



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2013년12월20일
 (11) 등록번호 10-1343668
 (24) 등록일자 2013년12월13일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61K 31/404 (2006.01) *C07D 209/04* (2006.01)
G01N 33/15 (2006.01) *A61P 3/00* (2006.01)
 (21) 출원번호 10-2011-0086553
 (22) 출원일자 2011년08월29일
 심사청구일자 2011년08월29일
 (65) 공개번호 10-2013-0023635
 (43) 공개일자 2013년03월08일
 (56) 선행기술조사문헌
 대한화학회 학술대회
 KR1020090115954 A
 KR1020110077909 A
 US6861442 B1

(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 40
 1호 (장대동, 장대푸르지오)
 (74) 대리인
 특허법인태백

전체 청구항 수 : 총 9 항

심사관 : 최영희

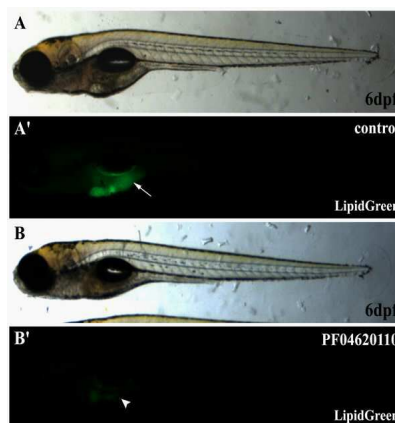
(54) 발명의 명칭 **3-인돌리논 유도체를 이용한 대사증후군 치료 약물의 스크리닝 방법**

(57) 요약

본 발명은 지질만을 특이적으로 염색하는 화합물을 포함하는 대사증후군 치료 약물의 스크리닝 키트 및 이를 이용하는 대사증후군 치료 약물의 스크리닝 방법을 제공한다.

본 발명의 화학식 1 또는 2로 표시된 3-인돌리논 유도체 또는 그의 염은 지방조직만을 특이적으로 높은 민감도로 염색하는 특성이 있어, 이를 통해 발생하는 형광 강도를 측정하여 광학적 방법으로 지방 조직의 양을 확인할 수 있다. 이 방법은 수술이나 조직의 추출 없이도 가능하므로, 실험용 동물의 불필요한 희생을 막을 수 있으며, 생체 내에서 지방조직의 이동 및 생성, 소멸을 장기간 동안 관찰할 수 있다. 따라서 본 발명의 화학식 1 또는 2로 표시된 3-인돌리논 유도체 또는 그의 염을 포함하는 스크리닝 키트는 대사증후군 치료 약물의 개발에 유용하게 사용될 수 있다.

대표도 - 도3



이 발명을 지원한 국가연구개발사업
과제고유번호 KK-1103-D0
부처명 산업기술연구회
연구사업명 기관고유사업
연구과제명 대사중후군 치료제 개발 연구
기 여 율 1/1
주관기관 한국화학연구원
연구기간 2011.01.01 ~ 2011.12.31

특허청구의 범위

청구항 1

에틸 1,2-디알릴-5-메톡시-3-옥소인돌린-2-카복실레이트 또는 그의 염을 포함하는 대사증후군 치료 약물의 스크리닝 키트.

청구항 2

삭제

청구항 3

삭제

청구항 4

제1항에 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 치료 약물의 스크리닝 키트.

청구항 5

제4항에 있어서,

상기 간질환은 알코올성 및 비알코올성 간의 지질대사 이상으로 인한 지방간, 간염 및 간경화를 포함하는 것인 대사증후군 치료 약물의 스크리닝 키트.

청구항 6

에틸 1,2-디알릴-5-메톡시-3-옥소인돌린-2-카복실레이트 및 후보 약물을 사람을 제외한 동물 모델에 투여하는 단계; 및

상기 동물의 생체 형광 이미지를 분석하는 단계를 포함하는 대사증후군 치료 약물의 스크리닝 방법.

청구항 7

삭제

청구항 8

삭제

청구항 9

제6항에 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 치료 약물의 스크리닝 방법.

청구항 10

제9항에 있어서,

상기 간질환은 알코올성 및 비알콜성 간의 지질대사 이상으로 인한 지방간, 간염 및 간경화를 포함하는 것인 대사증후군 치료 약물의 스크리닝 방법.

청구항 11

제6항에 있어서,

상기 에틸 1,2-디알릴-5-메톡시-3-옥소인돌린-2-카복실레이트는 액제 상태인 것인 대사증후군 치료 약물의 스크리닝 방법.

청구항 12

제6항에 있어서,

동물이 제브라피쉬, 생쥐, 집쥐, 기니피그, 토끼, 고양이, 개, 양, 돼지, 소, 원숭이, 비비, 또는 침팬지인 것인 대사증후군 치료 약물의 스크리닝 방법.

청구항 13

제6항에 있어서,

분석은 형광 강도의 소광을 측정하는 것인 대사증후군 치료 약물의 스크리닝 방법.

명세서

기술분야

[0001] 본 발명은 지질만을 특이적으로 염색하는 화합물을 포함하는 대사증후군 치료 약물의 스크리닝 키트 및 이를 이용하는 대사증후군 치료 약물의 스크리닝 방법에 관한 것이다.

배경기술

[0002] 대사증후군(Metabolic syndrome-인슐린 저항성; MetS)은 높은 수치의 혈액 지방, 고혈압, 인슐린 내성 및 중심부 비만(복부 부위에서의 과도한 지방 조직)을 특징으로 하며, 모든 성인병 즉, 비만, 고혈압, 고지혈증, 고혈당의 기반이 되고 원인이 된다. 대사증후군은 동맥경화, 고혈압, 비만, 당뇨병, 고지혈증 등 위험한 성인병이 한사람에게 동시다발적으로 나타나는 현상이며 대사증후군 환자들은 당뇨나 고혈압 같은 만성질환뿐 아니라 심혈관 질환으로 인한 돌연사의 위험까지 안고 살게 된다. 혈중 콜레스테롤과 중성지방의 증가에 따른 만성 대사성 질환은 비만, 당뇨, 대사증후군 등 만성 대사성 질환의 근본적 원인이다.

[0003] 대사증후군은 인구의 고령화와 환경변화에 의해 발병률과 유병률이 급증하고 있고 이에 따른 사망률도 매우 높을 뿐 아니라 합병증 발병률 또한 매우 높아 경제적 사회적으로 막대한 손실을 야기하지만, 현재 사용되고 있는 약물은 대부분 효능도 낮을뿐더러 장기 복용 시 부작용 발생률이 높아 삶의 질 향상 측면에서도 치료 약물 개발이 시급한 실정이다. 또한 비만 인구가 급격하게 증가되는 현 상황에서 치료제의 수요가 감소되는 현상이 일어나고 있으며, 이는 기존 약물에 대한 부작용과 효능에 대한 불만임을 감안할 때 이를 극복할 수 있는 새로운 기전의 비만치료제 개발이 절실한 상황이다.

[0004] 이러한 대사증후군 치료제 개발과 관련하여, 세포 또는 생체 내에서 일어나는 분자 수준의 변화, 즉 생화학적, 생물학적 변화를 감지하고 이를 영상화하는 기술인 분자영상(molecular imaging)이 유용하게 사용되고 있고, 이의 필수적인 연구 수단으로 효능이 우수한 저분자 형광물질이 요구되고 있다. 특히 대사증후군 치료제 개발과

관련해서는 지질만을 특이적으로 염색하는 형광물질이 필수적으로 요구되고 있다.

발명의 내용

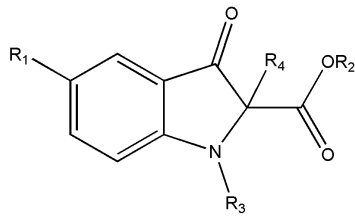
해결하려는 과제

[0005] 따라서 본 발명은 지질만을 특이적으로 염색하는 화합물을 포함하는 대사증후군 치료 약물의 스크리닝 키트 및 이를 이용하는 대사증후군 치료 약물의 스크리닝 방법을 제공한다.

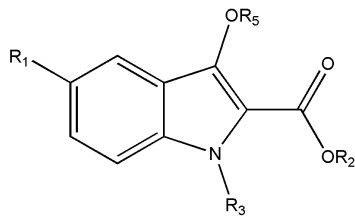
과제의 해결 수단

[0006] 상기 과제의 해결을 위하여, 본 발명은 하기 화학식 1 또는 2로 표시된 3-인돌리논 유도체 또는 그의 염을 포함하는 대사증후군 치료 약물의 스크리닝 키트를 제공한다:

[0007] [화학식 1]



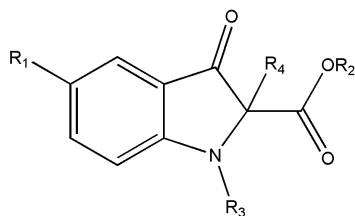
[0008]
[0009] [화학식 2]



- [0010]
- [0011] R₁은 수소, C₁₋₆ 알콕시, C₁₋₄ 알킬로 치환되거나 치환되지 않은 C₂₋₆ 알케닐옥시, 벤질옥시 또는 C₁₋₄ 알콕시페닐이 고;
- [0012] R₂는 C₁₋₆ 알킬이고;
- [0013] R₃ 및 R₄는 각각 독립적으로 수소, C₁₋₆ 알킬, C₁₋₄ 알킬로 치환되거나 치환되지 않은 C₂₋₆ 알케닐, C₂₋₆ 알키닐, 벤질 또는 C₃₋₆ 사이클로알킬메틸이고;
- [0014] R₅는 C₁₋₆ 알킬, C₁₋₄ 알킬로 치환되거나 치환되지 않은 C₂₋₆ 알케닐 또는 C₃₋₆ 사이클로알킬메틸이다.

