )을 나타낸다.

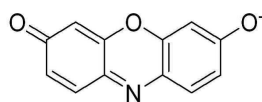


Cy5

Cy7

[0038]

[0039] 치환된 옥사진 화합물은 유용한 형광체이다. 리소루핀(resorufin, 도 1에서 30)은  $\lambda_{max} = 572 \text{ nm}$ ,  $\lambda_{em} = 585$ ,  $e = 5.6 \times 10^4 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ ,  $F = 0.74$ 를 나타낸다.



Resorufin

[0040]

[0041] 이와 같이, 다양한 저분자 형광물질이 개발되어 다양한 생명현상을 규명하고 있지만, 무궁무진한 새로운 생명현



상을 규명할 수 있는 저분자 형광물질에 대한 개발이 아직도 절실하게 요구되고 있다.

**발명의 내용**

**해결하려는 과제**

[0042] 따라서, 본 발명의 목적은 새로운 저분자 형광물질인 3-인돌리논 유도체 또는 그의 염을 제공하는 것이다.

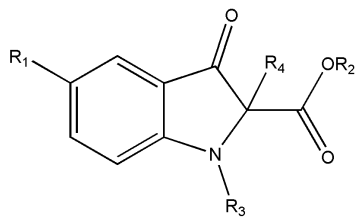
[0043] 본 발명의 다른 목적은 상기 3-인돌리논 유도체 또는 그의 염을 포함하는 조성물을 제공하는 것이다.

**과제의 해결 수단**

[0044] 상기와 같은 목적을 달성하기 위하여 본 발명은

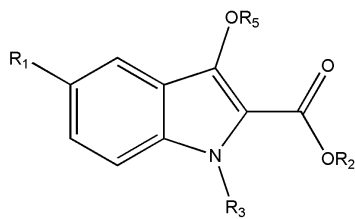
[0045] 하기 화학식 1 또는 2로 표시된 3-인돌리논 유도체 또는 그의 염을 제공한다:

**화학식 1**



[0046]

**화학식 2**



[0047]

[0048] R<sub>1</sub>은 수소, C<sub>1-6</sub> 알콕시, C<sub>1-4</sub> 알킬로 치환되거나 치환되지 않은 C<sub>2-6</sub> 알케닐옥시, 벤질옥시 또는 C<sub>1-4</sub> 알콕시페닐이 고;

[0049] R<sub>2</sub>는 C<sub>1-6</sub> 알킬이고;

[0050] R<sub>3</sub> 및 R<sub>4</sub>는 각각 독립적으로 수소, C<sub>1-6</sub> 알킬, C<sub>1-4</sub> 알킬로 치환되거나 치환되지 않은 C<sub>2-6</sub> 알케닐, C<sub>2-6</sub> 알키닐, 벤질 또는 C<sub>3-6</sub> 사이클로알킬메틸이고;

[0051] R<sub>5</sub>는 C<sub>1-6</sub> 알킬, C<sub>1-4</sub> 알킬로 치환되거나 치환되지 않은 C<sub>2-6</sub> 알케닐 또는 C<sub>3-6</sub> 사이클로알킬메틸이다.

[0052] 또한 본 발명은 상기 화학식 1 또는 2로 표시된 3-인돌리논 유도체 또는 그의 염을 유효성분으로 포함하는 형광 염색용 조성물, 지질검출용 키트, 대사증후군 진단용 키트를 제공한다.

**발명의 효과**

[0053] 본 발명에 따른 신규한 3-인돌리논 유도체 또는 그의 염은 특히 지방을 선택적으로 형광염색할 수 있어 생체 진

단시약으로 유용하게 사용될 수 있다. 따라서, 본 발명의 신규한 3-인돌리논 유도체 또는 그의 염을 포함하는 조성물을 신약개발을 위해 지방 조절 화합물을 발굴하는 스크리닝(screening) 작업에 응용하고 생물학적 현상을 연구하는 데에 유용하게 사용할 수 있다.

**도면의 간단한 설명**

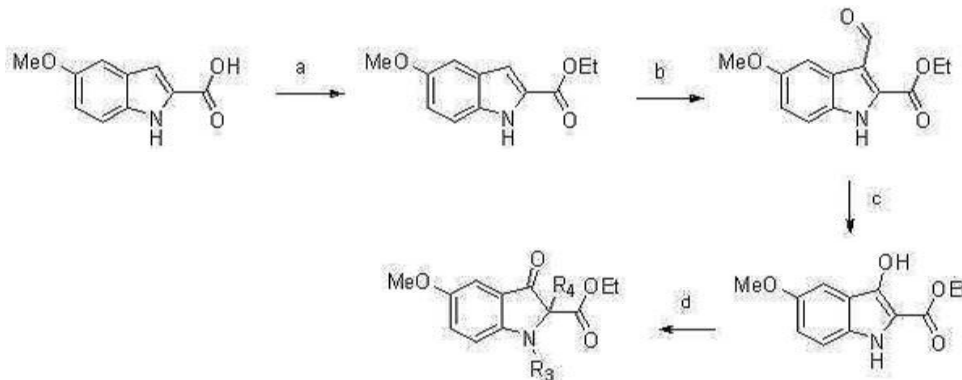
- [0054] 도 1은 종래의 형광물질들을 분류하여 구조식으로 나타낸 도면이고,
- 도 2는 실험예 1에서 분화 전 및 분화 후 세포를 형광현미경으로 관찰한 사진이고,
- 도 3은 실험예 2에서 염색 후 시간 경과에 따른 제브라피쉬 지방세포분화를 형광현미경으로 관찰한 사진이고,
- 도 4는 실험예 2에서 염색 후 제브라피쉬의 기아상태에서의, 그리고 먹이 제공급에 따른 지방 조직의 변화를 형광현미경으로 관찰한 사진이다.
- 도 5는 실시예 4의 화합물을 통한 미분화된 3T3-L1 세포에 대한 사진 (A, A'), 분화된 3T3-L1 세포에 대한 실시예 4의 화합물 염색 사진(B, B') 및 분화된 3T3-L1 세포에 대한 Nile Red의 염색 사진(C, C')를 나타낸다.
- 도 6은 실시예 4의 화합물(KR 68432)에 의해 염색된 다양한 종류의 세포에 대한 사진이다.
- 도 7은 실시예 4의 화합물(KR 68432)과 LipidTOX™와의 비교염색 결과 사진이다.
- 도 8은 실시예 4의 화합물(KR 68432)과 BODIPY 493/503와의 비교염색 결과 사진이다.
- 도 9는 실시예 4의 화합물(KR 68432)을 쥐에 경구투여 후 지방조직을 염색 정도를 관찰한 실험 결과 사진이다.

**발명을 실시하기 위한 구체적인 내용**

- [0055] 본원 명세서에서 사용되는 용어, 기술 등은 특별한 한정이 없는 한, 본 발명이 속하는 기술 분야에서 일반적으로 사용되는 의미로 사용된다. 또한, 본 명세서에 언급된 문헌들은 모두 본 발명을 설명하기 위한 문헌으로 본 명세서에 포함된다.
- [0056] 본 발명의 화학식 1 또는 2로 표시된 3-인돌리논 유도체에 있어서, 바람직하게는, 상기 R<sub>1</sub>은 수소, 메톡시, 알릴옥시, 벤질옥시 또는 메톡시페닐이고; 상기 R<sub>2</sub>는 메틸, 에틸 또는 이소프로필이고; 상기 R<sub>3</sub> 및 R<sub>4</sub>는 각각 독립적으로 수소, 메틸, 프로필, 헥실, 알릴, 프로파길, 2-부테닐, 3-메틸부트-2-에닐, 벤질 또는 사이클로프로필메틸이고; 상기 R<sub>5</sub>는 메틸, 프로필, 알릴 또는 사이클로프로필메틸이다.
- [0057] 본 발명에 따른 화학식 1 또는 2로 표시된 3-인돌리논 유도체 또는 그의 염 중 더욱 바람직한 화합물의 구체적인 예는 다음과 같다:
- [0058] 에틸 1,2-디알릴-5-메톡시-3-옥소인돌린-2-카복실레이트 (KR68425);
- [0059] 에틸 1,2-디알릴-3-옥소인돌린-2-카복실레이트 (KR68426);
- [0060] 에틸 1,2-디((E)-부트-2-에닐)-5-메톡시-3-옥소인돌린-2-카복실레이트 (KR68429);
- [0061] 에틸 5-메톡시-1,2-비스(3-메틸부트-2-에닐)-3-옥소인돌린-2-카복실레이트 (KR68432);
- [0062] 에틸 1-알릴-5-메톡시-2-(3-메틸부트-2-에닐)-3-옥소인돌린-2-카복실레이트 (KR68433);
- [0063] (E)-에틸 2-알릴-1-(부트-2-에닐)-5-메톡시-3-옥소인돌린-2-카복실레이트 (KR68434);
- [0064] 에틸 5-메톡시-3-옥소-1,2-디(프로프-2-에닐)인돌린-2-카복실레이트 (KR67705);
- [0065] 에틸 2-알릴-1-벤질-5-메톡시-3-옥소인돌린-2-카복실레이트 (KR68456);
- [0066] 에틸 3-(알릴옥시)-1-벤질-5-메톡시-인돌-2-카복실레이트 (KR68457);
- [0067] 에틸 1,2-디벤질-5-메톡시-3-옥소인돌린-2-카복실레이트 (KR68458);
- [0068] 에틸 2-알릴-5-메톡시-1-메틸-3-옥소인돌린-2-카복실레이트 (KR68459);

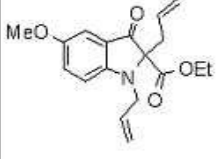
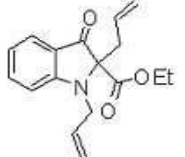
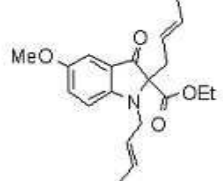
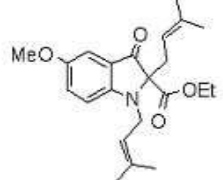
- [0069] 에틸 5-메톡시-1,2-디메틸-3-옥소인돌린-2-카복실레이트 (KR68461);
- [0070] 에틸 3,5-디메톡시-1-메틸-1H-인돌-2-카복실레이트 (KR68462);
- [0071] 에틸 5-메톡시-3-옥소-1,2-디프로필인돌린-2-카복실레이트 (KR67703);
- [0072] 에틸 5-메톡시-3-프로필-1-프로필-인돌-2-카복실레이트 (KR67704);
- [0073] 에틸 1,2-디헥실-5-메톡시-3-옥소인돌린-2-카복실레이트 (KR67796);
- [0074] 에틸 1,2-비스(사이클로프로필메틸)-5-메톡시-3-옥소인돌린-2-카복실레이트 (KR67833);
- [0075] 에틸 1,2-디알릴-5-(4-메톡시페닐)-3-옥소인돌린-2-카복실레이트 (KR67718);
- [0076] 에틸 1,2-디알릴-5-(벤질옥시)-3-옥소인돌린-2-카복실레이트 (KR67738);
- [0077] 1,2-비스(사이클로프로필메틸)-5-메톡시-3-옥소인돌린-2-카복실레이트 (KR67832); 및
- [0078] 에틸 1,2-디알릴-5-(알릴옥시)-3-옥소인돌린-2-카복실레이트 (KR67834).
- [0079] 본 발명에 따른 화학식 1 또는 2의 3-인돌린은 유도체는 예컨대 하기 반응식 1 내지 6으로 표시되는 합성경로에 따라 제조할 수 있다. 이때, 반응식 1은 치환체 R<sub>3</sub>과 R<sub>4</sub>가 동일한 경우이다:

[0080] [반응식 1]



- [0081] 시약 및 조건: (a) H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 촉매, EtOH, 환류; (b) POCl<sub>3</sub>, DMF; (c) mCPBA, p-TSA, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>; (d) R<sub>3</sub>-I(또는 R<sub>4</sub>-I), K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, 아세톤, 환류 10hr.
- [0083] 상기 식에서,
- [0084] R<sub>3</sub> 및 R<sub>4</sub>는 화학식 1 및 2에서 정의한 바와 같으나 서로 동일한 치환체이다.
- [0085] 반응식 1에서는, 5-메톡시-1H-인돌-2-카복실산을 H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 촉매를 사용하여 에스터화 반응시켜 에스터를 형성한 후, 이를 DMF, POCl<sub>3</sub>로 포밀화시키고, 이를 mCPBA로 산화시켜 3-하이드록시인돌 유도체를 만들고, 이를 다양한 친전자체(electrophile)와 반응시켜 목적하는 3-인돌린은 유도체를 합성할 수 있다. 반응식 1에 의해 제조되는 본 발명 화합물의 일례에 대하여 구조 및 물성을 하기 표 1에 나타내었다.

