



(19) 대한민국특허청(KR)  
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2013-0139199  
(43) 공개일자 2013년12월20일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)  
C07D 209/04 (2006.01) A61K 31/404 (2006.01)  
A61P 31/14 (2006.01)  
(21) 출원번호 10-2013-0067282  
(22) 출원일자 2013년06월12일  
심사청구일자 2013년06월12일  
(30) 우선권주장  
1020120062724 2012년06월12일 대한민국(KR)

(71) 출원인  
동국대학교 산학협력단  
서울특별시 중구 필동로1길 30 (필동3가, 동국대학교)  
(72) 발명자  
이경  
경기도 고양시 일산동구 식사동 위시티일산자이4 단지아파트 409동 1604호  
이충호  
경기도 고양시 일산동구 식사동 위시티일산자이2 단지아파트 215동 1905호  
(74) 대리인  
김순용

전체 청구항 수 : 총 11 항

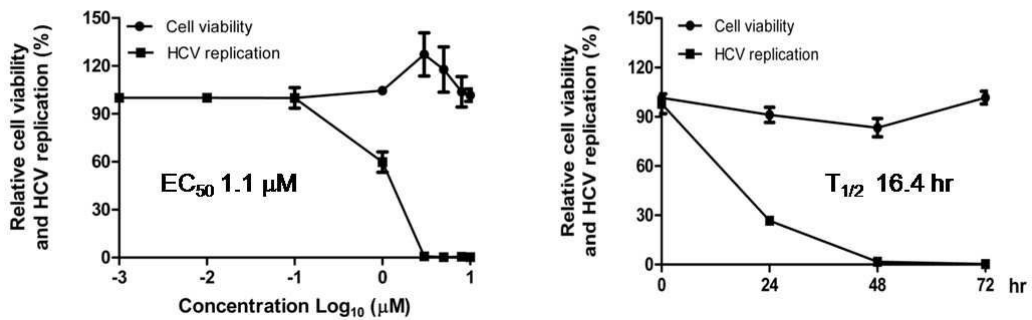
(54) 발명의 명칭 C형 간염 바이러스의 게놈 복제의 선택적 저해 활성을 갖는 인돌계 화합물, 이의 제조방법 및 이를 유효성분으로 함유하는 C형 간염의 예방 또는 치료용 약학적 조성물

**(57) 요약**

본 발명은 C형 간염 바이러스의 게놈 복제의 선택적 저해 활성을 갖는 인돌계 화합물, 이의 제조방법 및 이를 유효성분으로 함유하는 C형 간염의 예방 또는 치료용 약학적 조성물에 관한 것이다. 본 발명의 인돌계 화합물은 간 세포에서 최소의 독성을 나타내며, C형 간염 바이러스의 RNA 게놈 복제를 저해하는 효과가 우수하여 C형 간염바이러스에 의한 간염 등 간질환의 예방 또는 치료에 유용하게 사용될 수 있다.

**대표도 - 도4**

**Huh7.5/Rluc-J6/JFH1 (genotype 2a)**



이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호	GRRC동국2011-A01
부처명	경기도청
연구사업명	퇴행성 뇌신경질환 및 바이러스 표적연구
연구과제명	바이러스성질환제어기법연구 [1/6]
기여율	50/100
주관기관	동국대학교 약학대학
연구기간	2011.07.01 ~ 2012.06.30이 발명을 지원한 국가연구개발사업
과제고유번호	GRRC동국2011-B02
부처명	경기도청
연구사업명	질환표적제어소재개발 및 생체응용연구
연구과제명	표적제어소재개발
기여율	50/100
주관기관	동국대학교 약학대학
연구기간	2011.07.01 ~ 2012.06.30

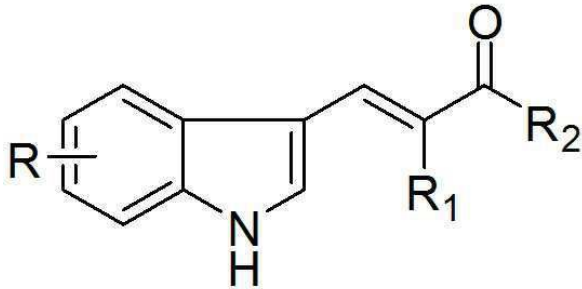
---

**특허청구의 범위**

**청구항 1**

C형 간염 바이러스(HCV) 게놈 복제의 선택적 저해 활성을 갖는, 하기 화학식 1로 표시되는 인돌계 화합물 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염:

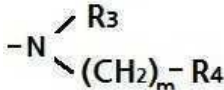
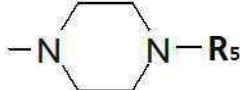
[화학식 1]



상기 화학식 1에서,

R은 H, C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>의 알킬, C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>의 알콕시, 시아노, 니트로 또는 할로겐 원자이고,

R<sub>1</sub>은 H 또는 C<sub>1</sub>-C<sub>5</sub>의 알킬이고,

R<sub>2</sub>는 OH, O-(C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>의 알킬),  또는  이며,

여기서, R<sub>3</sub> 및 R<sub>4</sub>는 서로 독립적으로 같거나 다르며, H; C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>의 알킬; C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>의 알킬, CF<sub>3</sub> 또는 C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>의 알콕시로 치환 또는 비치환된 C<sub>6</sub>-C<sub>20</sub>의 아릴; C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>의 알킬로 치환 또는 비치환된 C<sub>5</sub>-C<sub>20</sub>의 헤테로 아릴; 또는 C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>의 알킬로 치환 또는 비치환된 아민이고, m은 0 내지 3의 정수이고,

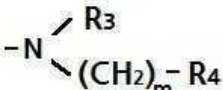

R<sub>5</sub>는 C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>의 알킬; 또는 C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>의 알킬, CF<sub>3</sub> 또는 C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>의 알콕시로 치환 또는 비치환된 C<sub>6</sub>-C<sub>20</sub>의 아릴이다.

**청구항 2**

제1항에 있어서, 상기 화학식 1에서,

R은 H, Br, 메틸, 이소프로필, 메톡시, 시아노 또는 니트로이고,

R<sub>1</sub>은 H 또는 메틸이고,

R<sub>2</sub>는 OH, OEt,  또는  이며,

여기서, R<sub>3</sub> 및 R<sub>4</sub>는 서로 독립적으로 같거나 다르며, H, tert-부틸페닐, 이소프로필페닐, 톨릴, 디메톡시페닐, 트리플루오로메틸페닐, 이소프로필, 에틸, 푸라닐, 이미다졸릴 또는 디메틸아미노이고, m은 0 내지 3의 정수이고,

R<sub>5</sub>는 메틸 또는 트리플루오로메틸벤질인 것을 특징으로 하는, 인돌계 화합물 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염.

**청구항 3**

제1항에 있어서, 상기 화합물은

- 1) (E)-N-(4-tert-부틸페닐)-3-(1H-인돌-3-일)아크릴아미드,
- 2) (E)-N-(3,4-디메톡시벤질)-3-(1H-인돌-3-일)아크릴아미드,
- 3) (E)-3-(1H-인돌-3-일)-N-[4-(트리플루오로메틸)벤질]아크릴아미드,
- 4) (E)-3-(1H-인돌-3-일)-N-이소프로필아크릴아미드,
- 5) (E)-N,N-디에틸-3-(1H-인돌-3-일)아크릴아미드,
- 6) (E)-3-(1H-인돌-3-일)-1-{4-[4-(트리플루오로메틸)벤질]피페라진-1-일}프로프-2-엔-1-온,
- 7) (E)-에틸 3-(1H-인돌-3-일)-2-메틸아크릴레이트,
- 8) (E)-에틸 3-(4-메톡시-1H-인돌-3-일)-2-메틸아크릴레이트,
- 9) (E)-에틸 2-메틸-3-(5-메틸-1H-인돌-3-일)아크릴레이트,
- 10) (E)-에틸 3-(5-메톡시-1H-인돌-3-일)-2-메틸아크릴레이트,
- 11) (E)-에틸 3-(5-시아노-1H-인돌-3-일)-2-메틸아크릴레이트,
- 12) (E)-에틸 2-메틸-3-(5-니트로-1H-인돌-3-일)아크릴레이트,
- 13) (E)-에틸 2-메틸-3-(6-메틸-1H-인돌-3-일)아크릴레이트,
- 14) (E)-에틸 3-(6-메톡시-1H-인돌-3-일)-2-메틸아크릴레이트,
- 15) (E)-에틸 3-(6-이소프로필-1H-인돌-3-일)-2-메틸아크릴레이트,
- 16) (E)-에틸 3-(6-브로모-1H-인돌-3-일)-2-메틸아크릴레이트,
- 17) (E)-3-(6-이소프로필-1H-인돌-3-일)-2-메틸아크릴산,
- 18) (E)-3-(6-브로모-1H-인돌-3-일)-2-메틸아크릴산,
- 19) (E)-2-메틸-3-(5-메틸-1H-인돌-3-일)아크릴산,
- 20) (E)-3-(1H-인돌-3-일)-2-메틸아크릴산,
- 21) (E)-3-(4-메톡시-1H-인돌-3-일)-2-메틸아크릴산,
- 22) (E)-3-(5-메톡시-1H-인돌-3-일)-2-메틸아크릴산,
- 23) (E)-3-(5-시아노-1H-인돌-3-일)-2-메틸아크릴산,
- 24) (E)-2-메틸-3-(5-니트로-1H-인돌-3-일)아크릴산,
- 25) (E)-2-메틸-3-(6-메틸-1H-인돌-3-일)아크릴산,
- 26) (E)-3-(6-메톡시-1H-인돌-3-일)-2-메틸아크릴산,
- 27) (E)-3-(1H-인돌-3-일)-2-메틸-1-(4-메틸피페라진-1-일)프로프-2-엔-1-온,
- 28) (E)-N-(4-tert-부틸페닐)-3-(1H-인돌-3-일)-2-메틸아크릴아미드,
- 29) (E)-N-(퓨란-2-일메틸)-3-(1H-인돌-3-일)-2-메틸아크릴아미드,
- 30) (E)-N-(3-(1H-이미다졸-1-일)프로필)-3-(1H-인돌-3-일)-2-메틸아크릴아미드,
- 31) (E)-N-(2-(디메틸아미노)에틸)-3-(1H-인돌-3-일)-2-메틸아크릴아미드,
- 32) (E)-3-(1H-인돌-3-일)-2-메틸-N-(4-(트리플루오로메틸)페닐)아크릴아미드,
- 33) (E)-3-(5-시아노-1H-인돌-3-일)-2-메틸-N-p-톨릴아크릴아미드,
- 34) (E)-N-(4-tert-부틸페닐)-3-(4-메톡시-1H-인돌-3-일)-2-메틸아크릴아미드,
- 35) (E)-N-(4-tert-부틸페닐)-2-메틸-3-(5-메틸-1H-인돌-3-일)아크릴아미드,

- 36) (E)-N-(4-tert-부틸페닐)-3-(5-메톡시-1H-인돌-3-일)-2-메틸아크릴아미드,
- 37) (E)-N-(4-tert-부틸페닐)-3-(5-시아노-1H-인돌-3-일)-2-메틸아크릴아미드,
- 38) (E)-N-(4-tert-부틸페닐)-2-메틸-3-(5-니트로-1H-인돌-3-일)아크릴아미드,
- 39) (E)-N-(4-tert-부틸페닐)-2-메틸-3-(6-메틸-1H-인돌-3-일)아크릴아미드,
- 40) (E)-N-(4-tert-부틸페닐)-3-(6-메톡시-1H-인돌-3-일)-2-메틸아크릴아미드,
- 41) (E)-N-(4-tert-부틸페닐)-3-(6-이소프로필-1H-인돌-3-일)-2-메틸아크릴아미드,
- 42) (E)-3-(6-브로모-1H-인돌-3-일)-N-(4-tert-부틸)-2-메틸아크릴아미드, 및
- 43) (E)-3-(5-시아노-1H-인돌-3-일)-N-(4-이소프로필페닐)-2-메틸아크릴아미드.