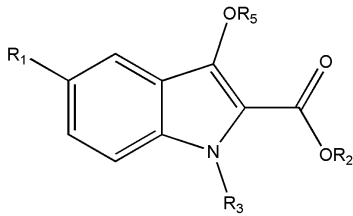
- [0015] 본 발명은 또한
- [0016] 하기 화학식 1 또는 2로 표시된 3-인돌리논 유도체 및 후보 약물을 동물 모델에 투여하는 단계; 및
- [0017] 상기 동물의 생체 형광 이미지를 분석하는 단계를 포함하는 대사증후군 치료 약물의 스크리닝 방법을 제공한다:

[0018] [화학식 1]



[0019]

[0020] [화학식 2]



[0021]

[0022] R₁은 수소, C₁₋₆ 알콕시, C₁₋₄ 알킬로 치환되거나 치환되지 않은 C₂₋₆ 알케닐옥시, 벤질옥시 또는 C₁₋₄ 알콕시페닐이 고;

[0023] R₂는 C₁₋₆ 알킬이고;

[0024] R₃ 및 R₄는 각각 독립적으로 수소, C₁₋₆ 알킬, C₁₋₄ 알킬로 치환되거나 치환되지 않은 C₂₋₆ 알케닐, C₂₋₆ 알키닐, 벤질 또는 C₃₋₆ 사이클로알킬메틸이고;

[0025] R₅는 C₁₋₆ 알킬, C₁₋₄ 알킬로 치환되거나 치환되지 않은 C₂₋₆ 알케닐 또는 C₃₋₆ 사이클로알킬메틸이다.

발명의 효과

[0026] 본 발명의 화학식 1 또는 2로 표시된 3-인돌린 유도체 또는 그의 염은 지방만을 특이적으로 높은 민감도로 염색하는 특성이 있어, 이를 통해 발생하는 형광 강도를 측정하여 광학적 방법으로 지방의 양을 확인할 수 있다. 이 방법은 수술이나 조직의 추출 없이도 가능하므로, 실험용 동물의 불필요한 희생을 막을 수 있으며, 생체 내에서 지방조직의 이동 및 생성, 소멸을 장기간 동안 관찰할 수 있다. 따라서 본 발명의 화학식 1 또는 2로 표시된 3-인돌린 유도체 또는 그의 염을 포함하는 스크리닝 키트는 대사증후군 치료 약물의 개발에 유용하게 사용될 수 있다.

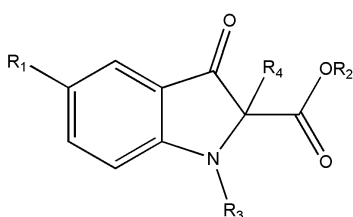
도면의 간단한 설명

[0027] 도 1은 실시예 18에서 염색 후 시간 경과에 따른 제브라피쉬 지방세포분화를 형광현미경으로 관찰한 사진이다.
 도 2는 실시예 18에서 염색 후 제브라피쉬의 기아상태에서의, 그리고 먹이 제공급에 따른 지방 조직의 변화를 형광현미경으로 관찰한 사진이다.
 도 3은 제브라피쉬에 있어서 실시예 1의 화합물을 통한 DGAT1 저해제의 스크리닝 결과이다.
 도 4는 형광 감소량을 통한 상기 DGAT1 저해제의 지방 감소 효과를 나타낸 결과 그래프이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

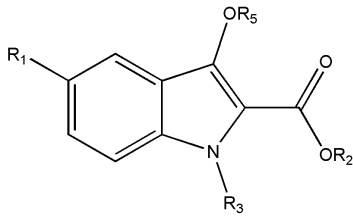
[0028] 본 발명은 하기 화학식 1 또는 2로 표시된 3-인돌린 유도체 또는 그의 염을 포함하는 대사증후군 치료 약물의 스크리닝 키트에 관한 것이다:

[0029] [화학식 1]



[0030]

[0031] [화학식 2]



[0032]

[0033] R₁은 수소, C₁₋₆ 알콕시, C₁₋₄ 알킬로 치환되거나 치환되지 않은 C₂₋₆ 알케닐옥시, 벤질옥시 또는 C₁₋₄ 알콕시페닐이 고;

[0034] R₂는 C₁₋₆ 알킬이고;

[0035] R₃ 및 R₄는 각각 독립적으로 수소, C₁₋₆ 알킬, C₁₋₄ 알킬로 치환되거나 치환되지 않은 C₂₋₆ 알케닐, C₂₋₆ 알킬닐, 벤질 또는 C₃₋₆ 사이클로알킬메틸이고;

[0036] R₅는 C₁₋₆ 알킬, C₁₋₄ 알킬로 치환되거나 치환되지 않은 C₂₋₆ 알케닐 또는 C₃₋₆ 사이클로알킬메틸이다.

[0037] 상기 화학식 1 또는 2로 표시된 3-인돌리논 유도체에 있어서, 바람직하게는, 상기 R₁은 수소, 메톡시, 알릴옥시, 벤질옥시 또는 메톡시페닐이고; 상기 R₂는 메틸, 에틸 또는 이소프로필이고; 상기 R₃ 및 R₄는 각각 독립적으로 수소, 메틸, 프로필, 헥실, 알릴, 프로파질, 2-부테닐, 3-메틸부트-2-에닐, 벤질 또는 사이클로프로필 메틸이고; 상기 R₅는 메틸, 프로필, 알릴 또는 사이클로프로필메틸이다.

[0038] 본 발명에 따른 화학식 1 또는 2로 표시된 3-인돌리논 유도체 또는 그의 염 중 더욱 바람직한 화합물의 구체적인 예는 다음과 같다:

[0039] 에틸 1,2-디알릴-5-메톡시-3-옥소인돌린-2-카복실레이트 (KR68425);

[0040] 에틸 1,2-디알릴-3-옥소인돌린-2-카복실레이트 (KR68426);

[0041] 에틸 1,2-디((E)-부트-2-에닐)-5-메톡시-3-옥소인돌린-2-카복실레이트 (KR68429);

[0042] 에틸 5-메톡시-1,2-비스(3-메틸부트-2-에닐)-3-옥소인돌린-2-카복실레이트 (KR68432);

[0043] 에틸 1-알릴-5-메톡시-2-(3-메틸부트-2-에닐)-3-옥소인돌린-2-카복실레이트 (KR68433);

[0044] (E)-에틸 2-알릴-1-(부트-2-에닐)-5-메톡시-3-옥소인돌린-2-카복실레이트 (KR68434);

[0045] 에틸 5-메톡시-3-옥소-1,2-디(프로프-2-에닐)인돌린-2-카복실레이트 (KR67705);

[0046] 에틸 2-알릴-1-벤질-5-메톡시-3-옥소인돌린-2-카복실레이트 (KR68456);

[0047] 에틸 3-(알릴옥시)-1-벤질-5-메톡시-인돌-2-카복실레이트 (KR68457);

[0048] 에틸 1,2-디벤질-5-메톡시-3-옥소인돌린-2-카복실레이트 (KR68458);

[0049] 에틸 2-알릴-5-메톡시-1-메틸-3-옥소인돌린-2-카복실레이트 (KR68459);

[0050] 에틸 5-메톡시-1,2-디메틸-3-옥소인돌린-2-카복실레이트 (KR68461);

[0051] 에틸 3,5-디메톡시-1-메틸-1H-인돌-2-카복실레이트 (KR68462);

[0052] 에틸 5-메톡시-3-옥소-1,2-디프로필인돌린-2-카복실레이트 (KR67703);

[0053] 에틸 5-메톡시-3-프로필-1-프로필-인돌-2-카복실레이트 (KR67704);

[0054] 에틸 1,2-디헥실-5-메톡시-3-옥소인돌린-2-카복실레이트 (KR67796);

[0055] 에틸 1,2-비스(사이클로프로필메틸)-5-메톡시-3-옥소인돌린-2-카복실레이트 (KR67833);

[0056] 에틸 1,2-디알릴-5-(4-메톡시페닐)-3-옥소인돌린-2-카복실레이트 (KR67718);

[0057] 에틸 1,2-디알릴-5-(벤질옥시)-3-옥소인돌린-2-카복실레이트 (KR67738);

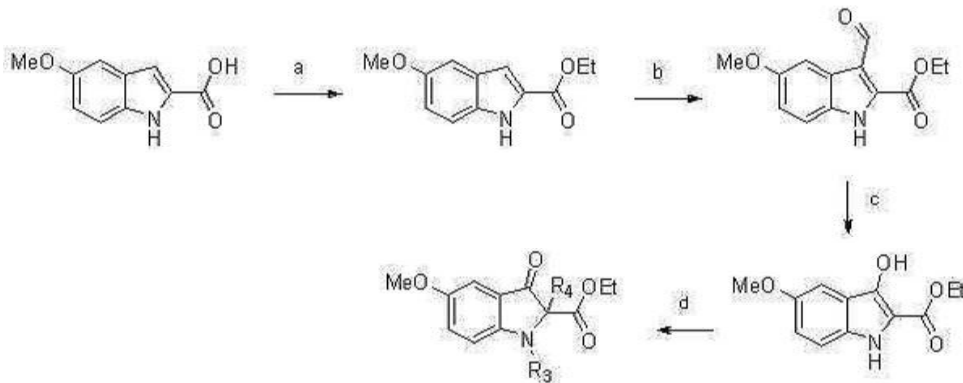
[0058] 1,2-비스(사이클로프로필메틸)-5-메톡시-3-옥소인돌린-2-카복실레이트 (KR67832); 및

[0059] 에틸 1,2-디알릴-5-(알릴옥시)-3-옥소인돌린-2-카복실레이트 (KR67834).