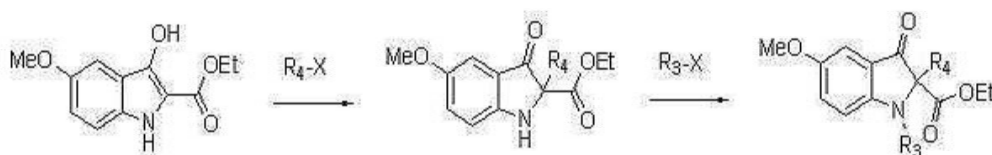
표 1

코드	구조	흡광도/ 형광도	NMR 데이터
KR 68425		460nm/ 560nm	<sup>1</sup> H NMR (300 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) δ 7.14 (dd, <i>J</i> = 9.0Hz, <i>J</i> = 2.4Hz, 1H), 7.02 (d, <i>J</i> = 2.4Hz, 1H), 6.79 (d, <i>J</i> = 9.0Hz, 1H), 5.98-5.83 (m, 1H), 5.53-5.39 (m, 1H), 5.33-5.26 (m, 1H), 5.24-5.12 (m, 1H), 5.00-4.97 (m, 1H), 4.20-4.08 (m, 2H), 4.05-3.82 (m, 2H), 3.76 (s, 3H), 3.04-2.88 (m, 2H), 1.21 (t, <i>J</i> = 7.0Hz, 3H)
KR 68426		420nm/ 520nm	<sup>1</sup> H NMR (300 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) δ 7.59-7.57 (m, 1H), 7.48-7.43 (m, 1H), 6.84-6.74 (m, 2H), 5.94-5.83 (m, 1H), 5.50-5.44 (m, 1H), 5.30 (d, <i>J</i> = 17Hz, 1H), 5.22 (d, <i>J</i> = 10Hz, 1H), 5.13 (d, <i>J</i> = 17Hz, 1H), 4.99 (d, <i>J</i> = 10Hz, 1H), 4.18-4.05 (m, 2H), 4.01-3.89 (m, 2H), 3.05-2.89 (m, 2H), 1.20 (t, <i>J</i> = 7.0Hz, 3H).
KR 68429		450nm/ 560nm	<sup>1</sup> H NMR (300 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) δ 7.13 (dd, <i>J</i> = 9.0Hz, <i>J</i> = 2.4Hz, 1H), 7.01 (d, <i>J</i> = 2.4Hz, 1H), 6.84 (d, <i>J</i> = 9.0Hz, 1H), 5.94-5.83 (m, 1H), 5.77-5.74 (m, 1H), 5.25-5.08 (m, 2H), 4.23-4.11 (m, 2H), 3.98-3.82 (m, 2H), 3.75 (s, 3H), 3.45-3.37 (m, 2H), 1.78-1.69 (m, 3H), 1.29-1.14 (m, 6H)
KR 68432		450nm/ 520nm	<sup>1</sup> H NMR (300 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) δ 7.15 (dd, <i>J</i> = 8.9Hz, <i>J</i> = 2.4Hz, 1H), 6.99 (d, <i>J</i> = 2.4Hz, 1H), 6.72 (d, <i>J</i> = 8.9Hz, 1H), 5.23-5.15 (m, 1H), 4.73-4.70 (m, 1H), 4.14 (q, <i>J</i> = 7.1Hz, 2H), 4.01-3.78 (m, 2H), 2.96-2.76 (m, 2H), 1.73 (s, 6H), 1.63 (s, 3H), 1.55 (s, 3H), 1.17 (t, <i>J</i> = 7.1Hz, 3H)

[0086]

[0087] 반응식 2는 치환체 R<sub>3</sub>과 R<sub>4</sub>가 상이한 경우이다.

[0088] [반응식 2]



[0089]

상기 식에서,

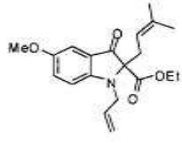
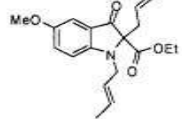
[0090]

[0091] R<sub>3</sub> 및 R<sub>4</sub>는 화학식 1 및 2에서 정의한 바와 같으나 서로 상이한 치환체이다.

[0092]

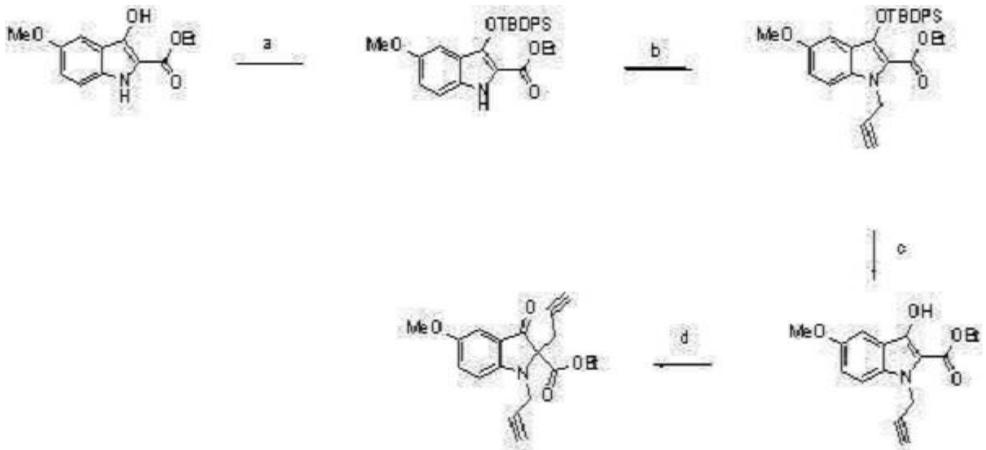
[0092] 반응식 2에서는, 인돌의 1번 위치의 질소와 2번 위치의 탄소에 치환된 치환기의 효과를 보기 위해서, 2번 위치의 탄소가 치환된 인돌로부터 K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>와 아세토니트릴 환류 조건에서 목적하는 유도체를 합성할 수 있다. 반응식 2에 의해 제조되는 본 발명 화합물의 일례에 대하여 구조 및 물성을 하기 표 2에 나타내었다.

표 2

코드	구조	흡광도/ 형광도	NMR 데이터
KR 68433		460nm/ 560nm	<sup>1</sup> H NMR (300 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) δ 7.13 (dd, <i>J</i> = 8.9Hz, <i>J</i> = 2.4Hz, 1H), 7.02 (d, <i>J</i> = 2.4Hz, 1H), 6.78 (d, <i>J</i> = 8.9Hz, 1H), 5.92-5.79 (m, 1H), 5.31-5.18 (m, 2H), 4.76-4.72 (m, 1H), 4.19-4.09 (m, 2H), 4.00-3.81 (m, 2H), 3.02-2.79 (m, 2H), 1.63 (s, 3H), 1.55 (s, 3H), 1.20 (t, <i>J</i> = 7.1Hz, 3H)
KR 68434		460nm/ 560nm	<sup>1</sup> H NMR (300 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) δ 7.16 (dd, <i>J</i> = 8.9Hz, <i>J</i> = 2.4Hz, 1H), 7.01 (d, <i>J</i> = 2.4Hz, 1H), 6.82 (d, <i>J</i> = 8.9Hz, 1H), 5.79-5.66 (m, 1H), 5.55-5.39 (m, 2H), 5.12 (d, <i>J</i> = 17Hz, 1H), 4.97 (d, <i>J</i> = 10Hz, 1H), 4.18-4.08 (m, 2H), 3.97-3.78 (m, 2H), 3.75 (s, 3H), 3.04-2.86 (m, 2H), 1.74-1.66 (m, 3H), 1.25-1.17 (m, 3H)

[0093]

[0094] [반응식 3]

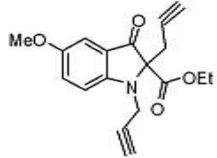


[0095]

[0096] 시약 및 조건: (a) TBDS, 이미다졸, THF, 환류 5hr; (b) NaH, 프로파길 브로마이드, DMF, 환류 3hr; (c) TBAF, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, 환류, 2hr; (d) 프로파길 브로마이드, K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, 아세톤, 환류 10hr.

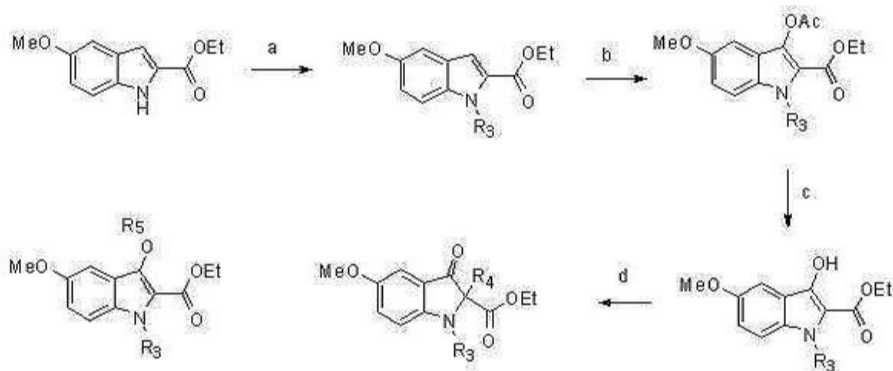
[0097] 반응식 3에서는, 3번 위치의 OH 작용기를 TBDS로 보호하고 질소를 먼저 치환한 후 2번 위치의 탄소에 치환기를 도입함으로써 보다 좋은 수득물을 얻을 수 있다. 반응식 3에 의해 제조되는 본 발명 화합물의 일례에 대하여 구조 및 물성을 하기 표 3에 나타내었다.

표 3

코드	구조	흡광도/ 형광도	NMR 데이터
KR 67705		440nm/ 560nm	<sup>1</sup> H NMR (300 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) δ 7.25 (dd, <i>J</i> = 8.9Hz, <i>J</i> = 2.4Hz, 1H), 7.06 (d, <i>J</i> = 2.4Hz, 1H), 7.00 (d, <i>J</i> = 8.9Hz, 1H) 4.28-3.78 (m, 4H), 3.26-2.95 (m, 1H), 3.01-2.95 (m, 1H), 2.29 (t, <i>J</i> = 2.5Hz, 1H), 1.88 (t, <i>J</i> = 2.5Hz, 1H), 1.23 (t, <i>J</i> = 7.1Hz, 3H)

[0098]

[0099] [반응식 4]



[0100]

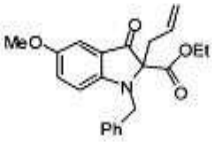
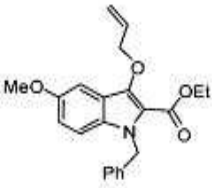
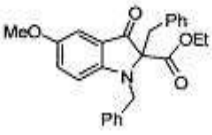
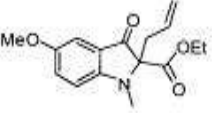
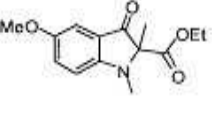
[0101] 시약 및 조건: (a) R<sub>3</sub>-Br, NaH, DMF; (b) Pd(OAc)<sub>2</sub>, PhI(OAc)<sub>2</sub>, 아세트산, 환류; (c) 소듐 tert-부톡사이드, K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, MeOH, THF; (d) R<sub>4</sub>-Br 또는 R<sub>5</sub>-Br, K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, 아세톤, 환류.

[0102] 상기 식에서,

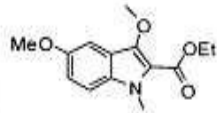
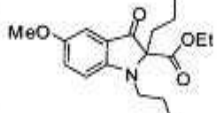
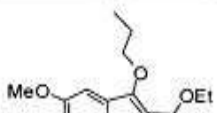
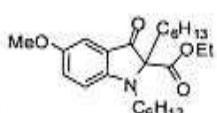
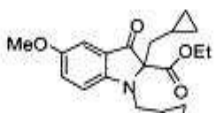
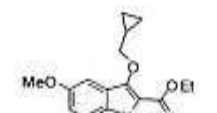
[0103] R<sub>3</sub>, R<sub>4</sub> 및 R<sub>5</sub>는 화학식 1 및 2에서 정의한 바와 같다.

[0104] 반응식 4에서는, 에틸 5-메톡시-1H-인돌-2-카복실레이트에서 NaH를 사용하여 DMF 실온 조건에서 질소에 치환기를 도입한 후, 이를 Pd(OAc)<sub>2</sub> 및 PhI(OAc)<sub>2</sub>와 아세트산 환류조건으로 반응시켜 3번 탄소에 OAc를 형성한 다음, 소듐 tert-부톡사이드를 사용하여 하이드록시화하고 3번 탄소에 알킬화 반응을 하여 목적하는 유도체를 합성할 수 있다. 반응식 4에 의해 제조되는 본 발명 화합물의 일례에 대하여 구조 및 물성을 하기 표 4에 나타내었다.

표 4

코드	구조	흡광도/ 형광도	NMR 데이터
KR 68456		450nm/ 540nm	<sup>1</sup> H NMR (300 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) δ 7.36-7.25 (m, 5H), 7.08-7.03 (m, 2H), 6.56-6.52 (m, 1H), 5.54-5.41 (m, 1H), 5.10 (d, <i>J</i> = 17Hz, 1H), 4.97 (d, <i>J</i> = 10Hz, 1H), 4.60 (d, <i>J</i> = 16Hz, 1H), 4.47 (d, <i>J</i> = 16Hz, 1H), 4.15-4.02 (m, 2H), 3.76 (s, 3H), 3.06-2.91 (m, 2H), 1.15 (t, <i>J</i> = 7.1Hz, 3H)
KR 68457		450nm/ 510nm	<sup>1</sup> H NMR (300 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) 7.34-7.15 (m, 5H), 7.09-7.05(m, 1H), 7.01-6.94 (m, 1H), 5.70 (s, 2H), 5.40 (d, <i>J</i> = 17Hz, 1H), 5.25 (d, <i>J</i> = 10Hz, 1H), 4.69-4.66 (m, 2H), 4.33 (q, <i>J</i> = 7.1Hz, 2H), 3.85 (s, 3H), 1.34 (t, <i>J</i> = 7.1Hz, 3H)
KR 68458		450nm/ 520nm	<sup>1</sup> H NMR (300 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) δ 7.36-6.90 (m, 10H), 6.34 (d, <i>J</i> = 8.8Hz, 1H), 4.70 (d, <i>J</i> = 16Hz, 1H), 4.50 (d, <i>J</i> = 16Hz, 1H), 4.14-3.94 (m, 2H), 3.72 (s, 3H), 3.71-3.67 (m, 1H), 3.48 (d, <i>J</i> = 16Hz, 1H), 1.57 (t, <i>J</i> = 7.1Hz, 3H)
KR 68459		460nm/ 520nm	<sup>1</sup> H NMR (300 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) δ 7.17 (dd, <i>J</i> = 9.0Hz, <i>J</i> = 2.4Hz, 1H), 7.01 (d, <i>J</i> = 2.4Hz, 1H), 6.75 (d, <i>J</i> = 9.0Hz, 1H), 5.49-5.35 (m, 1H), 5.11 (d, <i>J</i> = 16Hz, 1H), 4.97 (d, <i>J</i> = 10Hz, 1H), 3.75 (s, 3H), 3.37-2.83 (m, 2H), 1.21 (t, <i>J</i> = 7.1Hz, 3H)
KR 68461		460nm/ 550nm	<sup>1</sup> H NMR (300 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) δ 7.18 (dd, <i>J</i> = 9.0Hz, <i>J</i> = 2.4Hz, 1H), 7.03 (d, <i>J</i> = 2.4Hz, 1H), 6.76 (d, <i>J</i> = 9.0Hz, 1H), 4.21-4.10 (m, 2H), 3.76 (s, 3H), 2.94 (s, 3H), 1.06 (s, 3H), 1.20 (t, <i>J</i> = 7.0Hz, 3H)