로 구성되는 군으로부터 선택되는 1종 이상인 것을 특징으로 하는, 인돌계 화합물 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염.

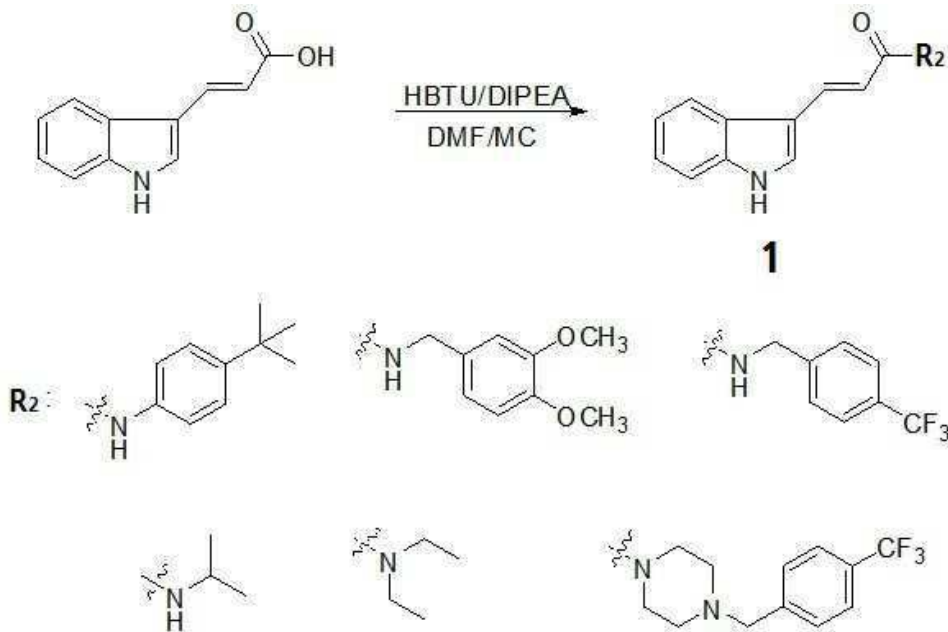
**청구항 4**

화학식 1의 인돌계 화합물에서 R 및 R<sub>1</sub>이 H인 경우,

트랜스-3-인돌 아크릴산, N,N-디이소프로필에틸아민

(N,N-Diisopropylethylamine, DIPEA) 및 HBTU(O-Benzotriazole-N,N,N',N'-tetramethyl-uronium-hexafluorophosphate)를 유기용매 하에서 혼합한 다음, 상기 혼합물을 아민 화합물과 반응시켜 화학식 1의 인돌계 화합물을 얻는 것을 특징으로 하며, 하기 반응식 1로 표시되는 화학식 1의 인돌계 화합물의 제조방법.

[반응식 1]

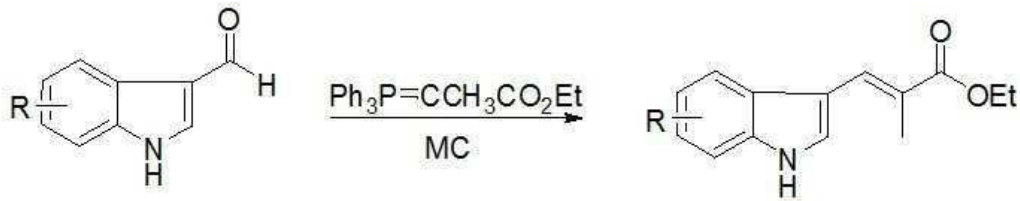


**청구항 5**

화학식 1의 인돌계 화합물에서 R<sub>1</sub>이 메틸이고, R<sub>2</sub>가 OEt인 경우,

인돌 알데히드 화합물 및 (1-카보에톡시에틸리덴)트리페닐포스포르란을 유기용매 하에서 혼합하여 화학식 1의 인돌계 화합물을 얻는 것을 포함하며, 하기 반응식 2로 표시되는 화학식 1의 인돌계 화합물의 제조방법.

[반응식 2]



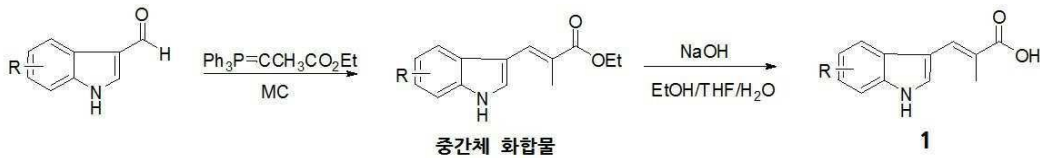
R : 4-methoxy, 5-methyl, 5-methoxy, 5-cyano, 5-nitro, 6-methyl, 6-methoxy, 6-isopropyl, 6-bromo, H

**청구항 6**

화학식 1의 인돌계 화합물에서 R<sub>1</sub>이 메틸이고, R<sub>2</sub>가 OH인 경우,

- 1) 인돌 알데히드 화합물 및 (1-카브에톡시에틸리덴)트리페닐포스포란을 유기용매 하에서 반응시켜 중간체 화합물을 얻는 단계; 및
  - 2) 상기 1)단계의 중간체 화합물을 에탄올에 용해시킨 후, 수산화나트륨 또는 수산화리튬을 가하여 반응시키고 중화시켜 화학식 1의 인돌계 화합물을 얻는 단계;
- 를 포함하며, 하기 반응식 3으로 표시되는 화학식 1의 인돌계 화합물의 제조방법.

[반응식 3]



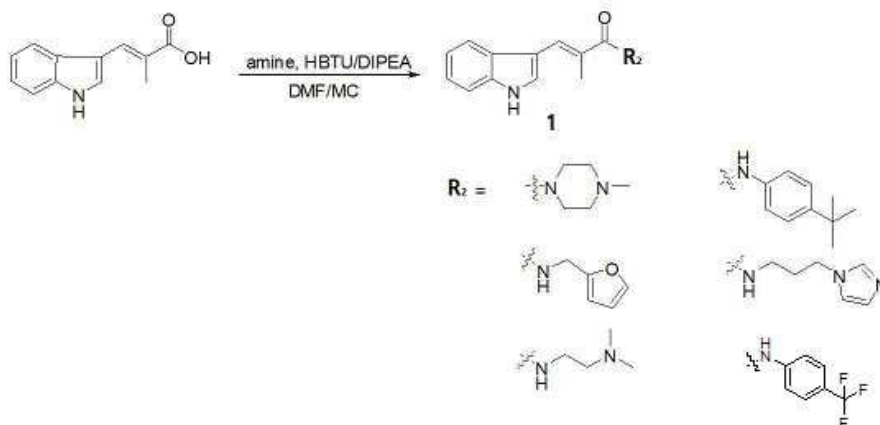
R : 4-methoxy, 5-methyl, 5-methoxy, 5-cyano, 5-nitro, 6-methyl, 6-methoxy, 6-isopropyl, 6-bromo, H

**청구항 7**

화학식 1의 인돌계 화합물에서 R<sub>1</sub>이 H이고, R<sub>2</sub>이 메틸인 경우,

(E)-3-(1H-인돌-3-일)-2-메틸아크릴산, N,N-디이소프로필에틸아민(N,N-Diisopropylethylamine, DIPEA) 및 HBTU(O-Benzotriazole-N,N,N',N'-tetramethyl-uronium-hexafluoro-phosphate)를 유기용매 하에서 혼합한 다음, 상기 혼합물을 아민 화합물과 반응시켜 화학식 1의 인돌계 화합물을 얻는 것을 특징으로 하며, 하기 반응식 4로 표시되는 화학식 1의 인돌계 화합물의 제조방법.

[반응식 4]

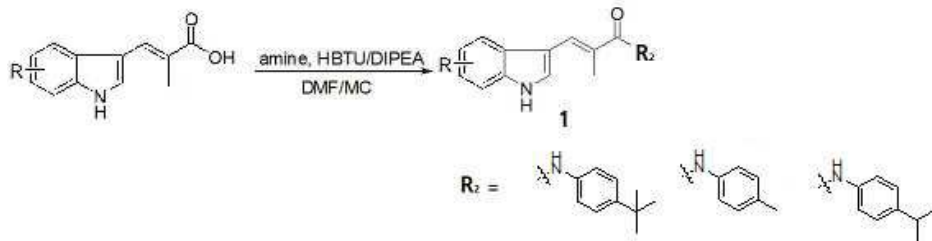


**청구항 8**

화학식 1의 인돌계 화합물에서 R<sub>1</sub>이 메틸이고, R<sub>2</sub>가 4-알킬 치환된 아닐린인 경우,

치환된 (E)-3-(1H-인돌-3-일)-2-메틸아크릴산, N,N-디이소프로필에틸아민(N,N-Diisopropylethylamine, DIPEA) 및 HBTU(O-Benzotriazole-N,N,N',N'-tetramethyl-uronium-hexafluoro-phosphate)를 유기용매 하에서 혼합한 다음, 상기 혼합물을 아민 화합물과 반응시켜 화학식 1의 인돌계 화합물을 얻는 것을 특징으로 하며, 하기 반응식 5로 표시되는 화학식 1의 인돌계 화합물의 제조방법.

[반응식 5]



R : 4-methoxy, 5-methyl, 5-methoxy, 5-cyano, 5-nitro, 6-methyl, 6-methoxy, 6-Isopropyl, 6-bromo

**청구항 9**

제4항 내지 제8항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 유기용매는 클로로포름, 메틸렌 클로라이드, 에틸 아세테이트, 메탄올, 헥산, 아세토니트릴, 톨루엔, 벤젠, 사염화탄소, 펜탄, 아세톤, 디메틸 설펝사이드, 테트라하이드로퓨란 및 디메틸포름알데히드로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상을 포함하는 것을 특징으로 하는 화학식 1의 인돌계 화합물의 제조방법.

**청구항 10**

제1항 내지 제3항 중 어느 한 항에 따른 인돌계 화합물, 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 유효성분으로 함유하는 C형 간염의 예방 또는 치료용 약학적 조성물.

**청구항 11**

제10항에 있어서, 상기 인돌계 화합물은 C형 간염 바이러스의 RNA 게놈 복제의 선택적 저해활성을 갖는 것을 특징으로 하는, C형 간염의 예방 또는 치료용 약학적 조성물.

**명세서**

**기술분야**

[0001] 본 발명은 C형 간염 바이러스의 게놈 복제를 선택적으로 저해하는 인돌계 화합물, 이의 제조방법 및 이를 유효 성분으로 함유하는 C형 간염의 예방 또는 치료용 약학적 조성물에 관한 것이다.