[0060] 본 발명에 따른 화학식 1 또는 2로 표시된 3-인돌린은 유도체는 특히 지방을 선택적으로 형광염색할 수 있는 바, 신약개발을 위해 지방 조절 화합물을 발굴하는 스크리닝(screening) 작업에 응용하고 생물학적 현상을 연구하는 데에 유용하게 사용될 수 있다.

[0061] 본 발명에 따른 화학식 1 또는 2로 표시된 3-인돌린은 유도체는 예컨대 하기 반응식 1 내지 6으로 표시되는 합성경로에 따라 제조할 수 있다. 이때, 반응식 1은 치환체 R₃과 R₄가 동일한 경우이다:

[0062] [반응식 1]



[0063]

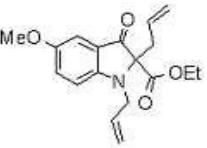
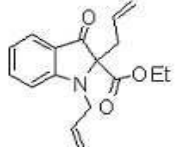
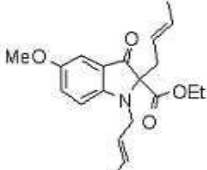
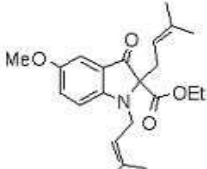
[0064] 시약 및 조건: (a) H₂SO₄ 촉매, EtOH, 환류; (b) POCl₃, DMF; (c) mCPBA, p-TSA, CH₂Cl₂; (d) R₃-I(또는 R₄-I), K₂CO₃, 아세톤, 환류 10hr.

[0065] 상기 식에서,

[0066] R₃ 및 R₄는 화학식 1 및 2에서 정의한 바와 같으나 서로 동일한 치환체이다.

[0067] 반응식 1에서는, 5-메톡시-1H-인돌-2-카복실산을 H₂SO₄ 촉매를 사용하여 에스터화 반응시켜 에스터를 형성한 후, 이를 DMF, POCl₃로 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	¹ H NMR (300 MHz, CDCl ₃) 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), 5.96-5.83 (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	¹ H NMR (300 MHz, CDCl ₃) 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	¹ H NMR (300 MHz, CDCl ₃) 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	¹ H NMR (300 MHz, CDCl ₃) 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), 1.83 (s, 3H), 1.55 (s, 3H), 1.17 (t, <i>J</i> = 7.1Hz, 3H)

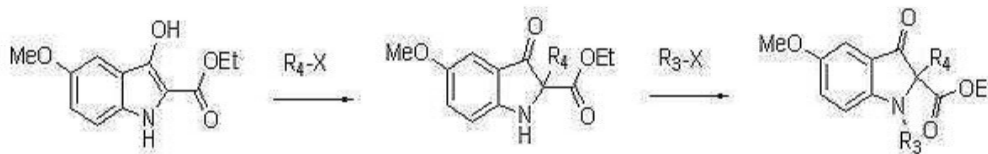
[0068]

[0069]

반응식 2는 치환체 R₃과 R₄가 상이한 경우이다.

[0070]

[반응식 2]



[0071]

[0072]

상기 식에서,

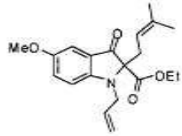
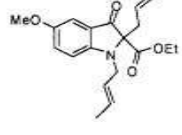
[0073]

R₃ 및 R₄는 화학식 1 및 2에서 정의한 바와 같으나 서로 상이한 치환체이다.

[0074]

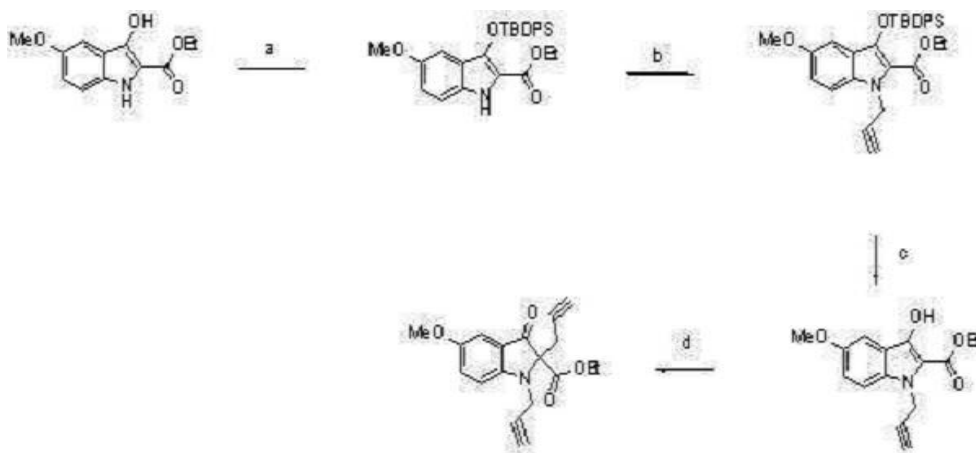
반응식 2에서는, 인들의 1번 위치의 질소와 2번 위치의 탄소에 치환된 치환기의 효과를 보기 위해서, 2번 위치의 탄소가 치환된 인들로부터 K₂CO₃와 아세토니트릴 환류 조건에서 목적하는 유도체를 합성할 수 있다. 반응식 2에 의해 제조되는 본 발명 화합물의 일례에 대하여 구조 및 물성을 하기 표 2에 나타내었다.

표 2

코드	구조	흡광도/ 형광도	NMR 데이터
KR 68433		460nm/ 560nm	¹ H NMR (300 MHz, CDCl ₃) 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	¹ H NMR (300 MHz, CDCl ₃) 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)

[0075]

[0076] [반응식 3]

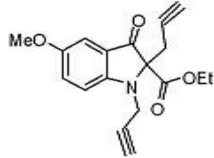


[0077]

[0078] 시약 및 조건: (a) TBDS-Cl, 이미다졸, THF, 환류 5hr; (b) NaH, 프로파길 브로마이드, DMF, 환류 3hr; (c) TBAF, CH₂Cl₂, 환류, 2hr; (d) 프로파길 브로마이드, K₂CO₃, 아세톤, 환류 10hr.

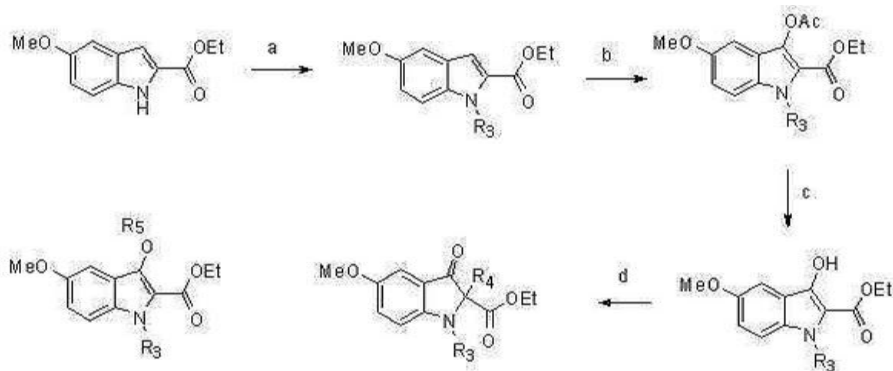
[0079] 반응식 3에서는, 3번 위치의 OH 작용기를 TBDS로 보호하고 질소를 먼저 치환한 후 2번 위치의 탄소에 치환기를 도입함으로써 보다 좋은 수득물을 얻을 수 있다. 반응식 3에 의해 제조되는 본 발명 화합물의 일례에 대하여 구조 및 물성을 하기 표 3에 나타내었다.

표 3

코드	구조	흡광도/ 형광도	NMR 데이터
KR 67705		440nm/ 560nm	¹ H NMR (300 MHz, CDCl ₃) 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)

[0080]

[0081] [반응식 4]



[0082]

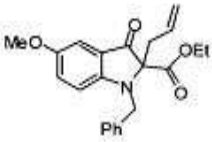
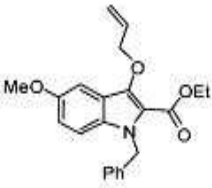
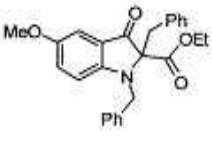
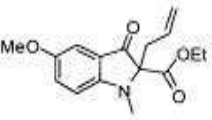
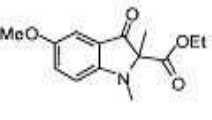
[0083] 시약 및 조건: (a) R₃-Br, NaH, DMF; (b) Pd(OAc)₂, PhI(OAc)₂, 아세트산, 환류; (c) 소듐 tert-부톡사이드, K₂CO₃, MeOH, THF; (d) R₄-Br 또는 R₅-Br, K₂CO₃, 아세톤, 환류.