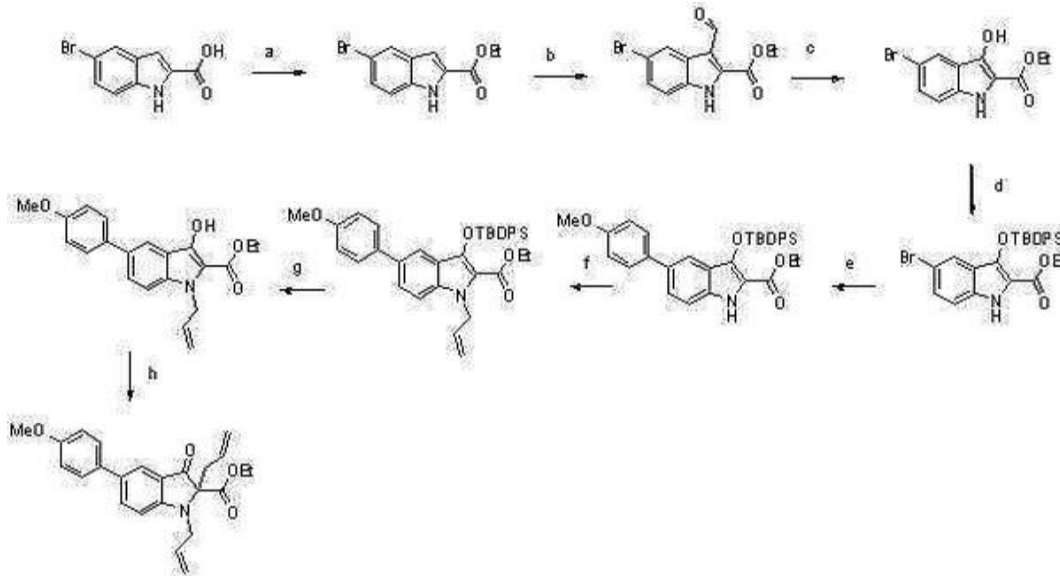
[0105]

<p>KR 68462</p>		<p>350nm/ 430nm</p>	<p><sup>1</sup>H NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 7.23 (d, <i>J</i> = 9.0Hz, 1H), 7.07 (d, <i>J</i> = 2.4Hz, 1H), 7.00 (dd, <i>J</i> = 9.0Hz, <i>J</i> = 2.4Hz, 1H), 4.41 (q, <i>J</i> = 7.0Hz, 2H), 3.99 (s, 3H), 3.94 (s, 3H), 3.88 (s, 3H), 1.44 (t, <i>J</i> = 7.0Hz, 3H)</p>
<p>KR 67703</p>		<p>460nm/ 560nm</p>	<p><sup>1</sup>H NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 7.15 (dd, <i>J</i> = 9.0Hz, <i>J</i> = 2.2Hz, 1H) 7.01 (d, <i>J</i> = 2.2Hz, 1H), 6.75 (d, <i>J</i> = 9.0Hz, 1H), 4.16-4.09 (m, 2H), 3.76 (s, 3H), 3.34-3.08 (m, 2H), 2.41-2.28 (m, 1H), 2.04-1.94 (m, 1H), 1.88-1.57 (m, 2H), 1.18 (t, <i>J</i> = 7.1Hz, 2H), 1.08-1.00 (m, 2H), 0.96 (t, <i>J</i> = 7.1Hz, 3H) 0.80 (t, <i>J</i> = 7.1Hz, 3H)</p>
<p>KR 67704</p>		<p>350nm/ 430nm</p>	<p><sup>1</sup>H NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) 7.24 (d, <i>J</i> = 9.0Hz, 1H), 7.04 (d, <i>J</i> = 2.2Hz, 1H), 7.00 (dd, <i>J</i> = 9.0Hz, <i>J</i> = 2.2Hz, 1H), 4.39 (q, <i>J</i> = 7.1Hz, 2H), 4.08 (t, <i>J</i> = 7.1Hz, 2H), 3.85 (s, 3H), 1.89-1.82 (m, 2H), 1.79-1.17 (m, 2H), 1.42 (t, <i>J</i> = 7.1Hz, 2H), 1.06 (t, <i>J</i> = 7.1Hz, 3H) 0.88 (t, <i>J</i> = 7.1Hz, 3H)</p>
<p>KR 67796</p>		<p>460nm/ 540nm</p>	<p><sup>1</sup>H NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 7.16 (dd, <i>J</i> = 9.0Hz, <i>J</i> = 2.2Hz, 1H) 7.01 (d, <i>J</i> = 2.2Hz, 1H), 6.75 (d, <i>J</i> = 9.0Hz, 1H), 4.11 (q, <i>J</i> = 7.1Hz, 2H), 3.33-3.13 (m, 2H), 2.43-2.28 (m, 1H), 2.15-1.98 (m, 1H), 1.26-1.13 (m, 12H), 0.99-0.80 (m, 9H)</p>
<p>KR 67832</p>		<p>460nm/ 560nm</p>	<p><sup>1</sup>H NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 7.17 (dd, <i>J</i> = 9.0Hz, <i>J</i> = 2.4Hz, 1H) 7.05 (d, <i>J</i> = 2.4Hz, 1H), 6.88 (d, <i>J</i> = 9.0Hz, 1H), 4.12 (q, <i>J</i> = 7.1Hz, 2H), 3.77 (s, 3H), 3.31-3.10 (m, 2H), 2.50-2.44 (m, 1H), 2.04-1.87 (m, 1H), 1.16 (t, <i>J</i> = 7.1Hz, 3H), 1.14-1.05 (m, 1H), 0.71-0.57 (m, 2H), 0.55-0.44 (m, 1H), 0.38-0.11 (m, 6H)</p>
<p>KR 67833</p>		<p>420nm/ 480nm</p>	<p><sup>1</sup>H NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 7.24 (d, <i>J</i> = 9.0Hz, 1H), 7.07 (d, <i>J</i> = 2.4Hz, 1H), 6.99 (dd, <i>J</i> = 9.0Hz, <i>J</i> = 2.4Hz, 1H), 4.44-4.36 (m, 4H) 3.96 (d, <i>J</i> = 7.1Hz, 2H), 3.86 (s, 3H), 1.33 (t, <i>J</i> = 7.1Hz, 3H), 1.32*-1.19 (m, 2H), 0.71-0.58 (m, 2H), 0.51-0.01 (m, 6H)</p>

[0106]



[0107] [반응식 5]



[0108]

[0109]

시약 및 조건: (a) H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 촉매, EtOH, 환류; (b) POCl<sub>3</sub>, DMF; (c) mCPBA, p-TSA, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>; (d) TBDPSCl, 이미다졸, THF, 환류 5hr; (e) 보론산, K<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>, Pd(OAc)<sub>2</sub>, 트리-*o*-폴리포스핀, EtOH; (f) NaH, 알릴아이오다이드, DMF, 환류 3hr; (g) TBAF, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, 환류 2hr; (h) 알릴아이오다이드, K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, 아세톤, 환류 10hr.

[0110]

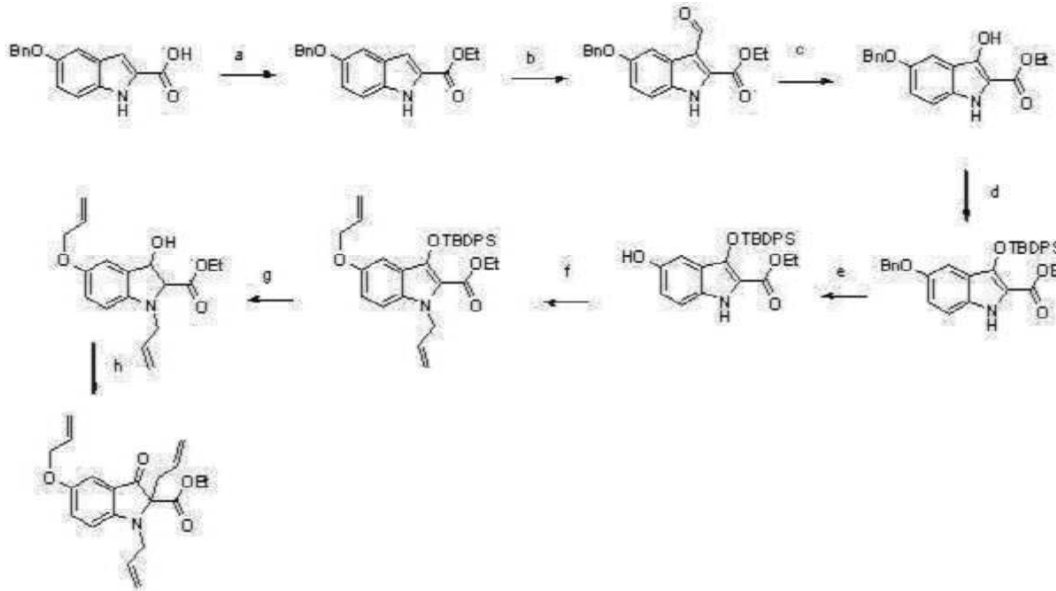
반응식 5에서는, 5번 위치의 치환기 효과를 보기 위하여 앞서 언급된 방법과 유사한 방법으로, 5-브로모-1H-인돌-2-카복실산의 3번 위치의 탄소의 OH 작용기를 TBDPS로 보호하고, 5번 위치의 브롬을 스즈키 반응(suzuki reaction)을 통해 4-메톡시페닐로 대신하고, 이를 알릴화 반응시켜 질소에 알릴기를 도입한 후 보호기를 제거하고 2번 탄소에 알릴기를 도입하여 목적하는 유도체를 합성할 수 있다. 반응식 5에 의해 제조되는 본 발명 화합물의 일례에 대하여 구조 및 물성을 하기 표 5에 나타내었다.

표 5

코드	구조	흡광도/ 형광도	NMR 데이터
KR 67718		450nm/ 500nm	<sup>1</sup> H NMR (300 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) δ 7.74 (d, <i>J</i> = 8.9, 2.2 Hz, 1H), 7.46-7.42 (m, 2H), 6.97-6.87 (m, 3H), 5.96-5.85 (m, 1H), 5.53-5.41 (m, 1H), 5.35-4.98 (m, 3H), 5.00 (d, <i>J</i> = 10 Hz, 1H), 4.19-4.08 (m, 2H), 4.02-3.82 (m, 2H), 3.82 (s, 3H), 1.13 (t, <i>J</i> = 7.1 Hz, 3H)

[0111]

[0112] [반응식 6]



[0113]

[0114] 시약 및 조건: (a) H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 촉매, EtOH, 환류; (b) POCl<sub>3</sub>, DMF; (c) mCPBA, p-TSA, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>; (d) TBDPSCl, 이미다졸, THF, 환류 5hr; (e) H<sub>2</sub>, Pd/C, MeOH, 2hr; (f) NaH, 알릴아이오다이드, DMF, 환류 3hr; (g) TBAF, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, 환류 2hr; (h) 알릴아이오다이드, K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, 아세톤, 환류 10hr.

[0115] 반응식 6에서는, 출발 물질로 5-벤질옥시인돌 유도체를 사용하여 앞서 언급된 방법과 유사한 방법으로 5번 위치를 변형한 목적하는 유도체를 합성할 수 있다. 반응식 6에 의해 제조되는 본 발명 화합물의 일례에 대하여 구조 및 물성을 하기 표 6에 나타내었다.

표 6

코드	구조	흡광도/ 형광도	NMR 데이터
KR 67738		440nm/ 560nm	<sup>1</sup> H NMR (300 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) δ 7.43-7.29 (m, 5H), 7.16 (dd, J = 8.8Hz, J = 2.4Hz, 1H), 7.02 (d, J = 2.4Hz, 1H), 6.78 (d, J = 8.8Hz, 1H), 5.95-5.84 (m, 1H), 5.53-5.40 (m, 1H), 5.34-5.26 (m, 1H), 5.23-5.19 (m, 1H), 5.17-5.11 (m, 1H), 5.05-5.00 (m, 1H), 4.98 (s, 2H), 4.20-4.09 (m, 2H), 4.04-3.83 (m, 2H), 3.03-2.87 (m, 2H), 1.20 (t, J = 7.1Hz, 3H)
KR 67834		460nm/ 550nm	<sup>1</sup> H NMR (300 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) δ 7.16 (dd, J = 9.0Hz, J = 2.4Hz, 1H), 7.02 (d, J = 2.4Hz, 1H), 6.78 (d, J = 9.0Hz, 1H), 6.09-5.83 (m, 2H), 5.53-5.11 (m, 6H), 4.98 (d, J = 10Hz, 1H), 4.47 (d, J = 5.3Hz, 2H), 4.18-4.11 (m, 2H), 4.01-3.83 (m, 2H), 3.03-2.87 (m, 2H), 1.20 (t, J = 7.1Hz, 3H)

[0116]

[0117] 상기와 같은 방법에 의해 제조된 본 발명에 따른 화학식 1 또는 2의 3-인돌리논 유도체 및 그의 염은 특히 지방

을 형광염색하는 능력이 탁월하여 생체 내 지방의 양, 부위 등을 정량 또는 정성 분석 할 수 있고, 생체 진단시 약으로 유용하게 사용될 수 있다.

[0118] 따라서, 본 발명은 상기 화학식 1 또는 2로 표시된 3-인돌리논 유도체 또는 그의 염을 유효성분으로 포함하는 형광염색용 조성물, 특히 지방 형광염색용 조성물을 제공한다. 이때, 화학식 1 또는 2의 3-인돌리논 유도체는 0.1 내지 100  $\mu\text{M}$ , 바람직하게는 1 내지 100  $\mu\text{M}$ 의 농도로 포함될 수 있다.

[0119] 본 발명은 또한 상기 화학식 1 또는 2로 표시된 3-인돌리논 유도체 또는 그의 염을 유효성분으로 포함하는 키트를 제공한다.

[0120] 상기 키트는 상기 인돌리논 유도체와 시료 간의 반응을 파악하는데 사용되는 재료를 포함할 수 있다. 예를 들어, 버퍼, 안정화제, 불활성 단백질, 검출라벨 등을 포함할 수 있다.

[0121] 또한 본 발명의 키트에는 분석을 수행하기 위한 사용설명서(예, 서면, 테이프, VCR, CD-ROM 등)가 포함될 수 있다.