**배경기술**

[0002] 간염과 간질환은 뇌혈관질환, 심장질환 그리고 호흡기질환과 더불어 한국인 인구 10만 명당 사망자수가 가장 높은 4대 질환 중 하나로, 한국인의 간염과 간질환의 원인은 B형 및 C형 간염 바이러스에 의한 바이러스성 간염이 전체의 83%를 차지한다. 그 중에서도 C형 간염 바이러스는 전 세계적으로 약 1억 7천만 명의 감염자를 가지고 있는 의학적으로 매우 중요한 병원균이다. C형 간염은 1980년대 중반까지 비(非)A형 비(非)B형 수혈 후 연관간염(non-A non-B post-transfusion associated hepatitis, NANB)으로 구분되다가, 1989년도에 비로소 전혀 새로운 종류의 바이러스에 의한 감염에 의해 생기는 질병임이 밝혀지게 되었고, 그 후 이에 대한 활발한 연구와 개발이 진행되어 왔다. C형 간염 바이러스에 의한 간세포의 감염은 대부분의 경우 만성간염으로 진행되고, 15년에서 20년 정도의 장기간에 걸쳐 간경화와 간암과 같은 만성간질환으로 발전하기 때문에 치명적이며, C형 간염 바이러스(HCV, Hepatitis C Virus)에 의한 만성간염, 간경화 및 간암으로 매년 미국에서만 8000명 내지 10000명

정도가 사망하고 있는 것으로 보고된다. 특히, 대부분의 말기 C형 간염환자들의 경우 간이식수술을 기다리다 간이식을 받지 못해 사망하는 경우가 대부분이며, 통계적으로 한국의 경우 전 인구 중 1.5% 정도가 C형 간염 바이러스에 감염되어 있다고 알려져 있다.

[0003] C형 간염 바이러스(HCV)는 비(非)A형 비(非)B형 만성 간염의 원인 바이러스의 하나로, 1989년 미국에서 등장한 플라비바이러스과(Flaviviridae family viruses)의 단일가닥 RNA 바이러스이며, 그 후 전 세계에서 유전자 배열이 조금씩 다른 것이 발견되어 현재는 9종의 유전자형이 존재한다. 유전체는 약 9,500 염기로 구성된다. HCV의 감염경로는 수혈, 혈액제제, 오염된 주사바늘에 의한 자상(刺傷), 모자간 수직감염, 성교 등이 있다. 2주~6개월의 잠복기를 거친 후, B형 간염과 유사한 증상으로 시작하지만, B형 간염보다 높은 비율로 만성화된다.

[0004] 현재 C형 간염치료제로 일반적으로 쓰이고 있는 인터페론 알파(interferon-alpha)와 리바비린(ribavirin)은 각각 내재면역증진과 핵산생합성저해를 통해 바이러스를 간접적으로 공격하는 항바이러스제(indirect-acting antivirals, IAAs)로서, 두 약물을 함께 병용하여도 52주간의 정맥주사 및 경구투여를 통한 약물투여 후 치료성공률(sustained virologic response, SVR)이 바이러스의 계놈형(genotype)에 따라서는 50%에도 미치지 못하여 약효가 매우 낮을 뿐만 아니라, 자살충동, 우울증, 빈혈과 같은 심각한 부작용 및 독성을 가지고 있어 많은 C형 간염환자들이 중도에 치료를 포기하고 있는 실정이다.

[0005] 따라서, 상기와 같은 기존 C형 간염 바이러스에 대한 항바이러스 약물들을 대체할, 보다 효과적이면서도 안전한 약물개발의 필요성이 절실히 요구되고 있다.

### 선행기술문헌

#### 특허문헌

[0006] (특허문헌 0001) 'H C V 복제 저해제'(출원번호 : 10-2007-7003052)

### 발명의 내용

#### 해결하려는 과제

[0007] 본 발명자들은 HCV의 감염에 대한 예방 또는 치료에 유용한 물질에 대해 탐색하던 중, C형 간염 바이러스의 계놈 복제의 선택적 저해 활성을 갖는 신규한 인돌계 화합물을 제조하였으며, 상기 인돌계 화합물이 간세포에 대한 독성이 매우 낮으면서도, HCV의 계놈의 복제를 선택적으로 저해하는 효과가 매우 우수함을 확인하고, 본 발명을 완성하였다.

[0008] 따라서, 본 발명은 C형 간염 바이러스의 계놈 복제의 선택적 저해 활성을 갖는 인돌계 화합물을 제공하고자 한다.

[0009] 또한, 본 발명은 상기 인돌계 화합물의 제조방법을 제공하고자 한다.

[0010] 또한, 본 발명은 상기 인돌계 화합물을 유효성분으로 함유하는 C형 간염의 예방 또는 치료용 약학적 조성물을 제공하고자 한다.

#### 과제의 해결 수단

[0011] 본 발명은 C형 간염 바이러스의 계놈 복제의 선택적 저해 활성을 갖는 인돌계 화합물을 제공한다.

[0012] 또한, 본 발명은 상기 인돌계 화합물의 제조방법을 제공한다.

[0013] 또한, 본 발명은 상기 인돌계 화합물을 유효성분으로 함유하는 C형 간염의 예방 또는 치료용 약학적 조성물을 제공한다.

#### 발명의 효과

[0014] 본 발명의 인돌계 화합물은 간세포에서 최소의 독성을 나타내며, C형 간염 바이러스의 RNA 계놈 복제를 저해하는 효과가 우수하여 C형 간염 바이러스에 의한 간염 등 간질환의 예방 또는 치료에 유용하게 사용될 수 있다.

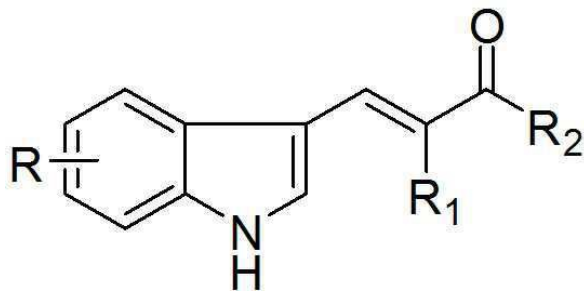
#### 도면의 간단한 설명



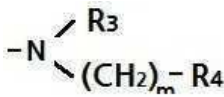

- [0015] 도 1은 C형 간염 바이러스의 게놈복제를 측정하기 위해 사용된 FL-J6/JFH-5C19Rluc2Aubi HCV 리포터바이러스의 게놈 구조를 나타낸 도이다.
- 도 2는 본 발명의 화학식 1-1의 화합물이 C형 간염 바이러스의 RNA 게놈 복제 및 세포생존율에 미치는 영향을 나타낸 도이다(붉은선: 세포생존율, 파란선: 게놈복제율).
- 도 3은 본 발명의 화학식 1-12의 화합물이 C형 간염 바이러스의 RNA 게놈 복제 및 세포생존율에 미치는 영향을 나타낸 도이다(붉은선: 세포생존율, 파란선: 게놈복제율).
- 도 4는 본 발명의 화학식 1-37의 화합물의 농도 및 시간의 증가에 따라 HCV 복제시 루시페라아제(luciferase) 활성 및 상대적 세포 생존율에 미치는 영향을 나타낸 도이다.
- 도 5는 본 발명의 화학식 1-37의 화합물의 농도 및 시간의 증가에 따라 HCV 복제시 GAPDH RNA에 대한 상대적 HCV 수치에 미치는 영향을 real time RT-PCR을 통하여 측정된 결과를 나타낸 도이다. [(A) J6/JFH RNA-감염 세포, (B) Bart79I RNA-감염 세포]
- 도 6는 본 발명의 화학식 1-37의 화합물의 농도 및 시간의 증가에 따라 host  $\beta$ -actin 단백질 및 상대적 HCV core 수치에 미치는 영향을 Western blot을 통하여 측정된 결과를 나타낸 도이다. [(A) J6/JFH RNA-감염 세포, (B) Bart79I RNA-감염 세포]
- 도 7은 본 발명의 화학식 1-37의 화합물이 농도 및 시간의 증가에 따라 HCV NS5A-YFP-positive cell의 상대적 백분율에 미치는 영향을 FACS를 통하여 측정된 결과를 나타낸 도이다.
- 도 8은 본 발명의 화학식 1-37의 화합물의 NS5B에 대한 저항성 돌연변이 활성에 미치는 영향을 나타낸 도이다.

**발명을 실시하기 위한 구체적인 내용**

- [0016] 본 발명은 하기 화학식 1로 표시되는 인돌계 화합물 또는 이의 약학적으로 허용가능한 염을 제공한다.
- [0017] [화학식 1]



- [0018]
- [0019] 상기 화학식 1에서,
- [0020] R은 H, C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>의 알킬, C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>의 알콕시, 시아노, 니트로 또는 할로젠 원자이고,
- [0021] R<sub>1</sub>은 H 또는 C<sub>1</sub>-C<sub>5</sub>의 알킬이고,

- [0022] R<sub>2</sub>는 OH, O-(C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>의 알킬),  또는  이며,

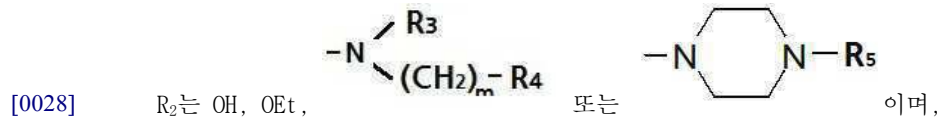
- [0023] 여기서, R<sub>3</sub> 및 R<sub>4</sub>는 서로 독립적으로 같거나 다르며, H; C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>의 알킬; C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>의 알킬, CF<sub>3</sub> 또는 C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>의 알콕시로 치환 또는 비치환된 C<sub>6</sub>-C<sub>20</sub>의 아릴; C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>의 알킬로 치환 또는 비치환된 C<sub>5</sub>-C<sub>20</sub>의 헤테로 아릴; 또는 C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>의 알킬로 치환 또는 비치환된 아민이고, m은 0 내지 3의 정수이고,

[0024] R<sub>5</sub>는 C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>의 알킬; 또는 C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>의 알킬, CF<sub>3</sub> 또는 C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>의 알콕시로 치환 또는 비치환된 C<sub>6</sub>-C<sub>20</sub>의 아릴이다.

[0025] 바람직하게는, 상기 화학식 1에서,

[0026] R은 H, Br, 메틸, 이소프로필, 메톡시, 시아노 또는 니트로이고,

[0027] R<sub>1</sub>은 H 또는 메틸이고,



[0029] 여기서, R<sub>3</sub> 및 R<sub>4</sub>는 서로 독립적으로 같거나 다르며, H, tert-부틸페닐, 이소프로필페놀, 톨릴, 디메톡시페닐, 트리플루오로메틸페닐, 이소프로필, 에틸, 퓨라닐, 이미다졸릴 또는 디메틸아미노이고, m은 0 내지 3의 정수이고,

[0030] R<sub>5</sub>는 메틸 또는 트리플루오로메틸벤질이다.