[0084] 상기 식에서,

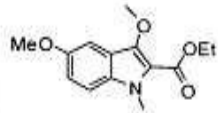
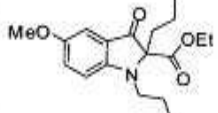
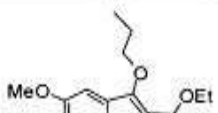
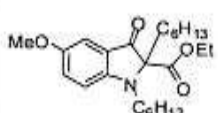
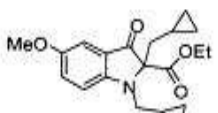
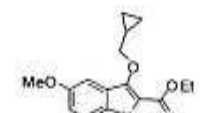
[0085] R₃, R₄ 및 R₅는 화학식 1 및 2에서 정의한 바와 같다.

[0086] 반응식 4에서는, 에틸 5-메톡시-1H-인돌-2-카복실레이트에서 NaH를 사용하여 DMF 실온 조건에서 질소에 치환기를 도입한 후, 이를 Pd(OAc)₂ 및 PhI(OAc)₂와 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

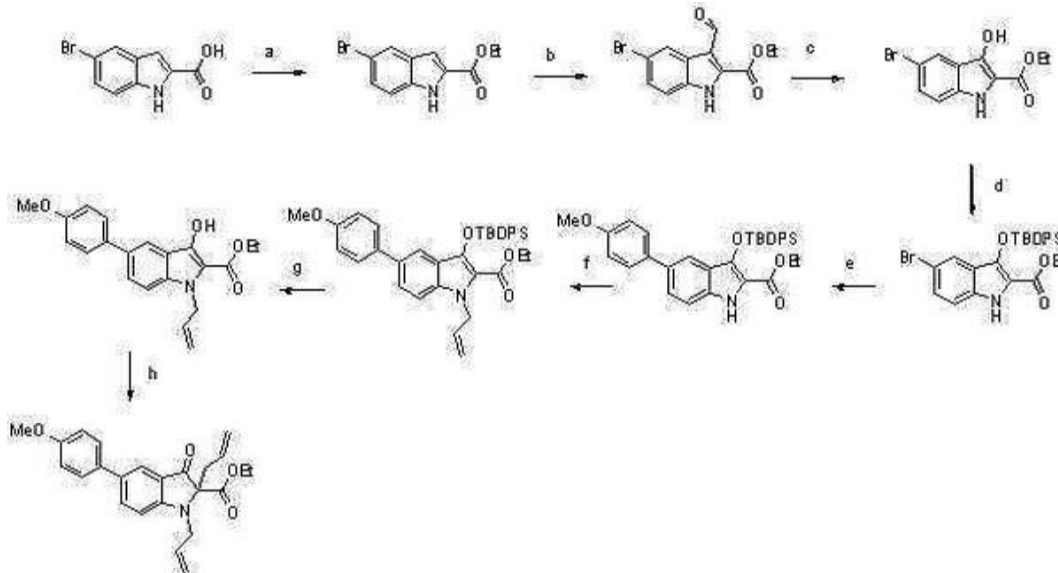
코드	구조	흡광도/ 형광도	NMR 데이터
KR 68456		450nm/ 540nm	¹ H NMR (300 MHz, CDCl ₃) δ 7.36-7.25 (m, 5H), 7.08-7.03 (m, 2H), 6.56-6.52 (m, 1H), 5.54-5.41 (m, 1H), 5.10 (d, <i>J</i> = 17Hz, 1H), 4.97 (d, <i>J</i> = 10Hz, 1H), 4.60 (d, <i>J</i> = 16Hz, 1H), 4.47 (d, <i>J</i> = 16Hz, 1H), 4.15-4.02 (m, 2H), 3.76 (s, 3H), 3.06-2.91 (m, 2H), 1.15 (t, <i>J</i> = 7.1Hz, 3H)
KR 68457		450nm/ 510nm	¹ H NMR (300 MHz, CDCl ₃) 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	¹ H NMR (300 MHz, CDCl ₃) 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	¹ H NMR (300 MHz, CDCl ₃) 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	¹ H NMR (300 MHz, CDCl ₃) 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)

[0087]

<p>KR 68462</p>		<p>350nm/ 430nm</p>	<p>¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) 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>¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) 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>¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) 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>¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) 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>¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) 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>¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) 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>

[0088]

[0089] [반응식 5]



[0090]

[0091]

시약 및 조건: (a) H₂SO₄ 촉매, EtOH, 환류; (b) POCl₃, DMF; (c) mCPBA, p-TSA, CH₂Cl₂; (d) TBDPSCl, 이미다졸, THF, 환류 5hr; (e) 보론산, K₃PO₄, Pd(OAc)₂, 트리-*o*-폴리포스핀, EtOH; (f) NaH, 알릴아이오다이드, DMF, 환류 3hr; (g) TBAF, CH₂Cl₂, 환류 2hr; (h) 알릴아이오다이드, K₂CO₃, 아세톤, 환류 10hr.

[0092]

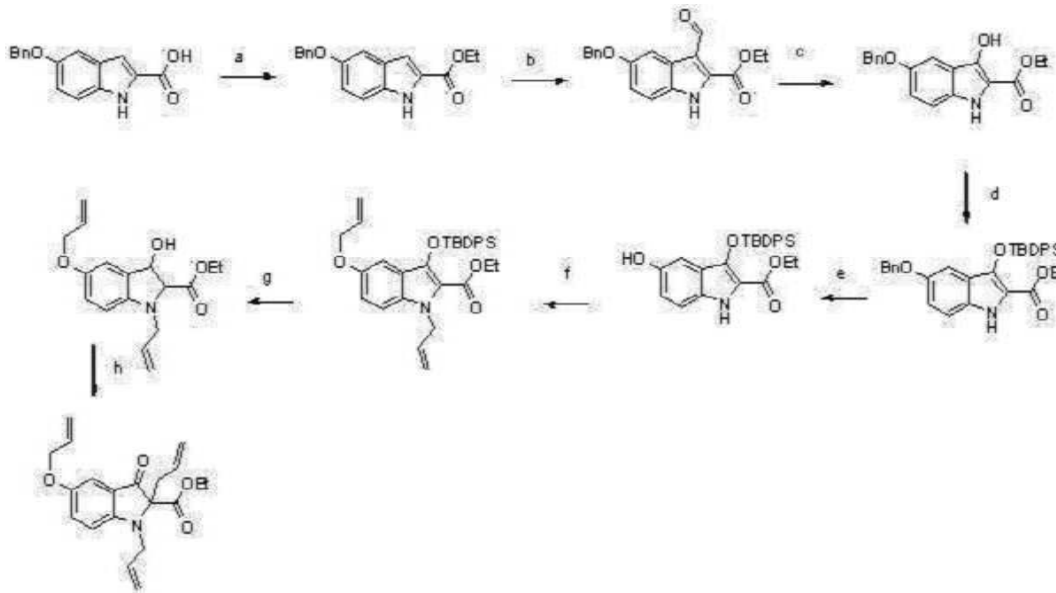
반응식 5에서는, 5번 위치의 치환기 효과를 보기 위하여 앞서 언급된 방법과 유사한 방법으로, 5-브로모-1H-인돌-2-카복실산의 3번 위치의 탄소의 OH 작용기를 TBDPS로 보호하고, 5번 위치의 브롬을 스즈키 반응(suzuki reaction)을 통해 4-메톡시페닐로 대신하고, 이를 알릴화 반응시켜 질소에 알릴기를 도입한 후 보호기를 제거하고 2번 탄소에 알릴기를 도입하여 목적하는 유도체를 합성할 수 있다. 반응식 5에 의해 제조되는 본 발명 화합물의 일례에 대하여 구조 및 물성을 하기 표 5에 나타내었다.

표 5

코드	구조	흡광도/ 형광도	NMR 데이터
KR 67718		450nm/ 500nm	¹ H NMR (300 MHz, CDCl ₃) 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)

[0093]

[0094] [반응식 6]



[0095]

[0096] 시약 및 조건: (a) H₂SO₄ 촉매, EtOH, 환류; (b) POCl₃, DMF; (c) mCPBA, p-TSA, CH₂Cl₂; (d) TBDPSCl, 이미다졸, THF, 환류 5hr; (e) H₂, Pd/C, MeOH, 2hr; (f) NaH, 알릴아이오다이드, DMF, 환류 3hr; (g) TBAF, CH₂Cl₂, 환류 2hr; (h) 알릴아이오다이드, K₂CO₃, 아세톤, 환류 10hr.

[0097] 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	¹ H NMR (300 MHz, CDCl ₃) 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	¹ H NMR (300 MHz, CDCl ₃) 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)

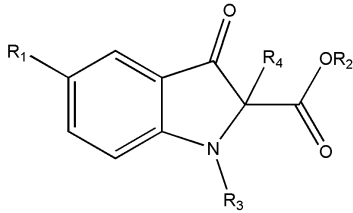
[0098]

[0099] 따라서, 본 발명의 키트는 상기 화학식 1 또는 2로 표시된 3-인돌린 유도체 또는 그의 염을 이용하여 실험용

동물 모델의 생체 내에서 지방을 검출하고 대사증후군 치료 효과를 보일 것이라고 기대되는 후보 약물을 투약한 후에 이의 효과를 생체 내에서 실시간으로 확인함으로써 후보 약물을 스크리닝할 수 있는 것을 특징으로 한다.