[0122] 보다 구체적으로, 상기 화학식 1 또는 2로 표시된 3-인돌리논 유도체 또는 그의 염을 유효성분으로 포함하는 형광염색용 조성물 및 이를 포함하는 진단키트는 상기 화학식 1 또는 2로 표시된 3-인돌리논 유도체의 지방 특이적 염색 효과를 바탕으로 지질 검출 용도 또는 지방과 관련된 질환의 진단에 사용될 수 있다.

[0123] 더욱 구체적으로 상기 지방과 관련된 질환으로는 대사증후군을 예로 들 수 있으며, 대사증후군으로는 비만, 고혈압, 동맥경화, 고지혈증, 간질환, 과인슐린혈증, 과혈당증, 1형 및 2형 당뇨병, 인슐린 내성을 특징으로 하는 이상지혈증, 발기부전, 심혈관계질환 및 허혈성질환을 포함하나, 이에 제한되는 것은 아니다.

[0124] 보다 구체적으로 상기 간질환은 알코올성 및 비알코올성 간의 지질대사 이상으로 인한 지방간, 간염 및 간경화를 포함하며, 상기 이상지혈증은 비-에스테르화 지방산의 상당한 증가, 초저밀도 리포단백질, 트리글리세리드 풍부 입자의 증가, 높은 ApoB 수치, 작고 밀집된 저밀도 리포단백질 입자, 표현형 B의 존재시 높은 ApoB 수치 및 낮은 ApoA I 입자 수치와 연관되는 낮은 고밀도 리포단백질 수치로 특징지어 진다. 또한 상기 심혈관계 질환에는 심근경색을 유발하는 다양한 내부기관의 매크로 혈관증, 심부전, 뇌혈관질환 및 말단 말초동맥부전이 포함된다.

[0125] 이하, 본 발명을 하기 실시예에 의하여 보다 상세하게 설명하고자 한다. 단, 하기 실시예는 본 발명을 예시하기 위한 것일 뿐 본 발명의 범위가 이들만으로 한정되는 것은 아니다.

[0126] <실시예>

[0127] 실시예 1 내지 4 : 5-메톡시-1H-인돌-2-카복실산으로부터 화합물 KR68425 내지 KR68432의 합성

[0128] 실시예 1 : 에틸 1,2-디알릴-5-메톡시-3-옥소인돌린-2-카복실레이트 (KR68425)의 제조

[0129] [1-1단계] 에틸 5-메톡시인돌-2-카복실레이트

[0130] 5-메톡시인돌-2-카복실산 (5g, 0.026mmole)을 EtOH (40mL)에 녹인 후 황산 (4ml), 환류조건에서 10시간 동안 교반시켰다. 반응이 종결되면, 감압 농축하고 물에 녹인 후 2N-NaOH로 pH 7로 조절한 다음 EtOAc로 추출, 건조 ( $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ), 여과 및 감압 농축하여 표제의 화합물을 얻었다.

[0131] (황색 고체 5.5g, 96 %)

[0132]  $^1\text{H}$  NMR (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  8.84 (bs, 1H), 7.30 (d,  $J = 9.0$  Hz, 1H), 7.14 (dd,  $J = 2.4$  Hz,  $J = 1.0$  Hz, 1H), 7.07 (d,  $J = 2.4$ Hz, 1H), 6.99 (dd,  $J = 9.0$ Hz, 1H), 4.40 (q,  $J = 7.0$ Hz, 2H), 3.85 (s, 3H), 1.41(t,  $J = 7.0$ Hz, 3H); LC/MS(M+H): 220.

[0133] [1-2단계] 에틸 3-포밀-5-메톡시인돌-2-카복실레이트

[0134] 에틸 5-메톡시인돌-2-카복실레이트 (4.8g, 21.9mmole)을 DMF (40mL)에 녹인 후 인 옥시클로라이드 (5.1ml, 54.75mmole)를 넣고 실온에서 3시간 동안 교반시켰다. 반응이 종결되면, 얼음을 첨가하여 2N-NaOH로 pH 7로 조

절하고 30분간 교반한 후 생성된 고체를 여과하여 표제의 화합물을 얻었다.

- [0135] (황색 고체 5g, 92 %)
- [0136]  $^1\text{H}$  NMR (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  10.73 (s, 1H), 9.25 (bs, 1H), 7.90 (d,  $J = 2.4\text{Hz}$ , 1H), 7.60 (d,  $J = 9.0\text{Hz}$ , 1H), 7.07 (dd,  $J = 9.0\text{Hz}$ ,  $J = 2.4\text{Hz}$ , 1H), 4.48 (q,  $J = 7.0\text{Hz}$ , 2H), 3.90 (s, 3H), 1.28 (t,  $J = 7.0\text{Hz}$ , 3H); LC/MS(M+H): 248.
- [0137] **[1-3단계] 에틸 3-히드록시-5-메톡시인돌-2-카복실레이트**
- [0138] 에틸 3-포틸-5-메톡시인돌-2-카복실레이트 (5g, 0.02mole)를  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (40mL)에 녹인 후 pTSA (3.8g, 0.02mole)와 mCPBA (7g, 0.03mole)를 넣고 실온에서 8시간 동안 교반시켰다. 반응이 종결되면, 감압 농축하고 물에 녹인 후 EtOAc로 추출, 건조 ( $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ), 여과, 감압 농축한 다음 관 크로마토그래피로 분리하여 표제의 화합물을 얻었다.
- [0139] (황색 고체 4.6g, 88 %)
- [0140]  $^1\text{H}$  NMR (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  7.70 (bs, 1H), 7.18 (d,  $J = 9.0\text{Hz}$ , 1H), 7.10 (d,  $J = 2.4\text{Hz}$ , 1H), 7.00 (dd,  $J = 9.0\text{Hz}$ ,  $J = 2.4\text{Hz}$ , 1H), 4.44 (q,  $J = 7.0\text{Hz}$ , 2H), 3.85 (s, 3H), 1.41 (t,  $J = 7.0\text{Hz}$ , 3H); LC/MS(M+H): 236.
- [0141] **[1-4단계] 에틸 1,2-디알릴-5-메톡시-3-옥소인돌린-2-카복실레이트 (KR68425)**
- [0142] 에틸 3-히드록시-5-메톡시인돌-2-카복실레이트 (100mg, 0.37mmole)를 아세톤 (5mL)에 녹인 후  $\text{K}_2\text{CO}_3$  (235mg, 1.85mmole)와 알릴 아이오다이드 (0.2ml, 1.85mmole)에 넣고 환류조건에서 5시간 동안 교반시켰다. 반응이 종결되면, 감압 농축하고 물에 녹인 후 EtOAc로 추출, 건조 ( $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ), 여과, 감압 농축한 다음 관 크로마토그래피로 분리하여 표제의 화합물을 얻었다.
- [0143] (갈색 액체 15mg, 12 %)
- [0144] LC/MS(M+H): 236.
- [0145] **실시예 2 : 에틸 1,2-디알릴-3-옥소인돌린-2-카복실레이트 (KR68426)의 제조**
- [0146] 에틸 3-히드록시-인돌-2-카복실레이트 (50mg, 0.24mmole)를 아세톤 (5mL)에 녹인 후  $\text{K}_2\text{CO}_3$  (610mg, 50.8mmole)와 알릴 브로마이드 (589mg, 50.8mmole)를 넣고 환류조건에서 5시간 동안 교반시켰다. 반응이 종결되면, 감압 농축하고 물에 녹인 후 EtOAc로 추출, 건조 ( $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ), 여과, 감압 농축한 다음 관 크로마토그래피로 분리하여 표제의 화합물을 얻었다.
- [0147] (갈색 액체 22mg, 32 %)
- [0148] LC/MS(M+H): 286.
- [0149] **실시예 3 : 에틸 1,2-디((E)-부트-2-에닐)-5-메톡시-3-옥소인돌린-2-카복실레이트 (KR68429)의 제조**
- [0150] 에틸 3-히드록시-5-메톡시인돌-2-카복실레이트 (100mg, 0.42mmole)를 아세톤 (10mL)에 녹인 후  $\text{K}_2\text{CO}_3$  (534mg, 6.3mmole)와 크로틸 브로마이드 (0.65ml, 4.2mmole)를 넣고 환류조건에서 5시간 동안 교반시켰다. 반응이 종결되면, 감압 농축하고 물에 녹인 후 EtOAc로 추출, 건조 ( $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ), 여과, 감압 농축한 다음 관 크로마토그래피로 분리하여 표제의 화합물을 얻었다.
- [0151] (갈색 액체 15mg, 11 %)
- [0152] LC/MS(M+H): 344.
- [0153] **실시예 4 : 에틸 5-메톡시-1,2-비스(3-메틸부트-2-에닐)-3-옥소인돌린-2-카복실레이트 (KR68432)의 제조**
- [0154] 에틸 3-히드록시-5-메톡시인돌-2-카복실레이트 (500mg, 2.12mmole)를 아세토니트릴 (10mL)에 녹인 후  $\text{K}_2\text{CO}_3$  (1.3g, 10.6mmole)와 디메틸알릴 브로마이드 (1.2ml, 10.6mmole)를 넣고 환류조건에서 5시간 동안 교반시켰다. 반응이 종결되면, 감압 농축하고 물에 녹인 후 EtOAc로 추출, 건조 ( $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ), 여과, 감압 농축한 다음 관 크로마

토그래피로 분리하여 표제의 화합물을 얻었다.

[0155] (갈색 액체 7mg, 1 %)

[0156] LC/MS(M+H): 372.

[0157] **에틸 5-메톡시-2-(3-메틸부트-2-에닐)-3-옥소인돌린-2-카복실레이트로부터 화합물 KR68433의 합성**

[0158] **실시예 5 : 에틸 1-알릴-5-메톡시-2-(3-메틸부트-2-에닐)-3-옥소인돌린-2-카복실레이트 (KR68433)의 제조**

[0159] 에틸 5-메톡시-2-(3-메틸부트-2-에닐)-3-옥소인돌린-2-카복실레이트 (100mg, 0.32mmole)를 아세트니트릴 (10mL)에 녹인 후 K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (419mg, 3.2mmole)와 알릴 브로마이드 (0.3ml, 3.2mmole)를 넣고 환류조건에서 5시간 동안 교반시켰다. 반응이 종결되면, 감압 농축하고 물에 녹인 후 EtOAc로 추출, 건조 (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>), 여과, 감압 농축한 다음 관 크로마토그래피로 분리하여 표제의 화합물을 얻었다.

[0160] (갈색 액체 10mg, 8 %)

[0161] LC/MS(M+H): 344.

[0162] **에틸 2-알릴-5-메톡시-3-옥소인돌린-2-카복실레이트로부터 화합물 KR68434의 합성**

[0163] **실시예 6 : (E)-에틸 2-알릴-1-(부트-2-에닐)-5-메톡시-3-옥소인돌린-2-카복실레이트 (KR68434)의 제조**

[0164] 에틸 2-알릴-5-메톡시-3-옥소인돌린-2-카복실레이트 (100mg, 0.36mmole)를 아세트니트릴 (10mL)에 녹인 후 K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (229mg, 1.8mmole)와 크로틸 브로마이드 (0.19ml, 1.8mmole)에 넣고 환류조건에서 5시간 동안 교반시켰다. 반응이 종결되면, 감압 농축하고 물에 녹인 후 EtOAc로 추출, 건조 (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>), 여과, 감압 농축한 다음 관 크로마토그래피로 분리하여 표제의 화합물을 얻었다.

[0165] (갈색 액체 18mg, 21 %)

[0166] LC/MS(M+H): 330.

[0167] **실시예 7 내지 17 : 에틸 5-메톡시-1H-인돌-2-카복실레이트로부터 화합물 KR68456 내지 KR67833의 합성**

[0168] **[7-1단계] ① 에틸 1-벤질-5-메톡시-1H-인돌-2-카복실레이트**

[0169] 에틸 5-메톡시-1H-인돌-2-카복실레이트 (1g, 4.56mmole)를 DMF (20mL)에 녹인 후 NaH(218mg, 9.12mmole)을 넣고 벤질 브로마이드 (1ml, 9.12mmole)를 천천히 첨가하여 실온에서 5시간 동안 교반시켰다. 반응이 종결되면, NHCl<sub>4</sub> 첨가 후 EtOAc로 추출, 건조 (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>), 여과, 감압 농축한 다음 관 크로마토그래피로 분리하여 표제의 화합물을 얻었다.

[0170] (황색 고체 1.2g, 85 %)

[0171] <sup>1</sup>H NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) 7.38-7.18 (m, 5H), 7.08 (d, J = 2.4Hz, 1H), 7.03-7.01 (m, 2H), 6.96 (dd, J = 9.0Hz, J = 2.4Hz, 1H), 5.81 (s, 2H), 4.32 (q, J = 7.1Hz, 2H), 3.84 (s, 3H), 1.32 (t, J = 7.1Hz, 3H); LC/MS(M+H): 310.

[0172] **② 에틸 5-메톡시-1-메틸인돌-2-카복실레이트**

[0173] 벤질 브로마이드 대신에 메틸 브로마이드를 사용하여 [7-1단계]의 ①과 동일한 방법으로 표제 화합물을 수율 66 %로 얻었다.

[0174] <sup>1</sup>H NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 7.29-7.25 (m, 2H), 7.05-7.00 (m, 2H), 4.37 (q, J = 7.0Hz, 2H), 4.04 (s, 3H), 3.84 (s, 3H), 1.40 (t, J = 7.0Hz, 3H); LC/MS(M+H): 234.

[0175] **③ 에틸 5-메톡시-1-프로필-1H-인돌-2-카복실레이트**

[0176] 벤질 브로마이드 대신에 프로필 브로마이드를 사용하여 [7-1단계]의 ①과 동일한 방법으로 표제 화합물을 수율 85 %로 얻었다.

[0177] <sup>1</sup>H NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) 7.28 (d, J = 9.0Hz, 1H), 7.20 (s, 1H), 7.04 (d, J = 2.2Hz, 1H), 7.00 (dd, J =

9.0Hz,  $J = 2.2\text{Hz}$ , 1H), 4.49 (t,  $J = 7.1\text{Hz}$ , 2H), 4.36 (q,  $J = 7.1\text{Hz}$ , 2H), 3.84 (s, 3H), 1.84-1.77 (m, 2H), 1.40 (t,  $J = 7.1\text{Hz}$ , 2H), 0.92 (t,  $J = 7.1\text{Hz}$ , 3H); LC/MS(M+H): 262.