[0031] 더욱 바람직하게는, 본 발명의 화학식 1의 인돌계 화합물은 하기 화합물로 이루어진 군으로부터 선택된 1종 이상의 화합물을 포함하며, 구체적으로 하기와 같다:

[0032] 1) (E)-N-(4-tert-부틸페닐)-3-(1H-인돌-3-일)아크릴아미드,

[0033] 2) (E)-N-(3,4-디메톡시벤질)-3-(1H-인돌-3-일)아크릴아미드,

[0034] 3) (E)-3-(1H-인돌-3-일)-N-[4-(트리플루오로메틸)벤질]아크릴아미드,

[0035] 4) (E)-3-(1H-인돌-3-일)-N-이소프로필아크릴아미드,

[0036] 5) (E)-N,N-디에틸-3-(1H-인돌-3-일)아크릴아미드,

[0037] 6) (E)-3-(1H-인돌-3-일)-1-{4-[4-(트리플루오로메틸)벤질]피페라진-1-일}프로프-2-엔-1-온,

[0038] 7) (E)-에틸 3-(1H-인돌-3-일)-2-메틸아크릴레이트,

[0039] 8) (E)-에틸 3-(4-메톡시-1H-인돌-3-일)-2-메틸아크릴레이트,

[0040] 9) (E)-에틸 2-메틸-3-(5-메틸-1H-인돌-3-일)아크릴레이트,

[0041] 10) (E)-에틸 3-(5-메톡시-1H-인돌-3-일)-2-메틸아크릴레이트,

[0042] 11) (E)-에틸 3-(5-시아노-1H-인돌-3-일)-2-메틸아크릴레이트,

[0043] 12) (E)-에틸 2-메틸-3-(5-니트로-1H-인돌-3-일)아크릴레이트,

[0044] 13) (E)-에틸 2-메틸-3-(6-메틸-1H-인돌-3-일)아크릴레이트,

[0045] 14) (E)-에틸 3-(6-메톡시-1H-인돌-3-일)-2-메틸아크릴레이트,

[0046] 15) (E)-에틸 3-(6-이소프로필-1H-인돌-3-일)-2-메틸아크릴레이트,

[0047] 16) (E)-에틸 3-(6-브로모-1H-인돌-3-일)-2-메틸아크릴레이트,

[0048] 17) (E)-3-(6-이소프로필-1H-인돌-3-일)-2-메틸아크릴산,

[0049] 18) (E)-3-(6-브로모-1H-인돌-3-일)-2-메틸아크릴산,

[0050] 19) (E)-2-메틸-3-(5-메틸-1H-인돌-3-일)아크릴산,

[0051] 20) (E)-3-(1H-인돌-3-일)-2-메틸아크릴산,

[0052] 21) (E)-3-(4-메톡시-1H-인돌-3-일)-2-메틸아크릴산,

- [0053] 22) (E)-3-(5-메톡시-1H-인돌-3-일)-2-메틸아크릴산,
- [0054] 23) (E)-3-(5-시아노-1H-인돌-3-일)-2-메틸아크릴산,
- [0055] 24) (E)-2-메틸-3-(5-니트로-1H-인돌-3-일)아크릴산,
- [0056] 25) (E)-2-메틸-3-(6-메틸-1H-인돌-3-일)아크릴산,
- [0057] 26) (E)-3-(6-메톡시-1H-인돌-3-일)-2-메틸아크릴산,
- [0058] 27) (E)-3-(1H-인돌-3-일)-2-메틸-1-(4-메틸피페라진-1-일)프로프-2-엔-1-온,
- [0059] 28) (E)-N-(4-tert-부틸페닐)-3-(1H-인돌-3-일)-2-메틸아크릴아미드,
- [0060] 29) (E)-N-(퓨란-2-일메틸)-3-(1H-인돌-3-일)-2-메틸아크릴아미드,
- [0061] 30) (E)-N-(3-(1H-이미다졸-1-일)프로필)-3-(1H-인돌-3-일)-2-메틸아크릴아미드,
- [0062] 31) (E)-N-(2-(디메틸아미노)에틸)-3-(1H-인돌-3-일)-2-메틸아크릴아미드,
- [0063] 32) (E)-3-(1H-인돌-3-일)-2-메틸-N-(4-(트리플루오로메틸)페닐)아크릴아미드,
- [0064] 33) (E)-3-(5-시아노-1H-인돌-3-일)-2-메틸-N-p-톨릴아크릴아미드,
- [0065] 34) (E)-N-(4-tert-부틸페닐)-3-(4-메톡시-1H-인돌-3-일)-2-메틸아크릴아미드,
- [0066] 35) (E)-N-(4-tert-부틸페닐)-2-메틸-3-(5-메틸-1H-인돌-3-일)아크릴아미드,
- [0067] 36) (E)-N-(4-tert-부틸페닐)-3-(5-메톡시-1H-인돌-3-일)-2-메틸아크릴아미드,
- [0068] 37) (E)-N-(4-tert-부틸페닐)-3-(5-시아노-1H-인돌-3-일)-2-메틸아크릴아미드,
- [0069] 38) (E)-N-(4-tert-부틸페닐)-2-메틸-3-(5-니트로-1H-인돌-3-일)아크릴아미드,
- [0070] 39) (E)-N-(4-tert-부틸페닐)-2-메틸-3-(6-메틸-1H-인돌-3-일)아크릴아미드,
- [0071] 40) (E)-N-(4-tert-부틸페닐)-3-(6-메톡시-1H-인돌-3-일)-2-메틸아크릴아미드,
- [0072] 41) (E)-N-(4-tert-부틸페닐)-3-(6-이소프로필-1H-인돌-3-일)-2-메틸아크릴아미드,
- [0073] 42) (E)-3-(6-브로모-1H-인돌-3-일)-N-(4-tert-부틸)-2-메틸아크릴아미드, 및
- [0074] 43) (E)-3-(5-시아노-1H-인돌-3-일)-N-(4-이소프로필페닐)-2-메틸아크릴아미드.

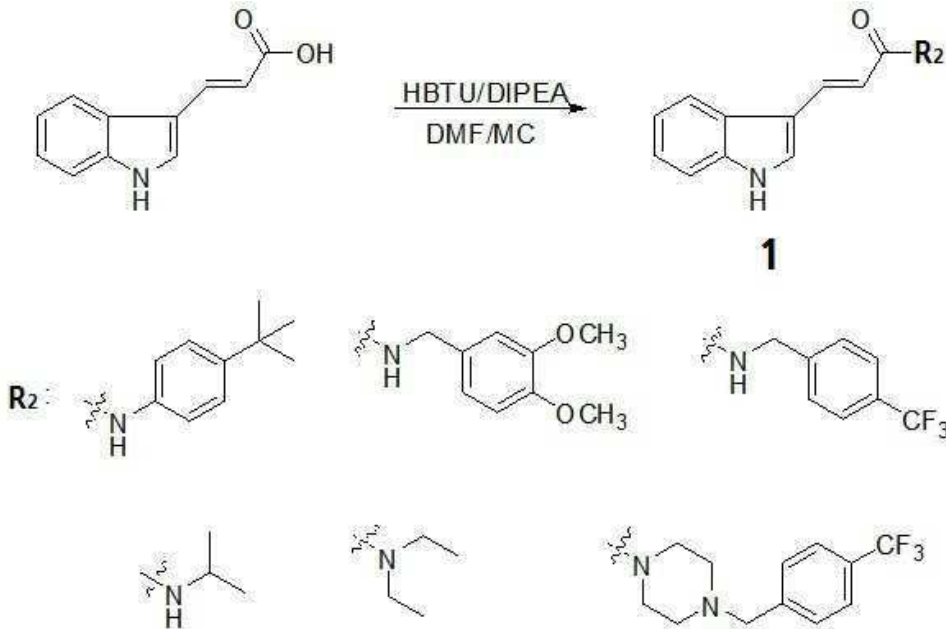
[0075] 본 발명의 인돌계 화합물의 약학적으로 허용가능한 염은 금속염, 유기 염기와의 염, 무기산과의 염, 유기산과의 염, 염기성 또는 산성 아미노산과의 염 등의 형태로 사용할 수 있다. 적합한 금속염으로는, 나트륨염, 칼륨염 등과 같은 알칼리 금속염; 칼슘염, 마그네슘염, 바륨염 등과 같은 알칼리 토금속염; 알루미늄염 등이 있고, 적합한 유기 염기와의 염으로는, 예를 들어, 트리메틸아민, 트리에틸아민, 피리딘, 피롤린, 2,6-루티딘, 에탄올아민, 디에탄올아민, 트리에탄올아민, 시클로헥실아민, 디시클로헥실아민, N,N-디벤질에틸렌디아민 등과 같은 염이 있다. 또한, 적합한 무기산과의 염의 예로서는, 염산, 브롬화수소산, 질산, 황산, 인산 등과 같은 염이 있으며, 적합한 유기산과의 염으로는, 포름산, 아세트산, 트리플루오로아세트산, 프탈산, 푸마르산, 옥살산, 타르타르산, 말레인산, 시트르산, 숙신산, 메탄술폰산, 벤젠술폰산, p-톨루엔술폰산 등과 같은 염이 있다. 염기성 아미노산과의 염의 적합한 예로서는, 예를 들어, 알기닌, 라이신, 오르니틴 등과 같은 염이 있고, 산성 아미노산과의 염의 적합한 예로서는, 예를 들어, 아스파르트산, 글루탐산 등과 같은 염이 있다. 특히 바람직한 염으로는, 화합물이 그 내에 산성 관능기를 가지는 경우, 알칼리 금속염 (예컨대, 나트륨염, 칼륨염 등), 알칼리 토금속염 (예컨대, 칼슘염, 마그네슘염, 바륨염 등) 등과 같은 무기염, 및 암모늄염과 같은 유기염이 있으며, 화합물이 그 내에 염기성 관능기를 가지는 경우, 염산, 브롬화수소산, 질산, 황산, 인산 등과 같은 무기산과의 염, 아세트산, 프탈산, 푸마르산, 옥살산, 타르타르산, 말레인산, 시트르산, 숙신산, 메탄술폰산, p-톨루엔술폰산 등과 같은 유기산과의 염이 있다.

[0076] 또한, 본 발명은 하기 반응식 1 내지 5로 표시되는 화학식 1의 인돌계 화합물의 제조 방법을 제공한다.

[0077] 첫 번째로, 화학식 1의 인돌계 화합물에서 R 및 R<sub>1</sub>이 H인 경우, 화학식 1의 인돌계 화합물의 제조 방법은,

[0078] 트랜스-3-인돌 아크릴산, N,N-디이소프로필에틸아민(N,N-Diisopropylethylamine, DIPEA) 및 HBTU(O-Benzotriazole-N,N,N',N'-tetramethyl-uronium-hexafluoro-phosphate)를 유기용매 하에서 혼합한 다음, 상기 혼합물을 아민 화합물과 반응시켜 화학식 1의 인돌계 화합물을 얻는 것을 특징으로 하며, 하기 반응식 1로 표시된다.

[0079] [반응식 1]



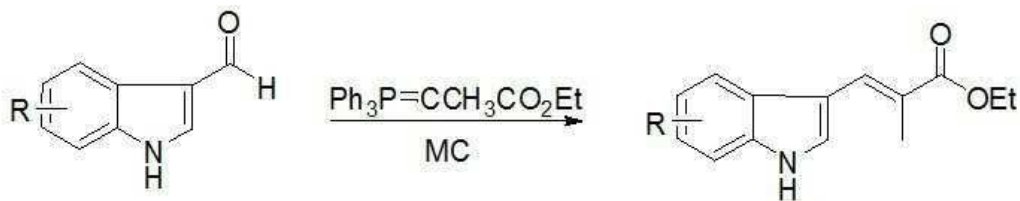
[0080]

[0081] 구체적으로는, 0.5 내지 3당량, 바람직하게는 1당량의 트랜스-3-인돌 아크릴산과 메틸렌 클로라이드를 부피비 0.5 내지 3 : 1 내지 6, 바람직하게는 1:3의 부피비로 혼합한다. 상기 혼합 용액에 0.5 내지 2당량, 바람직하게는 1.5당량의 DIPEA를 가하고, 이어서 0.5 내지 2당량, 바람직하게는 1.5 당량의 HBTU를 가한다. 15 내지 30℃, 바람직하게는 25℃에서 30분 내지 2시간, 바람직하게는 30분 동안 교반시킨 후, 0.5 내지 2당량, 바람직하게는 1.2당량의 아민 화합물을 가하고 15 내지 30℃, 바람직하게는 25℃에서 밤새 교반한다. 감압 조건하에서 과량의 용매를 증발시키고, 실리카겔 칼럼 크로마토그래피로 잔류물을 정제하여 화학식 1의 인돌계 화합물을 얻는다.