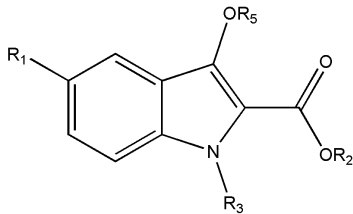
- [0100] 구체적으로, 상기 화학식 1 또는 2로 표시된 3-인돌리논 유도체 또는 그의 염과 후보 약물을 통상의 투여 방식을 통해 실험용 동물 모델에 주입한 다음 소형 동물용 형광 촬영 장치를 통해 생체 형광 이미지를 얻고 형광 강도의 소광을 관찰하여 후보 약물을 스크리닝할 수 있다.
- [0101] 본 발명의 한 구체예에서, 상기 대사증후군은 비만, 고혈압, 동맥경화, 고지혈증, 간질환, 과인슐린혈증, 과혈당증, 1형 및 2형 당뇨병, 인슐린 내성을 특징으로 하는 이상지혈증, 발기부전, 심혈관계질환 및 허혈성질환을 포함하나, 이에 제한되는 것은 아니다.
- [0102] 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.
- [0103] 또한, 본 발명의 키트는 후보 약물의 종류, 투여 방식, 또는 투여 순서의 제한 없이 실시간으로 정량적으로 스크리닝 할 수 있는 특징이 있다. 따라서 후보 약물 및 화학식 1 또는 2로 표시된 3-인돌리논 유도체의 선후관계에 관계 없이 정량적인 지방의 양 변화를 검출할 수 있다는 장점이 있다.
- [0104] 본 발명의 한 구체예에 따르면, 본 발명의 키트는 대조군 시약(양성 및/또는 음성)과 함께 상기 화학식 1 또는 2로 표시된 3-인돌리논 유도체를 투여 형태로 제형화한 것을 포함할 수 있다. 예를 들면, 필요에 따라, 당-코팅된 정제, 캡슐제, 엘릭서제 및 마이크로캡슐제로서 경구투여될 수 있으며, 또는 물 또는 다른 약학적으로 허용 가능한 액체를 가지는 멸균 용액 또는 현탁액의 주사제 형태로 비경구 투여될 수 있다.
- [0105] 또한, 상기 화학식 1 또는 2로 표시된 3-인돌리논 유도체는 약학적으로 허용 가능한 담체 또는 매질(media), 구체적으로는 멸균수, 생리 식염수, 식물성 오일, 유화제, 현탁제, 계면 활성제, 안정제, 향신제, 부형제, 비히클(vehicle), 보존제, 결합제등과 혼합될수 있다. 상기 제제화에서 활성 성분의 양은 바람직한 범위 내에서 적절한 투여량으로 한다.
- [0106] 정제 및 캡슐제에 혼합될 수 있는 첨가제의 예는 젤라틴, 옥수수 녹말, 트라거캔스 고무 및 아라빅 고무와 같은 결합제; 크리스탈 셀룰로스나 같은 부형제; 옥수수 녹말, 젤라틴, 알긴산(alginic acid)과 같은 팽윤제; 마그네슘 스테아레이트와 같은 윤활제; 설탕, 락토스 또는 사카린과 같은 감미제; 및 페퍼민트, 가울테리아 아데노스틱스(Gaultheria adenostrix) 오일 및 체리와 같은 향신제이다.
- [0107] 단위-투여 형태가 캡슐일 경우, 오일과 같은 액상 담체가 또한 추가로 상기의 성분에 포함될 수 있다. 주사제용 멸균 합성물들은 주사제에 사용된 멸균수와 같은 비히클을 사용하는 정상 약물 제조법에 따라 제형화될 수 있다. 생리 식염수, 글루코스, 및 D-솔비톨, D-만니톨, D-만노스, 및 염화 나트륨과 같은 보조제를 포함하는 다른 등장액이 주사제의 수용액으로 사용될 수 있다. 이는 알코올, 구체적으로는 에탄올, 프로필렌 글리콜 및 폴리에틸렌 글리콜과 같은 폴리알코올, 폴리솔베이트 80(TM) 및 HCO-50과 같은 비-이온성 계면 활성제와 같은 적합한 용해제와 함께 사용될 수 있다.
- [0108] 또한, 본 발명의 키트에는 분석을 수행하기 위한 사용설명서(예, 서면, 테이프, VCR, CD-ROM 등)가 포함될 수 있다. 상기 키트의 분석 포맷은 당해 기술분야에 알려진 소형 동물용 형광 촬영 장치를 이용한 형광 이미지이다.
- [0109] 본 발명은 또한,
- [0110] 하기 화학식 1 또는 2로 표시된 3-인돌리논 유도체 및 후보 약물을 동물 모델에 투여하는 단계; 및
- [0111] 상기 동물의 생체 형광 이미지를 분석하는 단계를 포함하는 대사증후군 치료 약물의 스크리닝 방법을 제공한다:

[0112] [화학식 1]



[0113]

[0114] [화학식 2]



[0115]

[0116] R₁은 수소, C₁₋₆ 알콕시, C₁₋₄ 알킬로 치환되거나 치환되지 않은 C₂₋₆ 알케닐옥시, 벤질옥시 또는 C₁₋₄ 알콕시페닐이고;

[0117] R₂는 C₁₋₆ 알킬이고;

[0118] R₃ 및 R₄는 각각 독립적으로 수소, C₁₋₆ 알킬, C₁₋₄ 알킬로 치환되거나 치환되지 않은 C₂₋₆ 알케닐, C₂₋₆ 알킬닐, 벤질 또는 C₃₋₆ 사이클로알킬메틸이고;

[0119] R₅는 C₁₋₆ 알킬, C₁₋₄ 알킬로 치환되거나 치환되지 않은 C₂₋₆ 알케닐 또는 C₃₋₆ 사이클로알킬메틸이다.

[0120] 본 발명의 대사증후군 치료 약물의 스크리닝 방법을 단계적으로 구체적으로 설명하면 다음과 같다.

[0121] 제1단계는 화학식 1 또는 2로 표시된 3-인돌린 유도체 및 후보 약물을 동물 모델에 투여하는 단계이다.

[0122] 상기 화학식 1 또는 2로 표시된 3-인돌린 유도체는 통상의 제형으로 제조된 것을 사용할 수 있다. 바람직하게는, 액제인 것이 좋으나 이에 특별히 제한되는 것은 아니다.

[0123] 또한, 상기 후보약물 역시 통상의 제형으로 제조된 것을 사용할 수 있다. 예를 들어 직접 주사를 위한 액제 형태, 경구 투여를 위한 캡슐제 등을 사용할 수 있으나 이에 특별히 제한되는 것은 아니다.

[0124] 상기 투여는 직접 주사, 경구 투여, 혈관 주사 등 통상의 투여방식에 따라 실시될 수 있으며, 이에 특별히 제한되는 것은 아니다.

[0125] 또한, 상기 화학식 1 또는 2로 표시된 3-인돌린 유도체 또는 후보 약물의 투여 순서는 제한 없이 사용될 수 있다.

[0126] 또한, 상기 동물로 제브라피쉬, 생쥐, 집쥐, 기니피그, 토끼, 고양이, 개, 양, 돼지, 소, 원숭이, 비비, 또는 침팬지 등을 사용할 수 있다.

[0127] 본 발명의 대사증후군 치료 약물의 스크리닝 방법에 있어서, 제2단계는 상기 화학식 1 또는 2로 표시된 3-인돌린 유도체와 후보 약물이 투여된 동물에서 생체 내 형광 이미지를 얻고, 이를 분석하는 단계이다.

[0128] 본 발명의 한 구체예에서, 상기 생체 내 형광 이미지는 분석 대상 동물 모델의 간에서 얻을 수 있으나 이에 제한되는 것은 아니다.

[0129] 상기 생체 내 형광 이미지는 소형 동물용 형광 촬영 장치를 이용하여 얻을 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

[0130] 상기 얻어진 형광 이미지로부터 형광 강도의 소광을 분석함으로써, 후보 약물이 대사증후군 치료에 효과가 있는

지 여부를 판단할 수 있다.