[0178]

④ 에틸 1-헥실-5-메톡시-1H-인돌-2-카복실레이트

[0179]

벤질 브로마이드 대신에 헥실 브로마이드를 사용하여 [7-1단계]의 ①과 동일한 방법으로 표제 화합물을 수율 95%로 얻었다.

[0180]

$^1\text{H}$  NMR (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) 7.27 (d,  $J = 9.0\text{Hz}$ , 1H), 7.20 (s, 1H), 7.05 (d,  $J = 2.4\text{Hz}$ , 1H), 7.00 (dd,  $J = 9.0\text{Hz}$ ,  $J = 2.4\text{Hz}$ , 1H), 4.51 (t,  $J = 7.1\text{Hz}$ , 2H), 4.35 (q,  $J = 7.1\text{Hz}$ , 2H), 3.84 (s, 3H), 1.79-1.74 (m, 2H), 1.40 (t,  $J = 7.1\text{Hz}$ , 3H), 1.35-1.30 (m, 6H), 0.91-0.84 (m, 3H); LC/MS(M+H): 304.

[0181]

⑤ 에틸 1-사이클로프로필메틸-5-메톡시-1H-인돌-2-카복실레이트

[0182]

벤질 브로마이드 대신에 사이클로프로필메틸 브로마이드를 사용하여 [7-1단계]의 ①과 동일한 방법으로 표제 화합물을 얻었다.

[0183]

[7-2단계] ① 에틸 3-아세톡시-1-벤질-5-메톡시-1H-인돌-2-카복실레이트

[0184]

에틸 1-벤질-5-메톡시-1H-인돌-2-카복실레이트 (500mg, 1.61mmole)를 아세트산 (20mL)에 녹인 후 아이오도벤젠 디아세테이트 (777mg, 2.41mmole)과 팔라듐(II) 아세테이트 (18mg, 5%mol)를 넣고 환류조건에서 1시간 30분 동안 교반시켰다. 반응이 종결되면, EtOAc을 첨가하여 추출, 염수로 2회 씻어주고 건조 ( $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ), 여과, 감압 농축한 다음 관 크로마토그래피로 분리하여 표제의 화합물을 얻었다.

[0185]

(고체 221mg, 38%)

[0186]

$^1\text{H}$  NMR (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  7.27-7.19 (m, 5H), 7.04-7.01 (m, 1H), 6.97 (dd,  $J = 9.1\text{Hz}$ ,  $J = 2.4\text{Hz}$ , 1H), 6.87 (d,  $J = 2.4\text{Hz}$ , 1H), 5.76 (s, 2H), 4.29 (q,  $J = 7.1\text{Hz}$ , 2H), 3.83 (s, 3H), 2.42 (s, 3H), 1.28 (t,  $J = 7.1\text{Hz}$ , 3H); LC/MS(M+H): 368.

[0187]

② 에틸 3-아세톡시-5-메톡시-1-메틸인돌-2-카복실레이트

[0188]

에틸 1-벤질-5-메톡시-1H-인돌-2-카복실레이트 대신에 에틸 5-메톡시-1-메틸인돌-2-카복실레이트를 사용하여 [7-2단계]의 ①과 동일한 방법으로 표제 화합물을 수율 66%로 얻었다.

[0189]

$^1\text{H}$  NMR (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  7.27 (d,  $J = 9.0\text{Hz}$ , 1H), 7.02 (dd,  $J = 9.0\text{Hz}$ ,  $J = 2.4\text{Hz}$ , 1H), 6.84 (d,  $J = 2.4\text{Hz}$ , 1H), 4.35 (q,  $J = 7.0\text{Hz}$ , 2H), 4.00 (s, 3H), 3.84 (s, 3H), 2.42 (s, 3H), 1.37 (t,  $J = 7.0\text{Hz}$ , 3H); LC/MS(M+H): 292.

[0190]

③ 에틸 3-아세톡시-5-메톡시-1-프로필-1H-인돌-2-카복실레이트

[0191]

에틸 1-벤질-5-메톡시-1H-인돌-2-카복실레이트 대신에 에틸 5-메톡시-1-프로필-1H-인돌-2-카복실레이트를 사용하여 [7-2단계]의 ①과 동일한 방법으로 표제 화합물을 수율 72%로 얻었다.

[0192]

$^1\text{H}$  NMR (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  7.27 (d,  $J = 9.0\text{Hz}$ , 1H), 7.01 (dd,  $J = 9.0\text{Hz}$ ,  $J = 2.2\text{Hz}$ , 1H), 6.83 (d,  $J = 2.2\text{Hz}$ , 1H), 4.44 (t,  $J = 7.1\text{Hz}$ , 2H), 4.34 (q,  $J = 7.1\text{Hz}$ , 2H), 3.84 (s, 3H), 2.40 (s, 3H), 1.84-1.77 (m, 2H), 1.38 (t,  $J = 7.1\text{Hz}$ , 2H), 0.92 (t,  $J = 7.1\text{Hz}$ , 3H); LC/MS(M+H): 320.

[0193]

④ 에틸 3-아세톡시-1-헥실-5-메톡시-1H-인돌-2-카복실레이트

[0194]

에틸 1-벤질-5-메톡시-1H-인돌-2-카복실레이트 대신에 에틸 1-헥실-5-메톡시-1H-인돌-2-카복실레이트를 사용하여 [7-2단계]의 ①과 동일한 방법으로 표제 화합물을 수율 50%로 얻었다.

[0195]

$^1\text{H}$  NMR (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  7.27 (d,  $J = 9.0\text{Hz}$ , 1H), 7.01 (dd,  $J = 9.0\text{Hz}$ ,  $J = 2.2\text{Hz}$ , 1H), 6.84 (d,  $J = 2.2\text{Hz}$ , 1H), 4.46 (t,  $J = 7.1\text{Hz}$ , 2H), 4.34 (q,  $J = 7.1\text{Hz}$ , 2H), 3.84 (s, 3H), 2.40 (s, 3H), 1.78-1.73 (m, 2H), 1.38 (t,  $J = 7.1\text{Hz}$ , 2H), 1.30-1.26 (m, 6H), 0.89-0.84 (m, 2H); LC/MS(M+H): 362.

[0196]

⑤ 에틸 3-아세톡시-1-(사이클로프로필메틸)-5-메톡시-1H-인돌-2-카복실레이트

- [0197] 에틸 1-벤질-5-메톡시-1H-인돌-2-카복실레이트 대신에 에틸 1-사이클로프로필메틸-5-메톡시-1H-인돌-2-카복실레이트를 사용하여 [7-2단계]의 ①과 동일한 방법으로 표제 화합물을 수율 97 %로 얻었다.
- [0198]  $^1\text{H}$  NMR (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  7.28 (d,  $J = 9.0\text{Hz}$ , 1H), 7.00 (dd,  $J = 9.0\text{Hz}$ ,  $J = 2.2\text{Hz}$ , 1H) 6.84 (d,  $J = 2.2\text{Hz}$ , 1H), 4.42 (d,  $J = 6.7\text{Hz}$ , 2H), 4.32 (q,  $J = 7.1\text{Hz}$ , 2H), 3.84 (s, 3H), 2.41 (s, 3H), 1.27 (t,  $J = 7.1\text{Hz}$ , 3H), 1.30-1.26 (m, 1H), 0.50-0.37 (m, 4H); LC/MS(M+H): 332.
- [0199] **[7-3단계] ① 에틸 1-벤질-3-하이드록시-5-메톡시-1H-인돌-2-카복실레이트**
- [0200] 에틸 3-아세톡시-1-벤질-5-메톡시-1H-인돌-2-카복실레이트 (210mg, 0.59mmole)를 MeOH/THF (10mL)에 녹인 후  $\text{K}_2\text{CO}_3$  (73mg, 0.59mmole)를 넣고 실온에서 30분 동안 교반시켰다. 반응이 종결되면, 농축하고 물을 첨가하여 EtOAc로 추출, 염수로 2회 씻어주고 건조 ( $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ), 여과, 감압 농축한 다음 관 크로마토그래피로 분리하여 표제의 화합물을 얻었다.
- [0201] (고체 112g, 60 %)
- [0202]  $^1\text{H}$  NMR (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  7.25-6.95 (m, 5H), 7.01 (dd,  $J = 9.1\text{Hz}$ ,  $J = 2.6\text{Hz}$ , 1H), 6.98-6.95 (m, 2H), 5.54 (s, 2H), 4.35 (q,  $J = 7.1\text{Hz}$ , 2H), 3.85 (s, 3H), 1.27 (t,  $J = 7.1\text{Hz}$ , 3H); LC/MS(M+H): 326.
- [0203] **② 에틸 3-하이드록시-5-메톡시-1-메틸인돌-2-카복실레이트**
- [0204] 에틸 3-아세톡시-1-벤질-5-메톡시-1H-인돌-2-카복실레이트 대신에 에틸 3-아세톡시-5-메톡시-1-메틸인돌-2-카복실레이트를 사용하여 [7-3단계]의 ①과 동일한 방법으로 표제 화합물을 수율 91 %로 얻었다.
- [0205]  $^1\text{H}$  NMR (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  8.58 (bs, 1H), 7.18-7.15 (m, 1H), 7.10-7.08 (m, 1H), 7.06-7.02 (m, 1H), 4.49 (q,  $J = 7.0\text{Hz}$ , 2H), 3.85 (s, 3H), 1.45 (t,  $J = 7.0\text{Hz}$ , 3H); LC/MS(M+H): 250.
- [0206] **③ 에틸 3-하이드록시-5-메톡시-1-프로필-1H-인돌-2-카복실레이트**
- [0207] 에틸 3-아세톡시-1-벤질-5-메톡시-1H-인돌-2-카복실레이트 대신에 에틸 3-아세톡시-5-메톡시-1-프로필-1H-인돌-2-카복실레이트를 사용하여 [7-3단계]의 ①과 동일한 방법으로 표제 화합물을 수율 90 %로 얻었다.
- [0208] **④ 에틸 3-하이드록시-1-헥실-5-메톡시-1H-인돌-2-카복실레이트**
- [0209] 에틸 3-아세톡시-1-벤질-5-메톡시-1H-인돌-2-카복실레이트 대신에 에틸 3-아세톡시-1-헥실-5-메톡시-1H-인돌-2-카복실레이트를 사용하여 [7-3단계]의 ①과 동일한 방법으로 표제 화합물을 수율 80 %로 얻었다.
- [0210] **⑤ 에틸 1-(사이클로프로필메틸)-3-하이드록시-5-메톡시-1H-인돌-2-카복실레이트**
- [0211] 에틸 3-아세톡시-1-벤질-5-메톡시-1H-인돌-2-카복실레이트 대신에 에틸 3-아세톡시-1-(사이클로프로필메틸)-5-메톡시-1H-인돌-2-카복실레이트를 사용하여 [7-3단계]의 ①과 동일한 방법으로 표제 화합물을 수율 91 %로 얻었다.
- [0212]  $^1\text{H}$  NMR (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  8.65 (bs, 1H), 7.17 (d,  $J = 9.0\text{Hz}$ , 1H), 7.10 (d,  $J = 2.4\text{Hz}$ , 1H), 7.02 (dd,  $J = 9.0\text{Hz}$ ,  $J = 2.4\text{Hz}$ , 1H), 4.46 (q,  $J = 7.1\text{Hz}$ , 2H), 4.23 (d,  $J = 6.7\text{Hz}$ , 2H), 3.85 (s, 3H), 1.44 (t,  $J = 7.1\text{Hz}$ , 3H), 1.25-1.14 (m, 1H), 0.47-0.28 (m, 4H); LC/MS(M+H): 290.
- [0213] **[7-4단계]**
- [0214] **실시예 7 : 에틸 2-알릴-1-벤질-5-메톡시-3-옥소인돌린-2-카복실레이트 (KR68456)의 제조**
- [0215] 에틸 1-벤질-3-하이드록시-5-메톡시-1H-인돌-2-카복실레이트 (100mg, 0.3mmole)를 아세톤 (10mL)에 녹인 후  $\text{K}_2\text{CO}_3$  (190mg, 1.5mmole)와 알릴 아이오다이드 (0.16ml, 1.5mole)에 넣고 환류조건에서 5시간 동안 교반시켰다. 반응이 종결되면, 감압 농축하고 물에 녹인 후 EtOAc로 추출, 건조 ( $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ), 여과, 감압 농축한 다음 관 크로마토그래피로 분리하여 표제의 화합물을 얻었다.
- [0216] (갈색 액체 62mg, 61 %)