[0082] 두 번째로, 화학식 1의 인돌계 화합물에서 R<sub>1</sub>이 메틸이고, R<sub>2</sub>가 OEt인 경우, 화학식 1의 인돌계 화합물의 제조 방법은,

[0083] 인돌 알데히드 화합물 및 (1-카보에톡시에틸리덴)트리페닐포스포란을 유기용매 하에서 반응시켜 화학식 1의 인돌계 화합물을 얻는 것을 특징으로 하며, 하기 반응식 2로 표시된다.

[0084] [반응식 2]



R : 4-methoxy, 5-methyl, 5-methoxy, 5-cyano, 5-nitro, 6-methyl, 6-methoxy, 6-isopropyl, 6-bromo, H

[0085]

[0086] 구체적으로는, 0.5 내지 2당량, 바람직하게는 1당량의 인돌 알데히드 및 0.5 내지 2당량, 바람직하게는 1.3당량의 (1-카브에톡시에틸리덴)트리페닐포스포란을 혼합물을 디클로로메탄 또는 톨루엔에 용해시킨다. 반응 용액을 15 내지 30시간, 바람직하게는 18시간 동안 환류시킨 뒤, 감압 조건하에서 과량의 용매를 증발시킨다. 실리카겔의 칼럼 크로마토그래피로 잔류물을 정제하여 화학식 1의 인돌계 화합물을 얻는다.

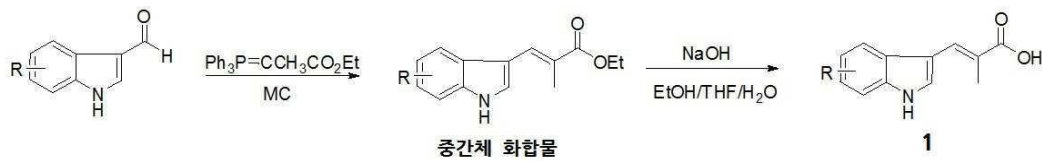
[0087] 세 번째로, 화학식 1의 인돌계 화합물에서 R<sub>1</sub>이 메틸이고, R<sub>2</sub>가 OH인 경우, 화학식 1의 인돌계 화합물의 제조 방법은,

[0088] 1) 인돌 알데히드 화합물 및 (1-카브에톡시에틸리덴)트리페닐포스포란을 유기용매 하에서 반응시켜 중간체 화합물을 얻는 단계; 및

[0089] 2) 상기 1)단계의 중간체 화합물을 에탄올에 용해시킨 후, 수산화나트륨 또는 수산화리튬을 가하여 반응시키고 중화시켜 화학식 1의 인돌계 화합물을 얻는 단계;

[0090] 를 포함하며, 하기 반응식 3로 표시된다.

[0091] [반응식 3]



R : 4-methoxy, 5-methyl, 5-methoxy, 5-cyano, 5-nitro, 6-methyl, 6-methoxy, 6-isopropyl, 6-bromo, H

[0092]

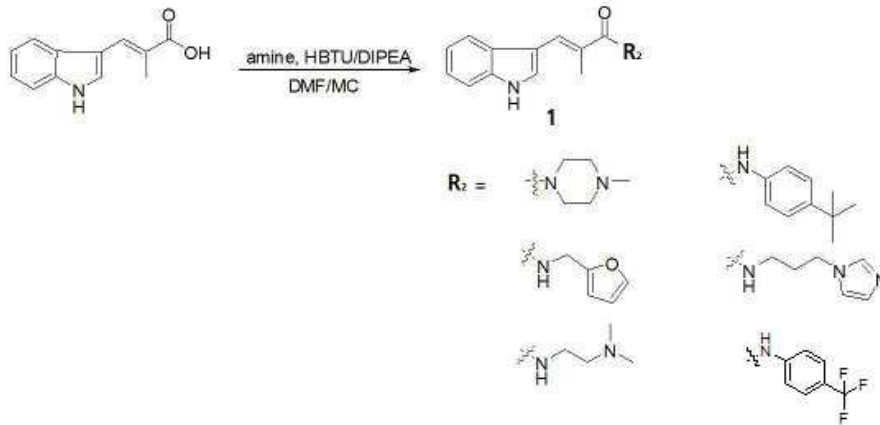
[0093] 구체적으로는, 0.5 내지 2당량, 바람직하게는 1당량의 인돌 알데히드 및 0.5 내지 2당량, 바람직하게는 1.3당량의 (1-카브에톡시에틸리덴)트리페닐포스포란을 메틸렌 클로라이드에 용해시킨다. 반응 용액을 15 내지 30시간, 바람직하게는 18시간 동안 환류시킨 뒤, 감압 조건하에서 과량의 용매를 증발시킨다. 실리카겔의 칼럼 크로마토그래피로 잔류물을 정제하여 중간체 화합물을 얻는다.

[0094] 0.5 내지 2당량, 바람직하게는 1당량의 상기 중간체 화합물을 에탄올에 용해시킨 뒤, 물 안의 7 내지 15 당량, 바람직하게는 10당량의 수산화나트륨 또는 수산화리튬을 5 내지 10℃, 바람직하게는 5℃에서 가한다. 반응 혼합물을 1 내지 2시간, 바람직하게는 2시간 동안 환류시킨 뒤, 감압 조건하에서 증발시킨다. 잔류물을 5내지 15%, 바람직하게는 10%의 HCl로 중화시키고, 메틸렌 클로라이드로 추출한다. 수상(water phase)을 5 내지 15℃, 바람직하게는 5℃에서 5 내지 15%, 바람직하게는 10%의 HCl로 중화시키고, 물로부터 침전시킨다. 고체를 여과한 후, 진공에서 건조시킨다. 조생성물을 칼럼 크로마토그래피로 정제하여 화학식 1의 인돌계 화합물을 얻는다.

[0095] 네 번째로, 화학식 1의 인돌계 화합물에서 R이 H이고, R<sub>1</sub>이 메틸인 경우, 화학식 1의 인돌계 화합물의 제조 방법은,

[0096] (E)-3-(1H-인돌-3-일)-2-메틸아크릴산, N,N-디이소프로필에틸아민(N,N-Diisopropylethylamine, DIPEA) 및 HBTU(O-Benzotriazole-N,N,N',N'-tetramethyl-uronium-hexafluoro-phosphate)를 유기용매 하에서 혼합한 다음, 상기 혼합물을 아민 화합물과 반응시켜 화학식 1의 인돌계 화합물을 얻는 것을 특징으로 하며, 하기 반응식 4로 표시된다.

[0097] [반응식 4]



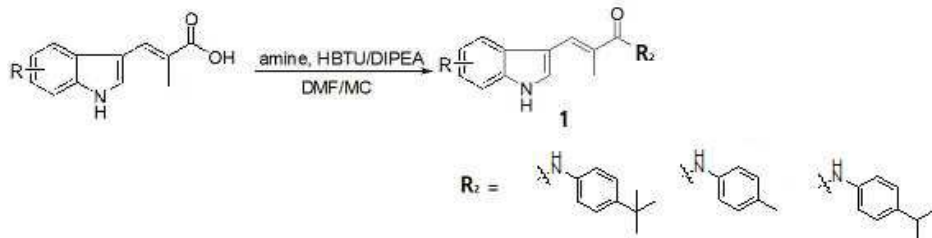
[0098]

[0099] 구체적으로는, 0.5 내지 3당량, 바람직하게는 1당량의 (E)-3-(1H-인돌-3-일)-2-메틸아크릴산과 메틸렌 클로라이드를 부피비 0.5 내지 3 : 1 내지 6, 바람직하게는 1:3의 부피비로 혼합한다. 상기 혼합 용액에 0.5 내지 2당량, 바람직하게는 1.5당량의 DIPEA를 가하고, 이어서 0.5 내지 2당량, 바람직하게는 1.5 당량의 HBTU를 가한다. 15 내지 30℃, 바람직하게는 25℃에서 30분 내지 2시간, 바람직하게는 30분 동안 교반시킨 후, 0.5 내지 2당량, 바람직하게는 1당량의 아민 화합물을 가하고 15 내지 30℃, 바람직하게는 25℃에서 밤새 교반한다. 감압 조건하에서 과량의 용매를 증발시키고, 실리카겔의 칼럼 크로마토그래피로 잔류물을 정제하여 화학식 1의 인돌계 화합물을 얻는다.

[0100] 다섯 번째로, 화학식 1의 인돌계 화합물에서 R<sub>1</sub>이 메틸이고, R<sub>2</sub>가 4-알킬 치환된 아닐린인 경우, 화학식 1의 인돌계 화합물의 제조 방법은,

[0101] 치환된 (E)-3-(1H-인돌-3-일)-2-메틸아크릴산, N,N-디이소프로필에틸아민(N,N-Diisopropylethylamine, DIPEA) 및 HBTU(0-Benzotriazole-N,N',N'-tetramethyl-uronium-hexafluoro-phosphate)를 유기용매 하에서 혼합한 다음, 상기 혼합물을 아민 화합물과 반응시켜 화학식 1의 인돌계 화합물을 얻는 것을 특징으로 하며, 하기 반응식 5로 표시된다.

[0102] [반응식 5]



R : 4-methoxy, 5-methyl, 5-methoxy, 5-cyano, 5-nitro, 6-methyl, 6-methoxy, 6-Isopropyl, 6-bromo

[0103]

[0104] 구체적으로는, 0.5 내지 3당량, 바람직하게는 1당량의 치환된 (E)-3-(1H-인돌-3-일)-2-메틸아크릴산과 메틸렌 클로라이드를 부피비 0.5 내지 3 : 1 내지 6, 바람직하게는 1:3의 부피비로 혼합한다. 상기 혼합 용액에 0.5 내지 2당량, 바람직하게는 1.5당량의 DIPEA를 가하고, 이어서 0.5 내지 2당량, 바람직하게는 1.5 당량의 HBTU를 가한다. 15 내지 30℃, 바람직하게는 25℃에서 30분 내지 2시간, 바람직하게는 30분 동안 교반시킨 후, 0.5 내지 2당량, 바람직하게는 1당량의 아민 화합물을 가하고 15 내지 30℃, 바람직하게는 25℃에서 밤새 교반한다. 감압 조건하에서 과량의 용매를 증발시키고, 실리카겔의 칼럼 크로마토그래피로 잔류물을 정제하여 화학식 1의 인돌계 화합물을 얻는다.