- [0131] 본 발명의 상기 화학식 1 또는 2로 표시된 3-인돌린 유도체는 지방 특이적으로 강한 형광을 나타내므로, 생체 내 지방의 양, 부위 등을 정량 또는 정성 분석 할 수 있고, 이를 감소시키는 후보 약물을 투여하는 경우, 생체 내 형광 감도가 감소함을 형광 이미징을 통해 확인할 수 있어, 지방의 양을 감소시키는 효과를 나타내는 후보 약물을 스크리닝하는데 유용하게 사용할 수 있다.
- [0132] 이하, 본 발명의 이해를 돕기 위하여 실시예를 들어 상세하게 설명하기로 한다. 다만 하기의 실시예는 본 발명의 내용을 예시하는 것일 뿐 본 발명의 범위가 하기 실시예에 한정되는 것은 아니다. 본 발명의 실시예는 당업계에서 평균적인 지식을 가진 자에게 본 발명을 보다 완전하게 설명하기 위해 제공되는 것이다.
- [0133] **실시예 1: 에틸 1,2-디알릴-5-메톡시-3-옥소인돌린-2-카복실레이트 (KR68425)의 제조**
- [0134] **[1-1단계] 에틸 5-메톡시인돌-2-카복실레이트**
- [0135] 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 (Na₂SO₄), 여과 및 감압 농축하여 표제의 화합물을 얻었다.
- [0136] (황색 고체 5.5g, 96 %)
- [0137] ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 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 = 2.4Hz, 1H), 6.99 (dd, J = 9.0Hz, 1H), 4.40 (q, J = 7.0Hz, 2H), 3.85 (s, 3H), 1.41(t, J = 7.0Hz, 3H); LC/MS(M+H): 220.
- [0138] **[1-2단계] 에틸 3-포밀-5-메톡시인돌-2-카복실레이트**
- [0139] 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 조절하고 30분간 교반한 후 생성된 고체를 여과하여 표제의 화합물을 얻었다.
- [0140] (황색 고체 5g, 92 %)
- [0141] ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 10.73 (s, 1H), 9.25 (bs, 1H), 7.90 (d, J = 2.4Hz, 1H), 7.60 (d, J = 9.0Hz, 1H), 7.07 (dd, J = 9.0Hz, J = 2.4Hz, 1H), 4.48 (q, J = 7.0Hz, 2H), 3.90 (s, 3H), 1.28 (t, J = 7.0Hz, 3H); LC/MS(M+H): 248.
- [0142] **[1-3단계] 에틸 3-히드록시-5-메톡시인돌-2-카복실레이트**
- [0143] 에틸 3-포밀-5-메톡시인돌-2-카복실레이트(5g, 0.02mole)를 CH₂Cl₂ (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 (Na₂SO₄), 여과, 감압 농축한 다음 관 크로마토그래피로 분리하여 표제의 화합물을 얻었다.
- [0144] (황색 고체 4.6g, 88 %)
- [0145] ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 7.70 (bs, 1H), 7.18 (d, J = 9.0Hz, 1H), 7.10 (d, J = 2.4Hz, 1H), 7.00 (dd, J = 9.0Hz, J = 2.4Hz, 1H), 4.44 (q, J = 7.0Hz, 2H), 3.85 (s, 3H), 1.41 (t, J = 7.0Hz, 3H); LC/MS(M+H): 236.
- [0146] **[1-4단계] 에틸 1,2-디알릴-5-메톡시-3-옥소인돌린-2-카복실레이트 (KR68425)**
- [0147] 에틸 3-히드록시-5-메톡시인돌-2-카복실레이트 (100mg, 0.37mmole)를 아세톤 (5mL)에 녹인 후 K₂CO₃ (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 (Na₂SO₄), 여과, 감압 농축한 다음 관 크로마토그래피로

분리하여 표제의 화합물을 얻었다.

[0148] (갈색 액체 15mg, 12 %)

[0149] LC/MS(M+H): 236.

[0150] **실시예 2 : 에틸 1,2-디알릴-3-옥소인돌린-2-카복실레이트 (KR68426)의 제조**

[0151] 에틸 3-히드록시-인돌-2-카복실레이트 (50mg, 0.24mmole)를 아세톤 (5mL)에 녹인 후 K₂CO₃ (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 (Na₂SO₄), 여과, 감압 농축한 다음 관 크로마토그래피로 분리하여 표제의 화합물을 얻었다.

[0152] (갈색 액체 22mg, 32 %)

[0153] LC/MS(M+H): 286.

[0154] **실시예 3 : 에틸 1,2-디((E)-부트-2-에닐)-5-메톡시-3-옥소인돌린-2-카복실레이트 (KR68429)의 제조**

[0155] 에틸 3-히드록시-5-메톡시인돌-2-카복실레이트 (100mg, 0.42mmole)를 아세톤 (10mL)에 녹인 후 K₂CO₃ (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 (Na₂SO₄), 여과, 감압 농축한 다음 관 크로마토그래피로 분리하여 표제의 화합물을 얻었다.

[0156] (갈색 액체 15mg, 11 %)

[0157] LC/MS(M+H): 344.

[0158] **실시예 4 : 에틸 5-메톡시-1,2-비스(3-메틸부트-2-에닐)-3-옥소인돌린-2-카복실레이트 (KR68432)의 제조**

[0159] 에틸 3-히드록시-5-메톡시인돌-2-카복실레이트 (500mg, 2.12mmole)를 아세토니트릴 (10mL)에 녹인 후 K₂CO₃ (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 (Na₂SO₄), 여과, 감압 농축한 다음 관 크로마토그래피로 분리하여 표제의 화합물을 얻었다.

[0160] (갈색 액체 7mg, 1 %)

[0161] LC/MS(M+H): 372.

[0162] **에틸 5-메톡시-2-(3-메틸부트-2-에닐)-3-옥소인돌린-2-카복실레이트로부터 화합물 KR68433의 합성**

[0163] **실시예 5 : 에틸 1-알릴-5-메톡시-2-(3-메틸부트-2-에닐)-3-옥소인돌린-2-카복실레이트 (KR68433)의 제조**

[0164] 에틸 5-메톡시-2-(3-메틸부트-2-에닐)-3-옥소인돌린-2-카복실레이트 (100mg, 0.32mmole)를 아세토니트릴 (10mL)에 녹인 후 K₂CO₃ (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 (Na₂SO₄), 여과, 감압 농축한 다음 관 크로마토그래피로 분리하여 표제의 화합물을 얻었다.

[0165] (갈색 액체 10mg, 8 %)

[0166] LC/MS(M+H): 344.

[0167] **에틸 2-알릴-5-메톡시-3-옥소인돌린-2-카복실레이트로부터 화합물 KR68434의 합성**

[0168] **실시예 6 : (E)-에틸 2-알릴-1-(부트-2-에닐)-5-메톡시-3-옥소인돌린-2-카복실레이트 (KR68434)의 제조**

[0169] 에틸 2-알릴-5-메톡시-3-옥소인돌린-2-카복실레이트 (100mg, 0.36mmole)를 아세토니트릴 (10mL)에 녹인 후 K₂CO₃ (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 (Na₂SO₄), 여과, 감압 농축한 다음

음 관 크로마토그래피로 분리하여 표제의 화합물을 얻었다.

- [0170] (갈색 액체 18mg, 21 %)
- [0171] LC/MS(M+H): 330.
- [0172] **실시예 7 내지 17 : 에틸 5-메톡시-1H-인돌-2-카복실레이트로부터 화합물 KR68456 내지 KR67833의 합성**
- [0173] **[7-1단계] ① 에틸 1-벤질-5-메톡시-1H-인돌-2-카복실레이트**
- [0174] 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, NHCl₄ 첨가 후 EtOAc로 추출, 건조 (Na₂SO₄), 여과, 감압 농축한 다음 관 크로마토그래피로 분리하여 표제의 화합물을 얻었다.
- [0175] (황색 고체 1.2g, 85 %)
- [0176] ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) 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.
- [0177] **② 에틸 5-메톡시-1-메틸인돌-2-카복실레이트**
- [0178] 벤질 브로마이드 대신에 메틸 브로마이드를 사용하여 [7-1단계]의 ①과 동일한 방법으로 표제 화합물을 수율 66 %로 얻었다.
- [0179] ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) 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.
- [0180] **③ 에틸 5-메톡시-1-프로필-1H-인돌-2-카복실레이트**
- [0181] 벤질 브로마이드 대신에 프로필 브로마이드를 사용하여 [7-1단계]의 ①과 동일한 방법으로 표제 화합물을 수율 85 %로 얻었다.
- [0182] ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) 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* = 2.2Hz, 1H), 4.49 (t, *J* = 7.1Hz, 2H), 4.36 (q, *J* = 7.1Hz, 2H), 3.84 (s, 3H), 1.84-1.77 (m, 2H), 1.40 (t, *J* = 7.1Hz, 2H), 0.92 (t, *J* = 7.1Hz, 3H); LC/MS(M+H): 262.
- [0183] **④ 에틸 1-헥실-5-메톡시-1H-인돌-2-카복실레이트**
- [0184] 벤질 브로마이드 대신에 헥실 브로마이드를 사용하여 [7-1단계]의 ①과 동일한 방법으로 표제 화합물을 수율 95 %로 얻었다.
- [0185] ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) 7.27 (d, *J* = 9.0Hz, 1H), 7.20 (s, 1H), 7.05 (d, *J* = 2.4Hz, 1H), 7.00 (dd, *J* = 9.0Hz, *J* = 2.4Hz, 1H), 4.51 (t, *J* = 7.1Hz, 2H), 4.35 (q, *J* = 7.1Hz, 2H), 3.84 (s, 3H), 1.79-1.74 (m, 2H), 1.40 (t, *J* = 7.1Hz, 3H), 1.35-1.30 (m, 6H), 0.91-0.84 (m, 3H); LC/MS(M+H): 304.
- [0186] **⑤ 에틸 1-사이클로프로필메틸-5-메톡시-1H-인돌-2-카복실레이트**
- [0187] 벤질 브로마이드 대신에 사이클로프로필메틸 브로마이드를 사용하여 [7-1단계]의 ①과 동일한 방법으로 표제 화합물을 얻었다.
- [0188] **[7-2단계] ① 에틸 3-아세톡시-1-벤질-5-메톡시-1H-인돌-2-카복실레이트**
- [0189] 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 (Na₂SO₄), 여과, 감압 농축한 다음 관 크로마토그래피로 분리하여 표제의 화합물을 얻었다.
- [0190] (고체 221mg, 38 %)