- [0217] LC/MS(M+H): 366.
- [0218] **실시예 8 : 에틸 3-(알릴옥시)-1-벤질-5-메톡시-인돌-2-카복실레이트 (KR68457)의 제조**
- [0219] 실시예 7의 방법의 또다른 생성물로 표제 화합물을 수율 5 %로 얻었다.
- [0220] LC/MS(M+H): 366.
- [0221] **실시예 9 : 에틸 1,2-디벤질-5-메톡시-3-옥소인돌린-2-카복실레이트 (KR68458)의 제조**
- [0222] 알릴 아이오다이드 대신에 벤질 아이오다이드를 사용하여 실시예 7과 동일한 방법으로 표제 화합물을 수율 42 %로 얻었다.
- [0223] LC/MS(M+H): 416.
- [0224] **실시예 10 : 에틸 2-알릴-5-메톡시-1-메틸-3-옥소인돌린-2-카복실레이트 (KR68459)의 제조**
- [0225] 에틸 1-벤질-3-하이드록시-5-메톡시-1H-인돌-2-카복실레이트 대신에 에틸 3-하이드록시-5-메톡시-1-메틸인돌-2-카복실레이트를 사용하여 실시예 7과 동일한 방법으로 표제 화합물을 수율 52 %로 얻었다.
- [0226] LC/MS(M+H): 290.
- [0227] **실시예 11 : 에틸 5-메톡시-1,2-디메틸-3-옥소인돌린-2-카복실레이트 (KR68461)의 제조**
- [0228] 알릴 아이오다이드 대신에 메틸 아이오다이드를 사용하여 실시예 10과 동일한 방법으로 표제 화합물을 수율 61 %로 얻었다.
- [0229] LC/MS(M+H): 264.
- [0230] **실시예 12 : 에틸 3,5-디메톡시-1-메틸-1H-인돌-2-카복실레이트 (KR68462)의 제조**
- [0231] 실시예 11의 방법의 또다른 생성물로 표제 화합물을 수율 33 %로 얻었다.
- [0232] LC/MS(M+H): 264.
- [0233] **실시예 13 : 에틸 5-메톡시-3-옥소-1,2-디프로필인돌린-2-카복실레이트 (KR67703)의 제조**
- [0234] 에틸 1-벤질-3-하이드록시-5-메톡시-1H-인돌-2-카복실레이트 대신에 에틸 3-하이드록시-5-메톡시-1-프로필-1H-인돌-2-카복실레이트를 사용하고 알릴 아이오다이드 대신에 프로필 아이오다이드를 사용하여 실시예 7과 동일한 방법으로 표제 화합물을 수율 4 %로 얻었다.
- [0235] LC/MS(M+H): 264.
- [0236] **실시예 14 : 에틸 5-메톡시-3-프로폭시-1-프로필-인돌-2-카복실레이트 (KR67704)의 제조**
- [0237] 실시예 13의 방법의 또다른 생성물로 표제 화합물을 수율 64 %로 얻었다.
- [0238] LC/MS(M+H): 264.
- [0239] **실시예 15 : 에틸 1,2-디헥실-5-메톡시-3-옥소인돌린-2-카복실레이트 (KR67796)의 제조**
- [0240] 에틸 1-벤질-3-하이드록시-5-메톡시-1H-인돌-2-카복실레이트 대신에 에틸 3-하이드록시-1-헥실-5-메톡시-1H-인돌-2-카복실레이트를 사용하고 알릴 아이오다이드 대신에 헥실 아이오다이드를 사용하여 실시예 7과 동일한 방법으로 표제 화합물을 수율 8 %로 얻었다.
- [0241] LC/MS(M+H): 404.
- [0242] **실시예 16 : 1,2-비스(사이클로프로필메틸)-5-메톡시-3-옥소인돌린-2-카복실레이트 (KR67832)의 제조**
- [0243] 에틸 1-벤질-3-하이드록시-5-메톡시-1H-인돌-2-카복실레이트 대신에 에틸 1-(사이클로프로필메틸)-3-하이드록시-5-메톡시-1H-인돌-2-카복실레이트를 사용하고 알릴 아이오다이드 대신에 사이클로프로필메틸 아이오다이드를 사용하여 실시예 7과 동일한 방법으로 표제 화합물을 수율 3 %로 얻었다.
- [0244] LC/MS(M+H): 344.
- [0245] **실시예 17 : 에틸 3-(사이클로프로필메톡시)-1-(사이클로프로필메틸)-5-메톡시-1H-인돌-2-카복실레이트 (KR67833)의 제조**



- [0246] 실시예 16의 방법의 또다른 생성물로 표제 화합물을 수율 80 %로 얻었다.
- [0247] LC/MS(M+H): 344.
- [0248] **실험예 1: 실시예 1의 화합물의 지방 염색 효과(시험관내)**
- [0249] 본 발명에 따른 3-인돌리논 유도체의 지방 염색 효과를 확인하기 위하여, 실시예 1의 화합물(에틸 1,2-디알릴-5-메톡시-3-옥소인돌린-2-카복실레이트)을 이용하여 전지방세포(preadipocyte)인 3T3-L1 세포를 염색하였다.
- [0250] 구체적으로, 3T3-L1 세포(ATCC, CL-173™)를 DMEM 배지(Dulbecco's modified Eagle's medium(DMEM, GIBCOBRL), 10% 우혈청(fetal bovine serum(FBS, Hyclone)) 및 1% 항생제-항진균제(antibiotic-antimycotic(페니실린/스트렙토마이신, GIBCOBRL) 함유)에서 5% CO<sub>2</sub>, 37°C 조건으로 배양한 후, 실시예 1의 화합물 10 μM로 처리하였다. 한편, 염색된 부위가 지방 소립(lipid droplet)인지 확인하고자 상기 염색된 3T3-L1 세포를 0.25 μM의 덱사메타손(dexamethasone(DEX)), 0.5mM의 1-메틸-3-이소부틸잔틴(IBMX), 10ug/ml 인슐린을 넣은 배지로 2일 처리한 후, 10ug/ml 인슐린만 처리한 배지로 교환하였다. 처리 2일 후 DMEM 배지(10% FBS 함유)로 교환한 후 지방 소립을 분화시켰다.
- [0251] 상기 분화 전 및 분화 후 세포를 레카(Leica) 형광현미경(DMI 3000b)으로 관찰하고, 그 결과를 도 2에 나타내었다. 도 2의 A 및 A'는 형광현미경으로 관찰된 미분화 3T3-L1 세포를, B는 형광현미경으로 관찰된 분화 3T3-L1 세포를 나타낸다.
- [0252] 도 2의 A'에서 본 발명의 화합물에 의해 미분화된 세포의 지방 소립이 염색된 것으로 나타났으며, 이는 도 2의 B에서 분화된 세포의 지방인 것으로 확인되었다. 상기 결과는 본 발명의 화합물이 지방을 염색하는데 효과적임을 입증한다.
- [0253] **실험예 2: 실시예 1의 화합물의 지방 염색 효과(생체내)**
- [0254] 본 발명에 따른 3-인돌리논 유도체의 지방 염색 효과를 확인하기 위하여, 실시예 1의 화합물로 발생유전학적 동물모델인 제브라피쉬를 염색하였다.
- [0255] 구체적으로, 생후 하루, 15일, 30일, 60일, 그리고 90일이 지난 제브라피쉬 5마리씩을 각각 페트리디쉬(petri-dish) 10ml에 배양하고 실시예 1의 화합물 100 μM로 처리하여 28.5°C에서 15분간 암반응시키는 방법으로 처리하여 염색하였다. 염색 후 시간 경과에 따른 지방세포분화(adipogenesis)를 형광현미경(MZ10F, Leica)으로 관찰하고, 그 결과를 도 3에 나타내었다. 도 3의 A 내지 C는 제브라피쉬의 머리 부위에서의 지방 조직 염색 결과를, D 및 E는 꼬리 부위에서의 지방 조직 염색 결과를, F 및 G는 배 부위에서의 지방 조직 염색 결과를 나타낸다. 또한, 도 3의 I 및 J는 제브라피쉬의 지방 소립을 항-페릴리핀(anti-perilipin) 항체로 염색한 결과를 나타내고, 도 3의 K는 실시예 1의 화합물을 사용하여 지방조직을 염색한 후 제브라피쉬 간과 장을 적출하여 장기 주변에 존재하는 지방조직 염색을 확인한 것이며, 도 3의 L은 장기와 그 주변의 지방조직을 파라핀 절편을 통해 분석한 결과이다. 도 3에서 dpf는 수정 후 일자(day post fertilization)를 의미한다.
- [0256] 도 3의 결과에서 보는 바와 같이, 제브라피쉬에서 지방조직은 수정 후 15일째(도 3B)에 횡장 주위에서 처음으로 관찰되었고, 수정 후 20일째(도 3C)에는 횡장을 포함한 내장과 간 주위에서 지방조직이 나타났으며, 수정 후 15일째와 비교하여 수정 후 20일째에서의 제브라피쉬에서의 지방조직은 그 수가 많아지고 크기가 커지는 것으로 나타났다. 수정 후 30일째(도 3E)에선 가슴 지느러미와 심장주위, 그리고 전체적인 내장 부위에 지방조직이 확장되어 나타나는 것을 확인하였다. 수정 후 60일째(도 3D) 된 제브라피쉬에서는 지방조직의 분포형태가 보다 두드러지게 분화되어 있음을 확인하였으며, 지방은 눈, 턱, 심장, 장, 간, 가슴지느러미, 꼬리지느러미, 척추 주위를 감싸고 있었다. 지방조직이 염색된 부위를 확대한 경우(도 3의 J 내지 J''') 지방이 특정기관에 분포하고 있으며, 둥근 원형 형태를 취하고 있음을 알 수 있었다.
- [0257] 한편, 파라핀 절편(Paraffin section)을 통해 제브라피쉬 지방세포의 해부학적인 구조를 관찰한 결과, 장, 간, 부레, 장간 사이 체강에서 지방이 다량 산재 되어있는 것을 확인하였다(도 3의 K 및 L). 제브라피쉬의 간과 장을 적출한 것에서 그 사이에 지방세포가 본 발명의 화합물에 의해 염색되었으며 그것만을 다시 절편한 결과 지방세포의 구조가 사람의 지방세포와 유사하다는 것을 확인할 수 있었다.
- [0258] 제브라피쉬의 기아상태에서의, 그리고 먹이 제공급에 따른 지방 조직의 변화를 살펴보기 위하여, 수정 후 80일 된 제브라피쉬를 격리하여 14일 동안 먹이를 주지 않고 기아상태를 유도하였다. 이때, 수정 후 80일째에 본 발명에 따른 실시예 1의 화합물로 처리하여 제브라피쉬를 염색하고, 기아상태 5일째, 10일째 및 14일째에 지방 조

직을 관찰하였다. 관찰 결과를 도 4에 나타내었다. 도 4의 A 내지 D에서 보는 바와 같이, 기아상태가 길어질수록 지방조직이 점차 사라지는 것을 확인하였고, 14일째에 지방조직이 완전히 사라져 관찰되지 않는 것을 알 수 있었다. 이는 기아상태에서 생체 내 지방을 에너지원으로 사용하였다는 것을 입증하며, 지방 조직이 모두 소비되어 없어지는 기간이 성체에서 14일 정도임을 알 수 있다.

[0259] 또한, 상기와 같이 지방조직이 사라진 제브라피쉬에 다시 먹이를 공급하여 어느 부위에서 얼마만큼의 지방조직이 다시 발생하는지 관찰하였다. 관찰 결과, 도 4의 E 및 F에서 보는 바와 같이, 먹이 재공급으로 인해 지방조직이 다시 생겨남을 알 수 있었다. 지방조직이 늘어나는 부위는 심장 부근과 전체적인 장 부위였다. 먹이 공급 8일째에서 정상과 같은 분포양상의 지방조직을 관찰할 수 있었다.

[0260] **실험예 3: 실시예 4의 화합물의 지방 염색 효과**

[0261] **1. 다양한 세포 염색**

[0262] 본 발명에 따른 3-인돌리논 유도체의 지방 염색 효과를 확인하기 위하여, 실시예 4의 화합물(에틸 5-메톡시-1,2-비스(3-메틸부트-2-에닐)-3-옥소인돌린-2-카복실레이트)을 이용하여 3T3-L1 (Mouse embryonic fibroblast cell line), PC3 (Human prostate cancer cell line), MCF7 (Human breast adenocarcinoma cell line), HT29 (Human colon cancer cell line), HepG2 (Human liver carcinoma cell line), CHL-1 (Human melanoma cell line), 및 NIH3T3 (Mouse embryonic fibroblast cell line)를 염색하였다.

[0263] 구체적으로, 3T3-L1 (Mouse embryonic fibroblast cell line), PC3 (Human prostate cancer cell line), MCF7 (Human breast adenocarcinoma cell line), HT29 (Human colon cancer cell line), HepG2 (Human liver carcinoma cell line), CHL-1 (Human melanoma cell line), 및 NIH3T3 (Mouse embryonic fibroblast cell line) 세포는 10% 우혈청(fetal bovine serum(FBS, Hyclone)를 포함하는 DMEM 배지(Dulbecco's modified Eagle's medium(DMEM, GIBCOBRL))에서 5% CO<sub>2</sub>, 37°C 조건으로 배양되었다. LLC-PK1 (Porcine kidney cell line)는 15% 우혈청을 포함하는 Medium 199에서 배양되었다. 지방세포의 분화는 10% FBS, 텍사메타손(0.25 μM, Sigma Aldrich, St. Louis, MO), 이소부틸메틸잔틴(0.5 mM, IBMX, Sigma Aldrich) 및 인슐린(166 nM, Sigma Aldrich)을 포함하는 DMEM배지 혼합액에서 2일간(0일부터 2일까지) 처리하여 유도되었다. 상기 배지는 이후 2일 동안 10% FBS 및 인슐린을 포함한 DMEM 배지로 교체되었다. 4일부터는 세포는 10% FBS를 포함하는 DMEM으로 처리되었고, 이 배지는 2일마다 교체되었다.

[0264] 상기 세포는 실시예 4의 화합물 10 μM과 함께 4시간동안 10% FBS를 함유하는 DMEM 배지에서 37°C의 조건으로 배양되었고, 그 후 LeicaMZ10F 현미경으로 관찰하였다. 지방적을 관찰하기 위해 실시예 4의 화합물 또는 Nile Red 5 μM 으로 30분간 염색하였고, 그 후 디메틸설폭사이드(DMSO)로 희석하였다. 염색 후, 세포는 PBS로 세번 세척되었고, 형광 현미경으로 관찰되었다. 470/40nm 또는 545/30nm의 레이저 필터가 전자 여기(excitation)을 위해 사용되었다. 영상은 545/50nm 620/60nm emission filter로 획득되었다.

[0265] 결과를 도 5 및 도 6에 나타내었다.

[0266] 도 5는 미분화된 3T3-L1 세포에 대한 사진 (A, A'), 분화된 3T3-L1 세포에 대한 실시예 4의 화합물 염색 사진 (B, B') 및 분화된 3T3-L1 세포에 대한 Nile Red의 염색 사진(C, C')을 나타낸다. 스케일 바는 A, A'에서는 100 μm를 나타내며, B, B', C, C'에서는 20 μm를 나타낸다.

[0267] 도 5를 참조하면, 본 발명의 실시예 4의 화합물(KR 68432)은 분화된 3T3-L1 세포의 지방적을 높은 민감도로 염색함을 확인할 수 있었다. 반면 비교예로 사용된 지방적 염색에 일반적으로 사용되는 Nile Red 화합물 또한 분화된 3T3-L1 세포의 지방적 염색 효과를 보였으나 본 발명의 실시예 4의 화합물(KR 68432)의 염색으로 인해 획득된 이미지가 보다 선명하고 특이적으로 나타났다.