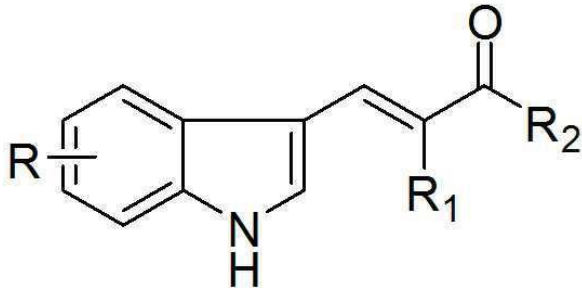
[0105] 상기 반응식 1 내지 5에서 유기용매는 클로로포름, 메틸렌 클로라이드, 에틸 아세테이트, 메탄올, 헥산, 아세트 니트릴, 톨루엔, 벤젠, 사염화탄소, 펜탄, 아세톤, 디메틸 설폭시드, 테트라하이드로퓨란 및 디메틸포름알데히



드로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상을 포함하나, 이에 한정되지 않는다.

[0106] 또한, 본 발명은 하기 화학식 1로 표시되는 인돌계 화합물 또는 약학적으로 허용 가능한 염을 유효성분으로 포함하는 C형 간염의 예방 또는 치료용 약학적 조성물을 제공한다.

[0107] [화학식 1]



[0108]

[0109] 상기 R, R<sub>1</sub> 및 R<sub>2</sub>는 화학식 1에서 정의된 바와 같다.

[0110] 본 발명의 조성물의 유효성분인 인돌계 화합물은 간세포에 대한 독성이 매우 낮아 안전성이 높고, HCV의 게놈의 복제를 저해하는 효과가 매우 우수하다.

[0111] 상기 HCV는 플라비비리데(flaviviridae)군 중 헤파시바이러스(hepacivirus)속으로 분류되는 유일한 바이러스로, 약 9600개의 핵산으로 이루어진 단일가닥(strand)의 RNA를 바이러스게놈으로 가지고 있다. 상기 RNA는 간세포 내에서 약 3000개의 아미노산으로 이루어진 다단백질(polyprotein)로 번역되고, 번역된 다단백질(polyprotein)은 간세포의 소포체에 존재하는 신호 펩티다제(signal peptidase)와 바이러스의 비구조 단백질 중 하나인 NS3 단백질분해효소(protease)에 의해 10가지의 다른 바이러스단백질로 발현된다. 발현된 바이러스단백질 중 외피 당단백질(envelope glycoprotein)인 E1, E2, 그리고 캡시드(capsid) 단백질인 코어(core)와 같은 구조단백질들(structural proteins)은 바이러스의 입자(particle)를 만드는데 쓰이고 NS2, NS3, NS4A, NS4B, NS5A, 그리고 NS5B와 같은 비구조 단백질들(non-structural proteins)은 바이러스의 게놈을 복제하는데 필요한 바이러스게놈 복제 화합체(virus genome replication complex)를 만드는데 쓰인다. HCV는 소포체(endoplasmic reticulum)에서 발생한 막피(membrane)에서 바이러스게놈 복제화합체를 만들어서 바이러스의 RNA 게놈을 복제한다. 바이러스 게놈 복제화합체는 막피에 쌓여 움푹 들어간 형태(invaginated)를 유지함으로써 외부환경에서 분리된 독립적인 구조를 만들고 이 구조 속에 바이러스의 비구조 단백질들을 발현시키고 발현된 비구조 단백질들이 바이러스의 RNA 중합효소인 NS5B 단백질과 함께 바이러스의 게놈복제공장의 역할을 한다. 하지만 이 바이러스게놈 복제화합체가 어떻게 만들어지고 유지되는지에 대해서는 잘 알려져 있지 않다. 바이러스의 비구조 단백질들 중 특히 NS4B 단백질은 간세포 내에서 바이러스의 게놈복제에 꼭 필요한 다소포구조(multi-vesicular structure)인 세포 막거미줄(membranous web)을 만드는데 가장 결정적인 역할을 하는 것으로 밝혀졌다. 이 NS4B에 의해서 만들어진 세포막거미줄(membranous web)이라는 구조는 바이러스게놈 복제화합체를 만드는데 필요한 물리적인 구조를 제공한다고 믿어진다. 또한, NS5A 단백질은 바이러스게놈 복제화합체를 다른 바이러스의 비구조 단백질들을 이용하여 조립하고, 만들어진 바이러스게놈을 지방물방울(lipid droplet)이라는 구조로 옮기고, 여기서 바이러스의 코어(core) 단백질을 바이러스 게놈과 결합시킴으로써 실제적인 바이러스입자를 만드는데 중요한 역할을 한다고 알려져있다. 특히 바이러스의 비구조 단백질간의 단백질상호작용(protein-protein interaction)은 바이러스게놈 복제화합체를 만드는데 결정적인 역할을 한다고 알려져 있지만 정확하게 분자수준에서 어떤 역할을 하는지에 대해서는 아직 잘 알려져 있지 않은 상태이다.

[0112] 바이러스성 질환을 치료할 수 있는 항바이러스제의 종류로는 항바이러스제의 작용메커니즘에 따라 바이러스를 간접적으로 공격하는 항바이러스제(indirect-acting antivirals, IAAs)와 바이러스를 직접적으로 공격하는 항바이러스제(direct-acting antivirals, DAAs)가 있다. 바이러스와 같은 병원성 외부미생물이 체내 침투시 체내에서 분비되는 인터페론알파는 바이러스를 간접적으로 공격하는 대표적인 항바이러스성 내재면역 증강물질로써, 바이러스 자체를 공격하기보다는 바이러스가 기생하고 있는 숙주세포의 면역저항성을 높임으로써 바이러스의 세포 내 증식을 차단하기 때문에, 여러 가지 다른 종류의 바이러스성 질환에 효과가 있고 바이러스가 기생하고 있는 숙주세포의 단백질의 기능을 조절하여 항바이러스 활성을 나타내므로, 내성과 저항성을 가지고 있는 돌연변

이 바이러스가 생길 확률이 비교적 적다. 그러나, 특정한 바이러스에 대해서만 항바이러스활성을 나타낼 수 있는 항바이러스 특이성(antiviral specificity)이 현저하게 떨어지기 때문에, 이를 극복하기 위해서 생체 내에서 자연스럽게 분비되는 인터페론의 양보다 훨씬 더 많은 양의 인터페론을 치료목적으로 투여하게 되고, 따라서 자살충동, 우울증, 빈혈 등과 같은 심각한 부작용 및 독성이 나타나게 된다.

[0113] 한편, 바이러스를 직접적으로 공격하는 항바이러스제의 경우, 인터페론과 달리 바이러스의 생활사에서 꼭 필요한 바이러스단백질들의 특수한 기능만을 선택적으로 저해함으로써 상대적으로 낮은 농도에서도 높은 항바이러스 활성을 나타낸다. 또한 바이러스를 간접적으로 공격하는 항바이러스제에 비해, 독성이 적고 안전성이 높은 것이 특징이다. 인간면역결핍바이러스(human immunodeficiency virus, HIV)의 역전사효소 저해제(reverse transcriptase inhibitor)와 단백질분해효소 저해제(protease inhibitor)는 바이러스를 직접적으로 공격하는 대표적인 항바이러스제로써, 각각 바이러스의 생활사에서 필수적인 효소인 역전사효소, 단백질분해효소를 저해하여 바이러스의 세포 내 증식을 억제한다. 그러나, 바이러스가 돌연변이를 통해 항바이러스제의 타겟이 된 바이러스단백질의 아미노산서열을 변화시킴으로써 기존 항바이러스제에 대한 저항성 및 내성을 나타낼 수 있는 가능성이 상대적으로 크며, 특히, C형 간염 바이러스의 RNA 중합효소(polymerase)는 RNA게놈의 복제시 잘못 들어간 핵산을 교정하는 기능을 하는 5'-3' 엔도뉴클레아제(endonuclease) 활성이 없으므로, C형 간염 바이러스 게놈인 RNA가 복제되는 과정에서 쉽게 돌연변이 바이러스가 생기게 되어 바이러스를 직접적으로 공격하는 항바이러스제에 대해 저항성과 내성을 갖기가 쉽다.

[0114] 따라서, 본 발명의 조성물의 유효성분인 인돌계 화합물은 이러한 C형 간염 바이러스의 RNA 게놈복제 단계에서 게놈 복제를 선택적으로 차단하는 효과가 우수하므로, 내성과 저항성을 나타낼 수 있는 돌연변이 바이러스의 발생을 억제하면서도, 적은 부작용 및 독성을 나타낸다. 따라서, 본 발명의 인돌계 화합물은 안전하면서도 HCV에 작용특이성이 높은 C형 간염의 예방 또는 치료용 의약품으로 유용하게 사용될 수 있다.

[0115] 본 발명의 조성물은 유효성분인 인돌계 화합물과 함께 C형 간염의 예방 또는 치료 효과를 갖는 공지의 유효성분을 1종 이상 포함할 수 있다.

[0116] 본 발명의 조성물은, 투여를 위하여 상기 기재한 유효성분 이외에 추가로 약학적으로 허용 가능한 담체를 1종 이상 포함하여 제조할 수 있다. 약학적으로 허용 가능한 담체는 식염수, 멸균수, 링거액, 완충 식염수, 텍스트로오스 용액, 말토 텍스트린 용액, 글리세롤, 에탄올 및 이들 성분 중 1 성분 이상을 혼합하여 사용할 수 있으며, 필요에 따라 항산화제, 완충액, 정균제 등 다른 통상의 첨가제를 첨가할 수 있다. 또한 희석제, 분산제, 계면활성제, 결합제 및 운환제를 부가적으로 첨가하여 수용액, 현탁액, 유탁액 등과 같은 주사용 제형, 환약, 캡슐, 과립 또는 정제로 제제화할 수 있다. 더 나아가 당 분야의 적절한 방법으로 또는 Remington's Pharmaceutical Science(최근판), Mack Publishing Company, Easton PA에 개시되어 있는 방법을 이용하여 각 질환에 따라 또는 성분에 따라 바람직하게 제제화할 수 있다.

[0117] 본 발명의 조성물은 목적하는 방법에 따라 경구 투여하거나 비경구 투여(예를 들어, 정맥 내, 피하, 복강 내 또는 국소에 적용)할 수 있으며, 투여량은 환자의 체중, 연령, 성별, 건강상태, 식이, 투여시간, 투여방법, 배설율 및 질환의 중증도 등에 따라 그 범위가 다양하다. 상기 인돌계 화합물의 일일 투여량은 약 10 내지 100 mg/kg이며, 하루 일회 내지 수회에 나누어 투여하는 것이 바람직하다.