- [0191] ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 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.
- [0192] **② 에틸 3-아세톡시-5-메톡시-1-메틸인돌-2-카복실레이트**
- [0193] 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.
- [0194] ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 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.
- [0195] **③ 에틸 3-아세톡시-5-메톡시-1-프로필-1H-인돌-2-카복실레이트**
- [0196] 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.
- [0197] ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 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.
- [0198] **④ 에틸 3-아세톡시-1-헥실-5-메톡시-1H-인돌-2-카복실레이트**
- [0199] 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.
- [0200] ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 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.
- [0201] **⑤ 에틸 3-아세톡시-1-(사이클로프로필메틸)-5-메톡시-1H-인돌-2-카복실레이트**
- [0202] 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.
- [0203] ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 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.
- [0204] **[7-3단계] ① 에틸 1-벤질-3-하이드록시-5-메톡시-1H-인돌-2-카복실레이트**
- [0205] 에틸 3-아세톡시-1-벤질-5-메톡시-1H-인돌-2-카복실레이트 (210mg, 0.59mmole)를 MeOH/THF (10mL)에 녹인 후 K_2CO_3 (73mg, 0.59mmole)를 넣고 실온에서 30분 동안 교반시켰다. 반응이 종결되면, 농축하고 물을 첨가하여 EtOAc로 추출, 염수로 2회 씻어주고 건조 (Na_2SO_4), 여과, 감압 농축한 다음 관 크로마토그래피로 분리하여 표제의 화합물을 얻었다.
- [0206] (고체 112g, 60 %)
- [0207] ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 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.
- [0208] **② 에틸 3-하이드록시-5-메톡시-1-메틸인돌-2-카복실레이트**
- [0209] 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.

- [0210] ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 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.
- [0211] **③ 에틸 3-하이드록시-5-메톡시-1-프로필-1H-인돌-2-카복실레이트**
- [0212] 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.
- [0213] **④ 에틸 3-하이드록시-1-헥실-5-메톡시-1H-인돌-2-카복실레이트**
- [0214] 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.
- [0215] **⑤ 에틸 1-(사이클로프로필메틸)-3-하이드록시-5-메톡시-1H-인돌-2-카복실레이트**
- [0216] 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.
- [0217] ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 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.
- [0218] **[7-4단계]**
- [0219] **실시예 7 : 에틸 2-알릴-1-벤질-5-메톡시-3-옥소인돌린-2-카복실레이트 (KR68456)의 제조**
- [0220] 에틸 1-벤질-3-하이드록시-5-메톡시-1H-인돌-2-카복실레이트 (100mg, 0.3mmole)를 아세톤 (10mL)에 녹인 후 K_2CO_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 (Na_2SO_4), 여과, 감압 농축한 다음 관 크로마토그래피로 분리하여 표제의 화합물을 얻었다.
- [0221] (갈색 액체 62mg, 61 %)
- [0222] LC/MS(M+H): 366.
- [0223] **실시예 8 : 에틸 3-(알릴옥시)-1-벤질-5-메톡시-인돌-2-카복실레이트 (KR68457)의 제조**
- [0224] 실시예 7의 방법의 또다른 생성물로 표제 화합물을 수율 5 %로 얻었다.
- [0225] LC/MS(M+H): 366.
- [0226] **실시예 9 : 에틸 1,2-디벤질-5-메톡시-3-옥소인돌린-2-카복실레이트 (KR68458)의 제조**
- [0227] 알릴 아이오다이드 대신에 벤질 아이오다이드를 사용하여 실시예 7과 동일한 방법으로 표제 화합물을 수율 42 %로 얻었다.
- [0228] LC/MS(M+H): 416.
- [0229] **실시예 10 : 에틸 2-알릴-5-메톡시-1-메틸-3-옥소인돌린-2-카복실레이트 (KR68459)의 제조**
- [0230] 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.
- [0231] LC/MS(M+H): 290.
- [0232] **실시예 11 : 에틸 5-메톡시-1,2-디메틸-3-옥소인돌린-2-카복실레이트 (KR68461)의 제조**
- [0233] 알릴 아이오다이드 대신에 메틸 아이오다이드를 사용하여 실시예 10과 동일한 방법으로 표제 화합물을 수율 61 %로 얻었다.
- [0234] LC/MS(M+H): 264.

- [0235] **실시예 12 : 에틸 3,5-디메톡시-1-메틸-1H-인돌-2-카복실레이트 (KR68462)의 제조**
- [0236] 실시예 11의 방법의 또다른 생성물로 표제 화합물을 수율 33 %로 얻었다.
- [0237] LC/MS(M+H): 264.
- [0238] **실시예 13 : 에틸 5-메톡시-3-옥소-1,2-디프로필인돌린-2-카복실레이트 (KR67703)의 제조**
- [0239] 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.
- [0240] LC/MS(M+H): 264.
- [0241] **실시예 14 : 에틸 5-메톡시-3-프로폭시-1-프로필-인돌-2-카복실레이트 (KR67704)의 제조**
- [0242] 실시예 13의 방법의 또다른 생성물로 표제 화합물을 수율 64 %로 얻었다.
- [0243] LC/MS(M+H): 264.
- [0244] **실시예 15 : 에틸 1,2-디헥실-5-메톡시-3-옥소인돌린-2-카복실레이트 (KR67796)의 제조**
- [0245] 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.
- [0246] LC/MS(M+H): 404.
- [0247] **실시예 16 : 1,2-비스(사이클로프로필메틸)-5-메톡시-3-옥소인돌린-2-카복실레이트 (KR67832)의 제조**
- [0248] 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.
- [0249] LC/MS(M+H): 344.
- [0250] **실시예 17 : 에틸 3-(사이클로프로필메톡시)-1-(사이클로프로필메틸)-5-메톡시-1H-인돌-2-카복실레이트 (KR67833)의 제조**
- [0251] 실시예 16의 방법의 또다른 생성물로 표제 화합물을 수율 80 %로 얻었다.
- [0252] LC/MS(M+H): 344.
- [0253] **실시예 18: 실시예 1의 화합물의 지방 염색 효과 검토(생체내)**
- [0254] 본 발명에 따른 3-인돌린은 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 μ M로 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 1에 나타내었다. 도 1의 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 1의 I 및 J는 제브라피쉬의 지방 소립을 항-페릴리핀(anti-perilipin) 항체로 염색한 결과를 나타내고, 도 1의 K는 실시예 1의 화합물을 사용하여 지방조직을 염색한 후 제브라피쉬 간과 장을 적출하여 장기 주변에 존재하는 지방조직 염색을 확인한 것이며, 도 1의 L은 장기와 그 주변의 지방조직을 파라핀 절편을 통해 분석한 결과이다. 도 1에서 dpf는 수정 후 일자(day post fertilization)를 의미한다.
- [0256] 도 1의 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 1D) 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 1의 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 1의 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 조직을 관찰하였다. 관찰 결과를 도 2에 나타내었다. 도 2의 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 2의 E 및 F에서 보는 바와 같이, 먹이 제공급으로 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] **실시예 19:디아실글리세롤 아실트랜스퍼라아제 1(DGAT1) 저해제 스크리닝**

[0261] 상기 실시예 1의 화합물을 후보 약물의 스크리닝에 사용하기 위해, 후보 약물로 DGAT1 저해제를 사용하여 스크리닝을 수행하였다.

[0262] DGAT1은 당뇨병 및 비만과 같은 대사 증후군 치료를 위한 잠재적인 타겟에 해당한다. 미소체 효소(microsomal enzyme)는 1,2-디아실글리세롤과 fatty acyl CoA 과의 에스터화 반응을 촉매하여 트리글리세라이드를 형성하도록 한다. DGAT1 녹아웃 마우스는 감소된 수준의 트리아실글리세라이드를 발현하는데, 트리아실글리세라이드는 지방의 주요 성분이다. 최근 연구는 소분자 DGAT-1 저해제가 트리아실글리세라이드의 양 및 체중을 감소시키는 효과가 있음을 밝혀낸 바 있다.

[0263] 따라서 본 발명의 발명자들은 현재 존재하는 DGAT1 저해제인 PF04620110(임상 1상 진행중)을 후보약물로 사용하여 본 발명의 실시예 1의 화합물(KR 68425, lipid green)이 이를 스크리닝 하는 효과가 있는지를 검토하였다. PF04620110-노출된 제브라피쉬는 실시예 1의 화합물로 염색되었다. 결과를 도 3에 나타내었다.