[0268] 도 6은 본 발명의 실시예 4의 화합물(KR 68432)에 의해 염색된 다양한 종류의 세포에 대한 사진이다. A 및 A'는

NIH3T3 (Mouse embryonic fibroblast cell line)세포주, B 및 B'는 CHL-1 (Human melanoma cell line) 세포주, C 및 C'는 HT29 (Human colon cancer cell line)세포주, D 및 D'는 MCF7 (Human breast adenocarcinoma cell line) 세포주, E 및 E'는 LLC-PK1 (Porcine kidney cell line) 세포주, F 및 F'는 PC3 (Human prostate cancer cell line) 세포주, G 및 G'는 HepG2 (Human liver carcinoma cell line) 세포주를 나타낸다. 스케일 바는 100 μm를 나타낸다.

**2. LipidTOX™와의 비교염색**

세포는 프로프라놀롤(30 μM)에서 인산 지질 검출용 화합물인 LipidTOX™(phospholipid) (50 μL/웰)와 함께 배양되었다. Cyclosporin A (30 μM)은 양성 대조군으로 사용되었다(50 μL/웰). 세포는 상기 실시예 4 화합물의 효과를 나타낼 수 있는 기간동안 일반적인 배양 조건에서 배양되었다. 그 후 formaldehyde/Hoechst 33342 고정 용액(100 μL)을 각각의 웰에 가하고, 상온에서 30분간 배양하였다. 고정용액을 제거한 후, 세포는 형광 현미경으로 관찰되었다.

중성 지질 염색을 위해 중성 지질 검출용 화합물인 LipidTOX™ (neutral lipid) 100 μL를 각각의 웰에 가하였다. 상온에서 30분 배양 후, 세포를 관찰하였다.

지방적은 중성지방 및 인지질의 혼합물인 바, 상기 LipidTOX™(phospholipid) 및 LipidTOX™ (neutral lipid) 세트를 사용하여 인지질과 중성 지방을 확인할 수 있다.

중성 지방 및 인지질 중 어떤 지방이 염색되는지 확인하기 위해, 본 발명의 실시예 4의 화합물과 HepG2 세포가 함께 배양되었고, 결과를 도 7에 나타내었다. 상기 HepG2 세포는 중성 지방 또는 인지질 특이적 염색 시약 (LipidTOX™)과 함께 배양되었고, 이는 시중에서 구입하여 사용하였다.

도 7을 참조하면, 본 발명의 실시예 4의 화합물은 LipidTOX™과 복합 염색이 가능하며, 특히 중성 지방 염색용 LipidTOX™의 적색 염색과 겹쳐 나타남을 알 수 있었다. 도 7의 화살표는 중복 염색된 중성 지방 부위를 나타낸다. 따라서 본 발명의 실시예 4의 화합물은 중성 지방을 특이적으로 염색함을 알 수 있었다. 스케일 바는 100 μm를 나타낸다.

**3. BODIPY 493/503와의 비교염색**

HepG2 세포는 과량의 지방적에 노출되었다. 세포는 2% 알코올, 10 μM 아미오다론, 50 μM 테트라사이클린 및 5 μM 타목시펜과 72시간동안 배양되었다. 상기 화합물 처리 후, 10 μM의 실시예 4의 화합물 및 40 μg/ml BODIPY 493/503을 30분간 처리하였다. 그 후 화합물은 원하고자 하는 최종 농도를 얻기 위해 희석되었고, 배양 배지에서 최종 DMSO의 농도는 1%를 넘지 않았으며, 운반 샘플은 DMSO의 양과 동일하게 처리되었다. 470/40nm 또는 493/30nm의 레이저 필터가 전자 여기(excitation)을 위해 사용되었다. 영상은 545/50nm 503/60nm emission filter로 획득되었다.

결과를 도 8에 나타내었다. 도 8을 참조하면, 본 발명의 실시예 4의 화합물(KR-68432)가 처리된 경우, 지방증 유도된 HepG2 세포가 BODIPY 493/503이 처리된 경우보다 더욱 선명하고 특이적으로 지방을 염색함을 확인할 수 있었다.

**4. 경구 투여 후 마우스 지방조직 염색 효과**

실시예 4의 화합물(KR68432)의 조직내 분포도를 측정 하기 위하여 Mouse는 4주령 nude male을 사용하였다. KR-68432를 5% DMSO로 먼저 녹이고 그 이후 95%의 olive oil을 첨가해 100 mpk로 맞추었다. 실험에 사용한 Mouse

가 20g 정도이므로 투여액은 0.2 ml 씩 준비 하였다. 실시예 4의 화합물(KR68432)를 구강 투여 후 30 min, 1 h, 2 h 이후 장기를 시간별로 적출하였다. 장기는 background를 최소화 하기 위해 가장 위를 가장 마지막에 분리하고 브레인, 간, 폐, 지방, 심장 등의 순서로 적출하였다. 적출한 장기를 PBS용액으로 잘 세척한 후 fluorescence microscope에서 excitation 470 nm, emission 525 nm에서 측정하였다.

[0280] 결과를 도 9에 나타내었다.

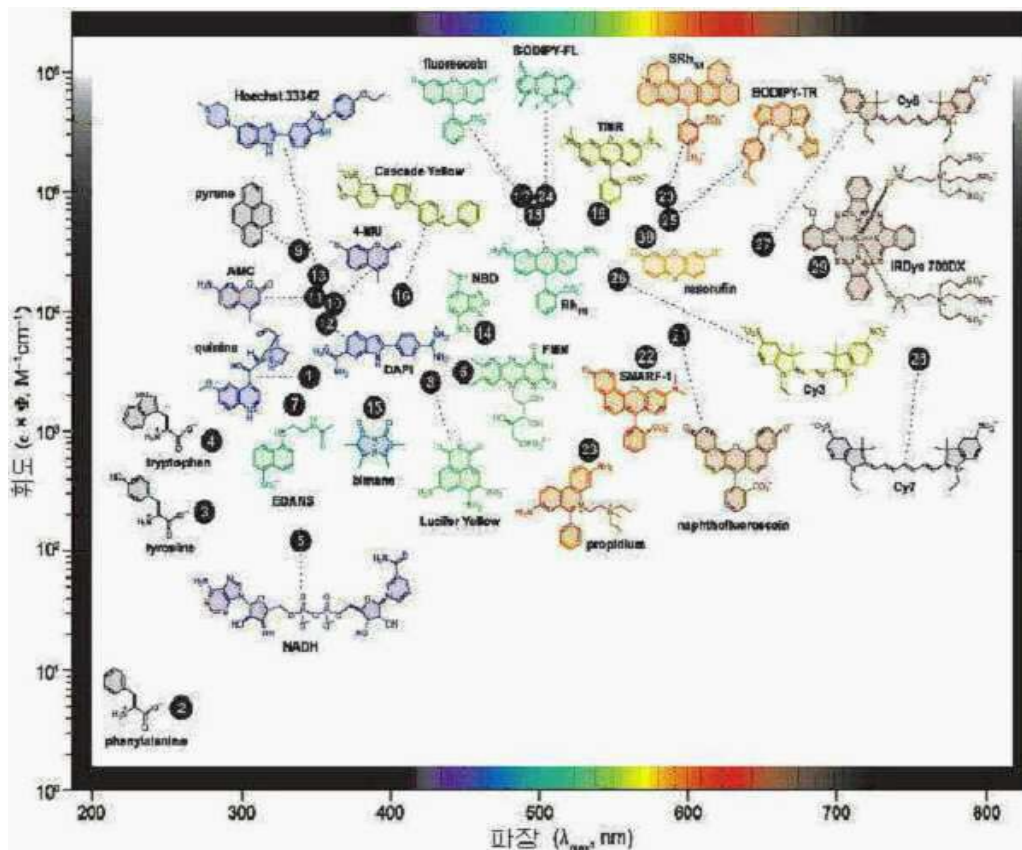
[0281] 도 9를 참조하면, 적출된 장기의 지방은 실시예 4의 화합물 구강 투여 후 시간이 지날수록 형광이 뚜렷하게 나타남을 알 수 있었다.

[0282] 따라서 상기 결과들은 본 발명에 따른 3-인돌리논 유도체를 이용하여 지방 조직을 효과적으로 염색할 수 있음을 보여주며, 따라서 본 발명의 유도체는 생체 진단, 지방 조절 물질 탐색, 또는 생물학적 현상을 연구하는데 유용하게 사용될 수 있을 것이다.

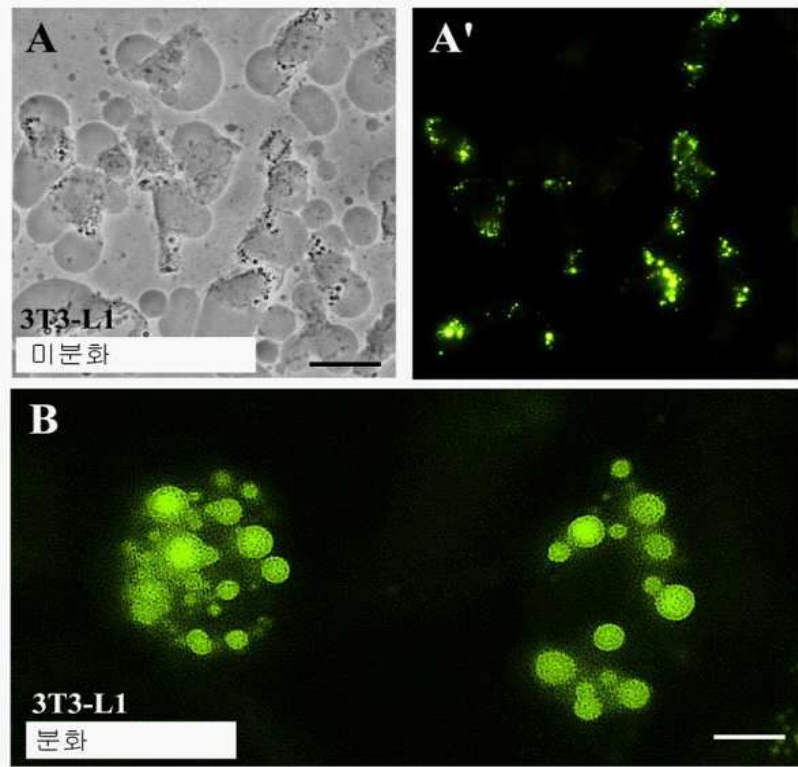
[0283] 이상으로 본 발명의 특정한 부분을 상세히 기술하였는 바, 당업계의 통상의 지식을 가진 자에게 있어서, 이러한 구체적 기술은 단지 바람직한 실시예일 뿐이며, 이에 의해 본 발명의 범위가 제한되는 것이 아닌 점은 명백할 것이다. 따라서, 본 발명의 실질적인 범위는 첨부된 청구항들과 그것들의 등가물에 의하여 정의된다고 할 것이다.