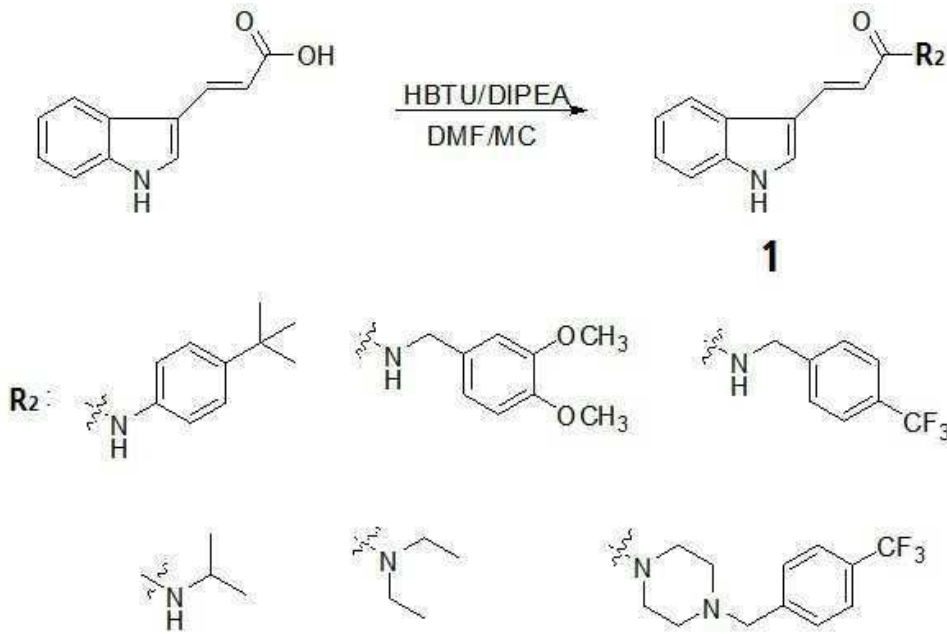
[0118] 본 발명의 조성물은 C형 간염의 예방 또는 치료를 위하여 단독으로, 또는 수술, 호르몬 치료, 약물치료 및 생물학적 반응 조절제를 사용하는 방법들과 병용하여 사용할 수 있다.

[0119] 이하, 본 발명의 이해를 돕기 위하여 바람직한 실시예를 제시한다. 그러나 하기의 실시예는 본 발명을 보다 쉽게 이해하기 위하여 제공되는 것일 뿐, 실시예에 의해 본 발명의 내용이 한정되는 것은 아니다.

[0120] **실시예 1 내지 6. 화학식 1-1 내지 1-6의 인돌계 화합물의 제조**



[0121] : 상기 화학식 1에서, R 및 R<sub>1</sub>이 H인 경우



[0122]

[0123] 둥근 바닥 플라스크에 트랜스-3-인돌 아크릴산(1 당량)과 메틸렌 클로라이드를 부피비 1:3으로 채웠다. 상기 용액에 DIPEA(1.5 당량)를 가하고, 이어서 HBTU(1.5당량)를 가하였다. 실온(약 25℃)에서 30분간 교반시킨 후, 아민 화합물(1.2 당량)을 가하고 실온에서 밤새 교반하였다. 감압 조건 하에서 과량의 용매를 증발시키고, 실리카 겔 칼럼 크로마토그래피로 잔류물을 정제하여 하기 표 1의 화합물을 얻었다.

표 1

[0124]

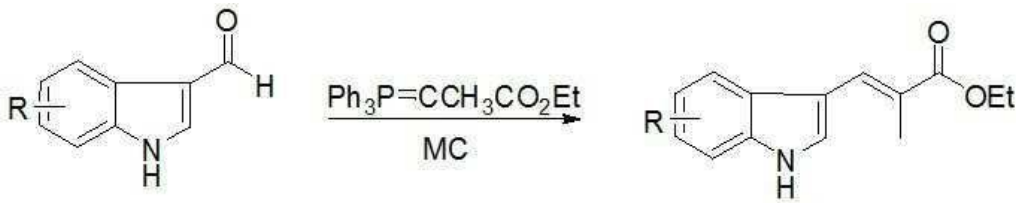
	IUPAC name	분자식	R	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>
화학식 1-1	(E)-N-(4-tert-부틸페닐)-3-(1H-인돌-3-일)아크릴아미드	C <sub>21</sub> H <sub>22</sub> N <sub>2</sub> O	H	H	
화학식 1-2	(E)-N-(3,4-디메톡시벤질)-3-(1H-인돌-3-일)아크릴아미드	C <sub>20</sub> H <sub>20</sub> N <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	H	H	
화학식 1-3	(E)-3-(1H-인돌-3-일)-N-[4-(트리플루오로메틸)벤질]아크릴아미드	C <sub>23</sub> H <sub>22</sub> F <sub>3</sub> N <sub>3</sub> O	H	H	
화학식 1-4	(E)-3-(1H-인돌-3-일)-N-이소프로필아크릴아미드	C <sub>14</sub> H <sub>16</sub> N <sub>2</sub> O	H	H	
화학식 1-5	(E)-N,N-디에틸-3-(1H-인돌-3-일)아크릴아미드	C <sub>15</sub> H <sub>18</sub> N <sub>2</sub> O	H	H	
화학식 1-6	(E)-3-(1H-인돌-3-일)-1-[4-[4-(트리플루오로메틸)벤질]피페라진-1-일}프로프-2-엔-1-온	C <sub>19</sub> H <sub>15</sub> F <sub>3</sub> N <sub>3</sub> O	H	H	

[0125] 상기 표 1의 화합물의 NMR 데이터 및 질량 스펙트럼 데이터는 다음과 같다.

[0126] <화학식 1-1의 화합물> : (E)-N-(4-tert-부틸페닐)-3-(1H-인돌-3-일)아크릴아미드(수율 : 87%)

- [0127]  $^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CD}_3\text{OD}$ , 500 MHz)  $\delta$  7.96 (d,  $J = 7.4$  Hz, 1H), 7.88 (d,  $J = 15.6$  Hz, 1H), 7.61 (s, 1H), 7.57 (d,  $J = 8.5$  Hz, 2H), 7.44 (d,  $J = 7.4$  Hz, 1H), 7.36 (d,  $J = 8.6$  Hz, 2H), 7.17-7.23 (m, 2H), 6.77 (d,  $J = 15.6$  Hz, 1H), 1.31 (s, 9H);
- [0128] MS (EI)  $m/z$  318 ( $\text{M}^+$ ); HRMS (EI)  $m/z$  calcd for  $\text{C}_{21}\text{H}_{22}\text{N}_2\text{O}$  318.1732, found: 318.1732)
- [0129] <화학식 1-2의 화합물> : (E)-N-(3,4-디메톡시벤질)-3-(1H-인돌-3-일)아크릴아미드(수율 : 81%)
- [0130]  $^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CD}_3\text{OD}$ , 500 MHz)  $\delta$  8.00 (s, 1H), 7.92 (d,  $J = 5.0$  Hz, 1H), 7.80 (d,  $J = 15.5$  Hz, 1H), 7.59 (s, 1H), 7.43 (d,  $J = 8.0$  Hz, 1H), 7.15-7.22 (m, 4H), 6.66 (d,  $J = 16.0$  Hz, 1H), 6.57 (d,  $J = 2.0$  Hz, 1H), 6.51 (dd,  $J = 2.5$  Hz, 8.0 Hz, 1H), 4.45 (s, 2H), 3.01 (s, 3H), 2.88 (s, 3H);
- [0131] MS (EI)  $m/z$  336 ( $\text{M}^+$ ); HRMS (EI)  $m/z$  calcd for  $\text{C}_{20}\text{H}_{20}\text{N}_2\text{O}_3$  336.1474, found: 336.1472)
- [0132] <화학식 1-3의 화합물> : (E)-3-(1H-인돌-3-일)-N-[4-(트리플루오로메틸)벤질]아크릴아미드(수율: 78%)
- [0133]  $^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CD}_3\text{OD}$ , 500 MHz)  $\delta$  7.89 (d,  $J = 7.8$  Hz, 1H), 7.82 (d,  $J = 15.7$  Hz, 1H), 7.63 (d,  $J = 8.2$  Hz, 2H), 7.58 (s, 1H), 7.52 (d,  $J = 8.1$  Hz, 1H), 7.41 (d,  $J = 7.8$  Hz, 1H), 7.14-7.21 (m, 2H), 6.64 (d,  $J = 15.7$  Hz, 1H), 4.59 (s, 2H);
- [0134] MS (EI)  $m/z$  413 ( $\text{M}^+$ ); HRMS (EI)  $m/z$  calcd for  $\text{C}_{23}\text{H}_{22}\text{F}_3\text{N}_3\text{O}$  413.1715, found: 413.1714.
- [0135] <화학식 1-4의 화합물> : (E)-3-(1H-인돌-3-일)-N-이소프로필아크릴아미드(수율 : 51%)
- [0136]  $^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CD}_3\text{OD}$ , 500 MHz)  $\delta$  7.88 (d,  $J = 7.8$  Hz, 1H), 7.74 (d,  $J = 15.7$  Hz, 1H), 7.55 (s, 1H), 7.40 (d,  $J = 7.8$  Hz, 1H), 7.13-7.20 (m, 2H), 6.56 (d,  $J = 15.7$  Hz, 1H), 4.08-4.13 (m, 1H), 1.20 (d,  $J = 6.6$  Hz, 6H);
- [0137] MS (EI)  $m/z$  228 ( $\text{M}^+$ ); HRMS (EI)  $m/z$  calcd for  $\text{C}_{14}\text{H}_{16}\text{N}_2\text{O}$  228.1263, found: 228.1263;
- [0138] 순도 100 % (as determined by RP-HPLC, method A,  $t_R = 8.4$  min).
- [0139] <화학식 1-5의 화합물> : (E)-N,N-디에틸-3-(1H-인돌-3-일)아크릴아미드(수율 : 23%)
- [0140]  $^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CD}_3\text{OD}$ , 500 MHz)  $\delta$  7.87 (d,  $J = 15.3$  Hz, 1H), 7.82 (d,  $J = 7.1$  Hz, 1H), 7.64 (s, 1H), 7.42 (d,  $J = 7.4$  Hz, 1H), 7.16-7.21 (m, 2H), 6.88 (d,  $J = 15.3$  Hz, 1H), 3.60 (q,  $J = 7.0$  Hz, 2H), 3.50 (q,  $J = 6.9$  Hz, 2H), 1.32 (t,  $J = 6.6$  Hz, 3H), 1.19 (t,  $J = 6.7$  Hz, 3H);
- [0141] MS (EI)  $m/z$  242 ( $\text{M}^+$ ); HRMS (EI)  $m/z$  calcd for  $\text{C}_{15}\text{H}_{18}\text{N}_2\text{O}$  242.1419, found: 242.1420).
- [0142] <화학식 1-6의 화합물> : (E)-3-(1H-인돌-3-일)-1-{4-[4-(트리플루오로메틸)벤질]피페라진-1-일}프로프-2-엔-1-온(수율 : 36%)
- [0143]  $^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CD}_3\text{OD}$ , 500 MHz)  $\delta$  7.91 (d,  $J = 15.3$  Hz, 1H), 7.89 (d,  $J = 7.6$  Hz, 1H), 7.68 (s, 1H), 7.67 (d,  $J = 9.7$  Hz, 2H), 7.60 (d,  $J = 8.0$  Hz, 2H), 7.44 (d,  $J = 7.7$  Hz, 1H), 7.18-7.24 (m, 2H), 6.97 (d,  $J = 15.3$  Hz, 1H), 3.80 (b, 4H), 3.68 (s, 2H), 2.56 (b, 4H);
- [0144] MS (EI)  $m/z$  344 ( $\text{M}^+$ ); HRMS (EI)  $m/z$  calcd for  $\text{C}_{19}\text{H}_{15}\text{F}_3\text{N}_2\text{O}$  344.1136, found: 344.1134).
- [0145] 실시예 7 내지 16. 화학식 1-7 내지 1-16의 인돌계 화합물의 제조

[0146] : 화학식 1에서, R<sub>1</sub>이 메틸이고, R<sub>2</sub>가 OEt인 경우



R : 4-methoxy, 5-methyl, 5-methoxy, 5-cyano, 5-nitro, 6-methyl, 6-methoxy, 6-isopropyl, 6-bromo, H

[0147]

[0148] 인돌 알데히드(1.0당량) 및 (1-카브에톡시에틸리덴)트리페닐포스포란(1.3당량)의 혼합물을 메틸렌 클로라이드에 용해시켰다. 반응 용액을 18시간 동안 환류시킨 뒤, 감압 조건하에서 과량의 용매를 증발시켰다. 실리카겔의 칼럼 크로마토그래피로 잔류물을 정제하여 하기 표 2의 화합물을 얻었다.