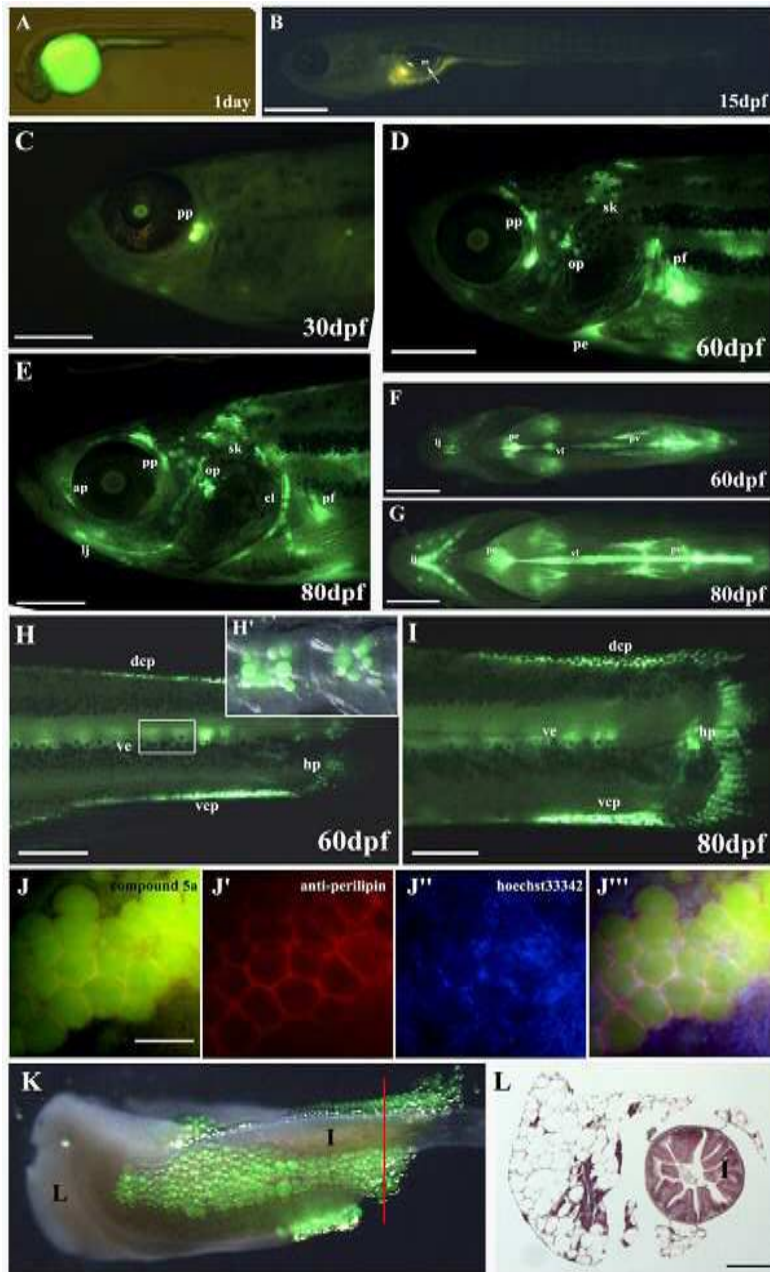
[0264] 도 3을 참조하면, 본 발명의 화합물 lipid green(실시예 1)에 의해 염색되었던 대조군 제브라피쉬의 지방(A 참조)은 후보약물인 PF04620110의 처리에 의해 사라짐(B 참조)을 확인할 수 있었다. 따라서 기대한 바와 같이 PF04620110의 처리로 인해 제브라피쉬의 지방이 현저히 감소됨을 실시예 1 화합물의 지방 특이적 염색을 통해 확인할 수 있었다.

[0265] 또한 도 4는 이의 형광 감도의 측정을 통한 지방 축적량을 나타낸 그래프이다. 도 4를 참조하면, 후보약물인 PF04620110의 처리로 인해 형광이 감소되었고, 이러한 형광의 상대적 감소량을 통해 지방의 감소량을 정량적으로 유추할 수 있음을 알 수 있다.

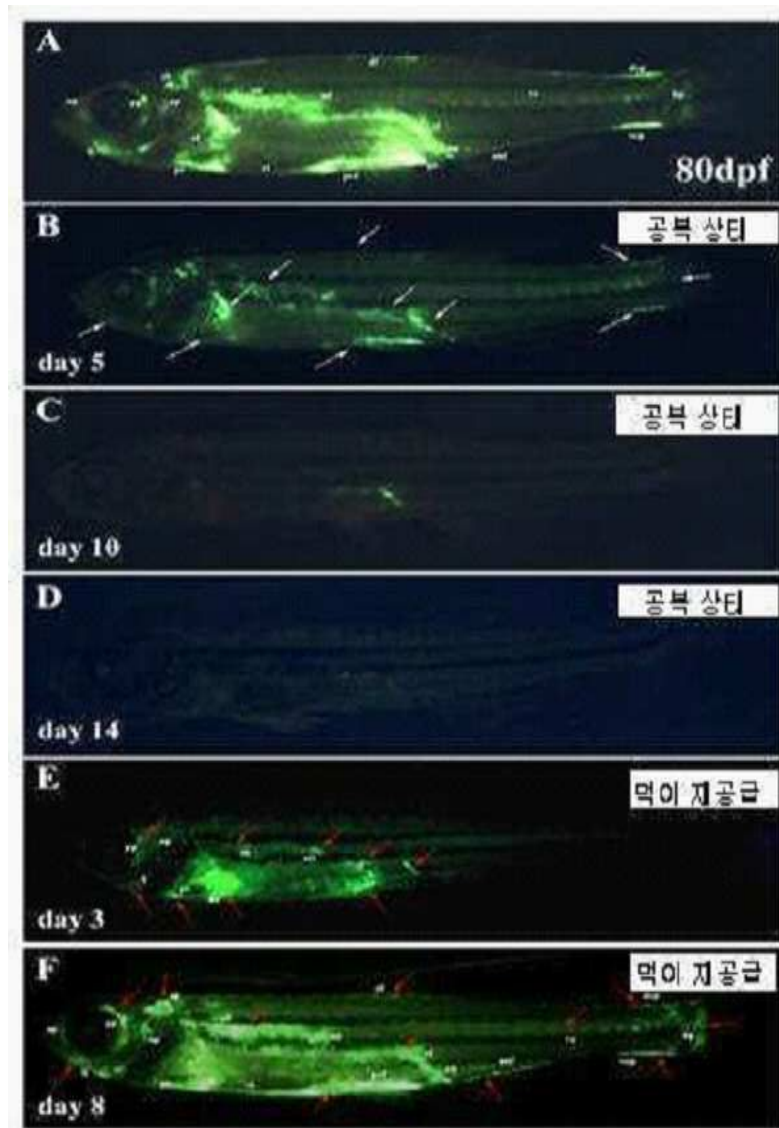
[0266] 이상으로 본 발명의 특정한 부분을 상세히 기술하였는 바, 당업계의 통상의 지식을 가진 자에게 있어서, 이러한 구체적 기술은 단지 바람직한 실시예일 뿐이며, 이에 의해 본 발명의 범위가 제한되는 것이 아닌 점은 명백할 것이다. 따라서, 본 발명의 실질적인 범위는 첨부된 청구항들과 그것들의 등가물에 의하여 정의된다고 할 것이다.

도면

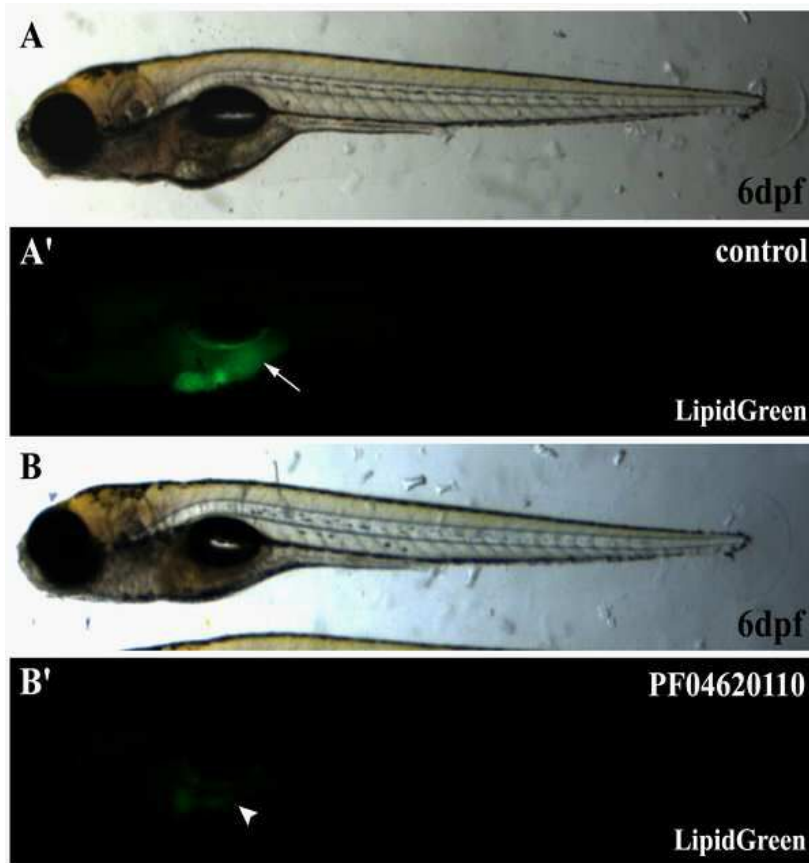
도면1



도면2



도면3



도면4