도면

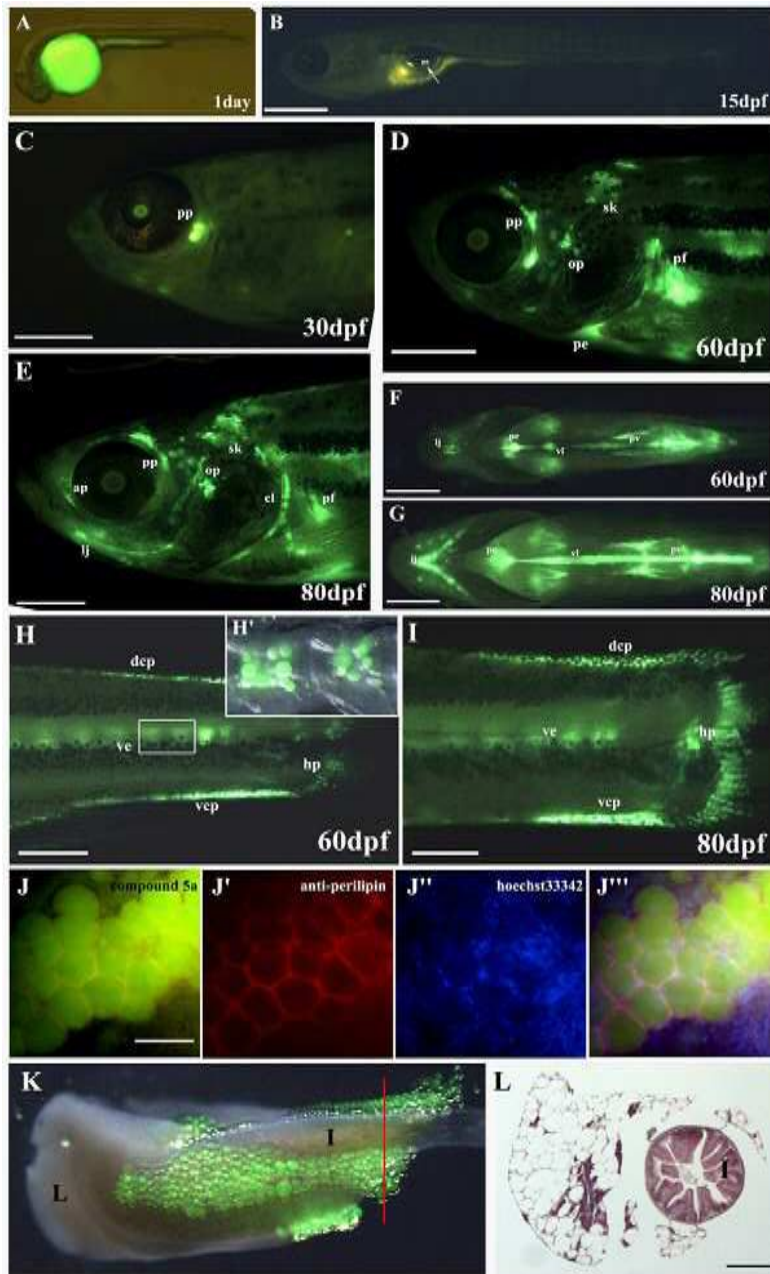
도면1



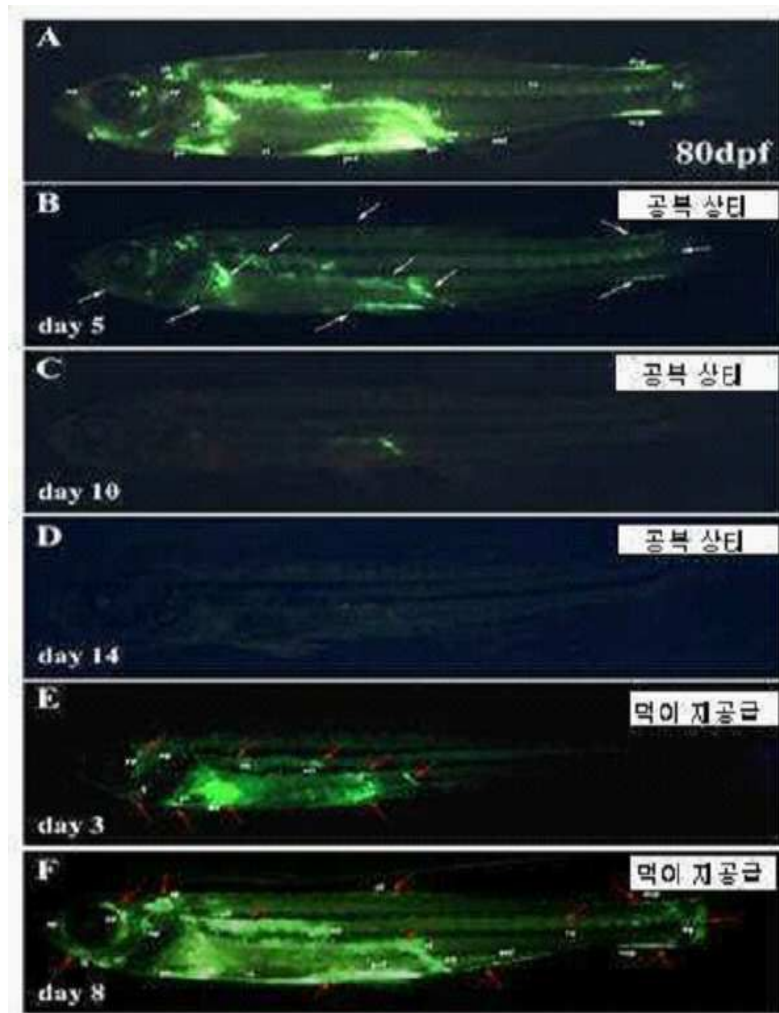
도면2



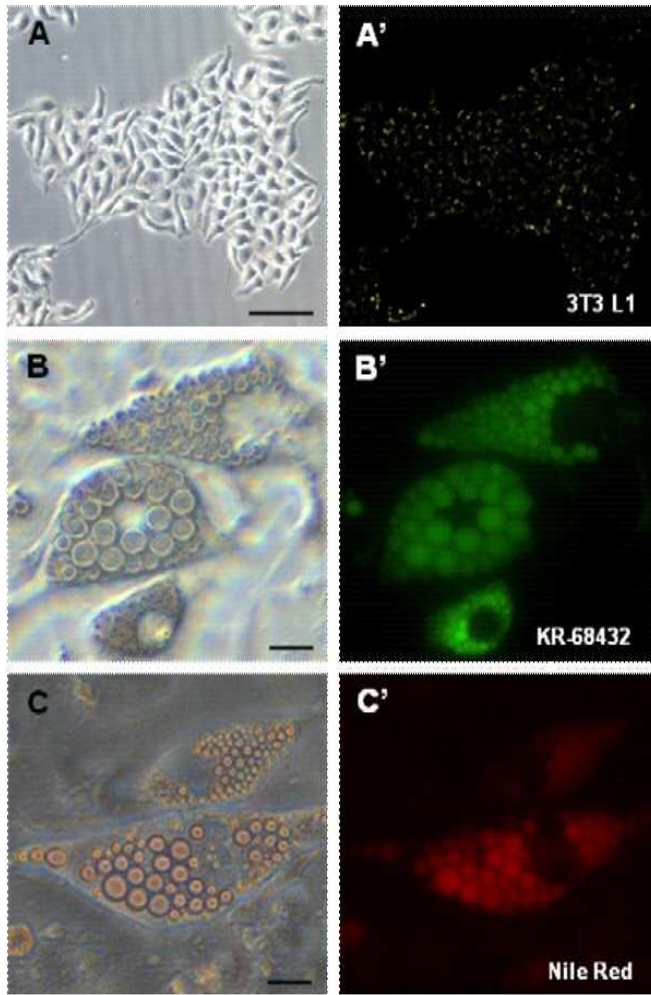
도면3



도면4

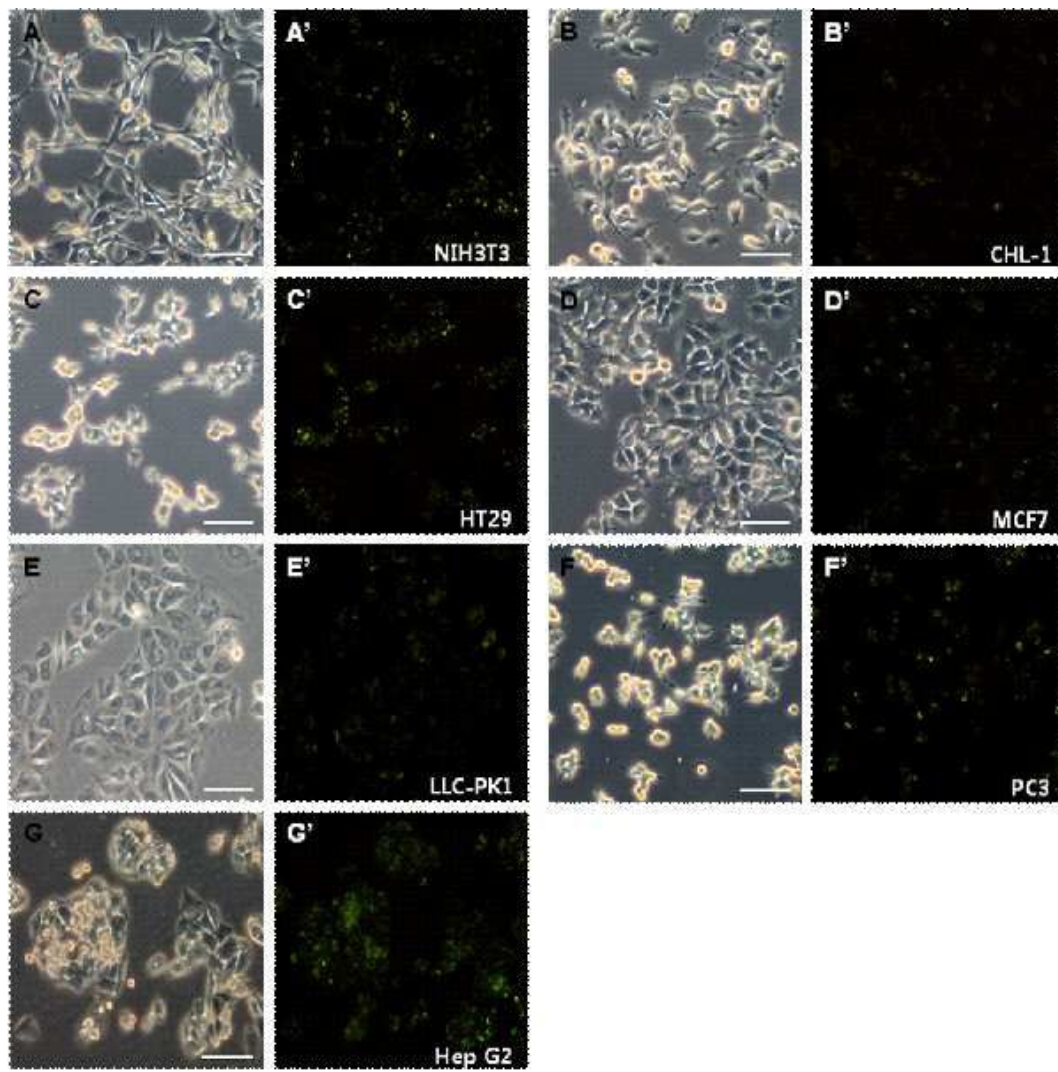


도면5

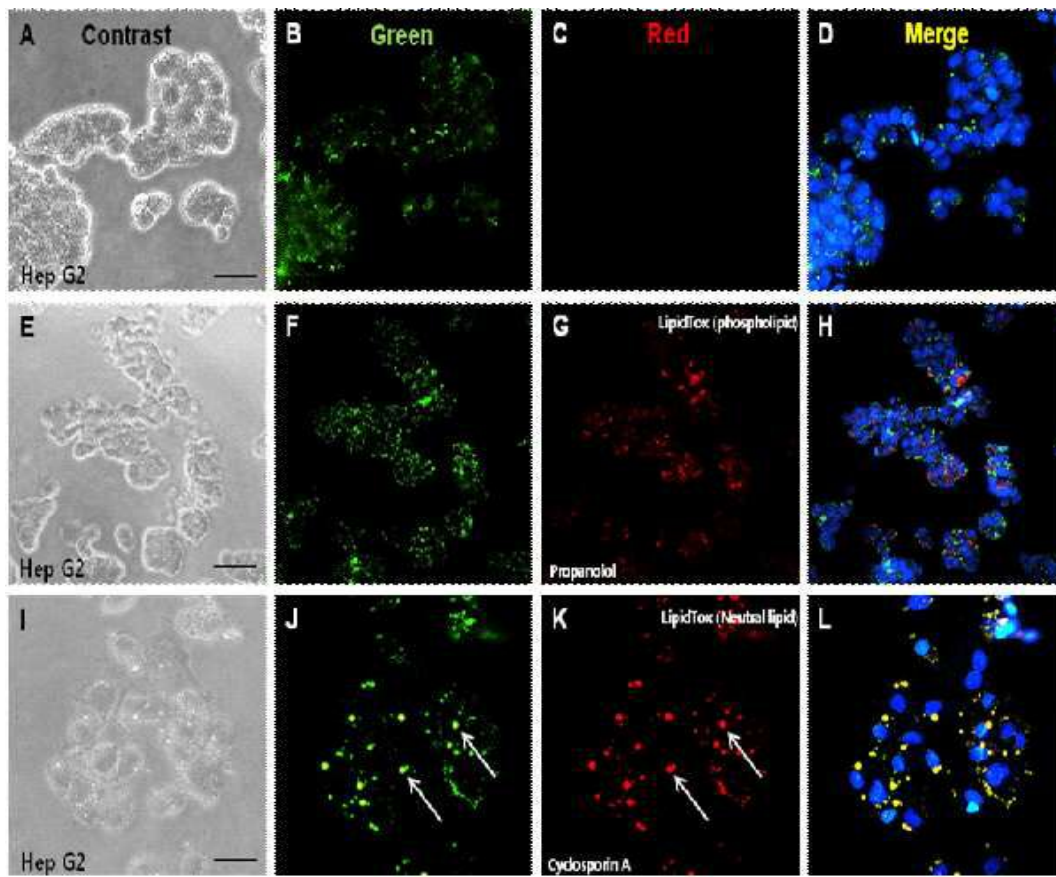




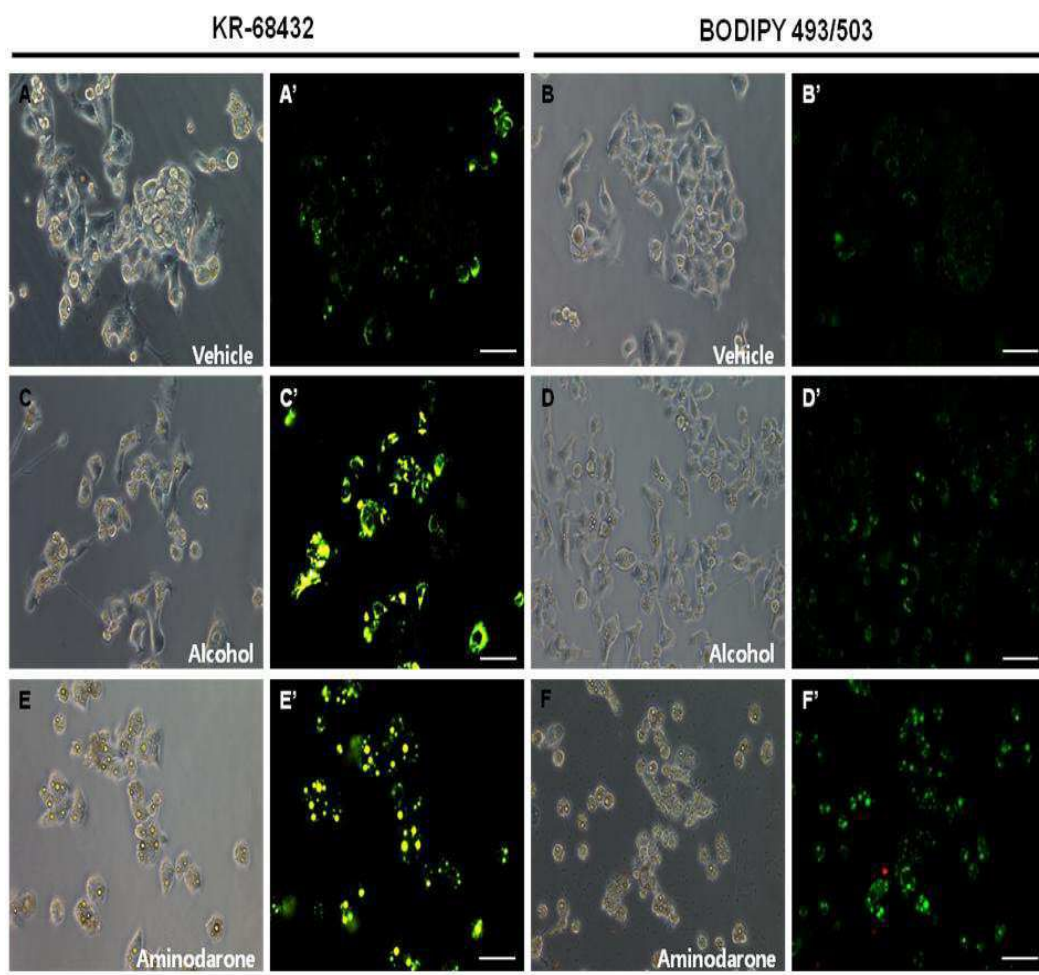
도면6



도면7



도면8



도면9