표 2

[0149]

	IUPAC name	분자식	R	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>
화학식 1-7	(E)-에틸 3-(1H-인돌-3-일)-2-메틸아크릴레이트	C <sub>14</sub> H <sub>16</sub> NO <sub>2</sub>	H	메틸	OEt
화학식 1-8	(E)-에틸 3-(4-메톡시-1H-인돌-3-일)-2-메틸아크릴레이트	C <sub>15</sub> H <sub>18</sub> NO <sub>3</sub>	4-메톡시	메틸	OEt
화학식 1-9	(E)-에틸 2-메틸-3-(5-메틸-1H-인돌-3-일)아크릴레이트	C <sub>15</sub> H <sub>18</sub> NO <sub>2</sub>	5-메틸	메틸	OEt
화학식 1-10	(E)-에틸 3-(5-메톡시-1H-인돌-3-일)-2-메틸아크릴레이트	C <sub>15</sub> H <sub>18</sub> NO <sub>3</sub>	5-메톡시	메틸	OEt
화학식 1-11	(E)-에틸 3-(5-시아노-1H-인돌-3-일)-2-메틸아크릴레이트	C <sub>15</sub> H <sub>15</sub> N <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	5-시아노	메틸	OEt
화학식 1-12	(E)-에틸 2-메틸-3-(5-니트로-1H-인돌-3-일)아크릴레이트	C <sub>14</sub> H <sub>15</sub> N <sub>2</sub> O <sub>4</sub>	5-니트로	메틸	OEt
화학식 1-13	(E)-에틸 2-메틸-3-(6-메틸-1H-인돌-3-일)아크릴레이트	C <sub>15</sub> H <sub>18</sub> NO <sub>2</sub>	6-메틸	메틸	OEt
화학식 1-14	(E)-에틸 3-(6-메톡시-1H-인돌-3-일)-2-메틸아크릴레이트	C <sub>15</sub> H <sub>18</sub> NO <sub>3</sub>	6-메톡시	메틸	OEt
화학식 1-15	(E)-에틸 3-(6-이소프로필-1H-인돌-3-일)-2-메틸아크릴레이트	C <sub>17</sub> H <sub>22</sub> NO <sub>2</sub>	6-이소프로필	메틸	OEt
화학식 1-16	(E)-에틸 3-(6-브로모-1H-인돌-3-일)-2-메틸아크릴레이트	C <sub>14</sub> H <sub>15</sub> NO <sub>2</sub> Br	6-Br	메틸	OEt

[0150] 상기 표 2의 화합물의 NMR 데이터 및 질량 스펙트럼 데이터는 다음과 같다.

[0151] <화학식 1-7의 화합물> : (E)-에틸 3-(1H-인돌-3-일)-2-메틸아크릴레이트 (수율 : 65%)

[0152] <sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 500 MHz) δ 8.50 (b, 1H), 8.05 (s, 1H), 7.83 (d, J = 7.8 Hz, 1H), 7.51 (d, J = 2.4 Hz, 1H), 7.42 (d, J = 8.0 Hz, 1H), 7.22-7.30 (m, 2H), 4.31 (q, J = 7.1 Hz, 2H), 1.38 (t, J = 7.1 Hz, 3H);

[0153] MS (EI) m/z 229 (M<sup>+</sup>), HRMS (ESI) m/z calcd for C<sub>14</sub>H<sub>16</sub>NO<sub>2</sub> [(M+H)<sup>+</sup>] 230.1181, found: 230.1178;

[0154] 순도 100 % (as determined by RP-HPLC, method A, t<sub>R</sub> = 16.5 min).

[0155] <화학식 1-8의 화합물> : (E)-에틸 3-(4-메톡시-1H-인돌-3-일)-2-메틸아크릴레이트 (수율 : 67%)

- [0156]  $^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz)  $\delta$  8.61 (s, 1H), 8.47 (brs, 1H), 7.39 (d,  $J = 2.8$  Hz, 1H), 7.16 (t,  $J = 8.0$  Hz, 1H), 7.01 (d,  $J = 8.4$  Hz, 1H), 6.60 (d,  $J = 8.0$  Hz, 1H), 4.28 (q,  $J = 6.8$  Hz, 2H), 3.97 (s, 3H), 2.15 (s, 3H), 1.37 (t,  $J = 7.2$  Hz, 3H);
- [0157] MS (ESI)  $m/z$  260 ( $M + H$ ) $^+$ , 258 ( $M - H$ ) $^-$ .
- [0158] <화학식 1-9의 화합물> : (E)-에틸 2-메틸-3-(5-메틸-1H-인돌-3-일)아크릴레이트 (수율 : 68 %)
- [0159]  $^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 500 MHz)  $\delta$  8.36 (b, 1H), 8.02 (s, 1H), 7.60 (s, 1H), 7.46 (d,  $J = 2.5$  Hz, 1H), 7.30 (d,  $J = 8.0$  Hz, 1H), 7.10 (d,  $J = 8.5$  Hz, 1H), 4.30 (q,  $J = 7.0$  Hz, 2H), 2.49 (s, 3H), 2.18 (t,  $J = 1.0$  Hz, 3H), 1.38 (t,  $J = 7.0$  Hz, 3H);
- [0160] MS (EI)  $m/z$  243 ( $M$ ) $^+$ .
- [0161] <화학식 1-10의 화합물> : (E)-에틸 3-(5-메톡시-1H-인돌-3-일)-2-메틸아크릴레이트 (수율 : 99 %)
- [0162]  $^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz)  $\delta$  8.38 (brs, 1H), 7.99 (s, 1H), 7.48 (d,  $J = 2.8$  Hz, 1H), 7.30 (d,  $J = 8.8$  Hz, 1H), 7.23 (d,  $J = 2.4$  Hz, 1H), 6.93 (dd,  $J = 2.4, 8.4$  Hz, 1H), 4.30 (q,  $J = 7.2$  Hz, 2H), 3.90 (s, 3H), 2.19 (s, 3H), 1.38 (t,  $J = 7.2$  Hz, 3H);
- [0163] MS (ESI)  $m/z$  260 ( $M + H$ ) $^+$ , 258 ( $M - H$ ) $^-$ .
- [0164] <화학식 1-11의 화합물> : (E)-에틸 3-(5-시아노-1H-인돌-3-일)-2-메틸아크릴레이트 (수율 : 99 %)
- [0165]  $^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CD}_3\text{OD}$ , 400 MHz)  $\delta$  8.15 (s, 1H), 7.98 (s, 1H), 7.81 (s, 1H), 7.58 (d,  $J = 8.0$  Hz, 1H), 7.49 (d,  $J = 8.4$  Hz, 1H), 4.28 (q,  $J = 6.0$  Hz, 2H), 2.18 (s, 3H), 1.37 (t,  $J = 8.0$  Hz, 3H);
- [0166] MS (ESI)  $m/z$  255 ( $M + H$ ) $^+$ , 253 ( $M - H$ ) $^-$ .
- [0167] <화학식 1-12의 화합물> : (E)-에틸 2-메틸-3-(5-니트로-1H-인돌-3-일)아크릴레이트 (수율 : 22 %)
- [0168]  $^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CD}_3\text{OD}$ , 400 MHz)  $\delta$  8.69 (d,  $J = 2.0$  Hz, 1H), 8.14 (dd,  $J = 2.0, 8.8$  Hz, 1H), 8.02 (s, 1H), 7.86 (s, 1H), 7.57 (d,  $J = 9.2$  Hz, 1H), 4.30 (q,  $J = 7.2$  Hz, 2H), 2.19 (s, 3H), 1.38 (t,  $J = 7.2$  Hz, 3H);
- [0169] MS (ESI)  $m/z$  275 ( $M + H$ ) $^+$ .
- [0170] <화학식 1-13의 화합물> : (E)-에틸 2-메틸-3-(6-메틸-1H-인돌-3-일)아크릴레이트 (수율 : 99 %)
- [0171]  $^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz)  $\delta$  8.36 (brs, 1H), 8.02 (s, 1H), 7.69 (d,  $J = 8.4$  Hz, 1H), 7.43 (d,  $J = 2.8$  Hz, 1H), 7.20 (s, 1H), 7.06 (d,  $J = 8.4$  Hz, 1H), 4.29 (q,  $J = 7.2$  Hz, 2H), 2.48 (s, 3H), 2.18 (s, 3H), 1.37 (t,  $J = 7.2$  Hz, 3H);
- [0172] MS (ESI)  $m/z$  244 ( $M + H$ ) $^+$ , 242 ( $M - H$ ) $^-$ .
- [0173] <화학식 1-14의 화합물> : (E)-에틸 3-(6-메톡시-1H-인돌-3-일)-2-메틸아크릴레이트 (수율 : 53 %)
- [0174]  $^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz)  $\delta$  8.34 (brs, 1H), 7.99 (s, 1H), 7.68 (d,  $J = 9.6$  Hz, 1H), 7.39 (d,  $J = 2.4$  Hz, 1H), 6.88-6.90 (m, 2H), 4.29 (q,  $J = 7.2$  Hz, 2H), 3.86 (s, 3H), 2.17 (s, 3H), 1.37 (t,  $J = 7.2$  Hz, 3H);
- [0175] MS (ESI)  $m/z$  260 ( $M + H$ ) $^+$ , 258 ( $M - H$ ) $^-$ .
- [0176] <화학식 1-15의 화합물> : (E)-에틸 3-(6-이소프로필-1H-인돌-3-일)-2-메틸아크릴레이트 (수율 : 71 %)
- [0177]  $^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 500 MHz)  $\delta$  8.35 (b, 1H), 8.02 (s, 1H), 7.73 (d,  $J = 8.0$  Hz, 1H), 7.44 (d,  $J = 2.5$  Hz,

1H), 7.13 (dd, J = 1.5 Hz, 8.5 Hz, 1H), 4.29 (q, J = 7.0 Hz, 2H), 3.01-3.05 (m, 1H), 2.18 (t, J = 1.0 Hz, 3H), 1.37 (t, J = 7.0 Hz, 3H), 1.32 (d, J = 7.0 Hz, 6H);

[0178] MS (EI) m/z 271 (M<sup>+</sup>).

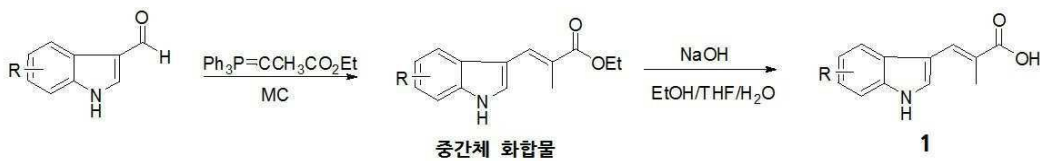
[0179] <화학식 1-16의 화합물> : (E)-에틸 3-(6-브로모-1H-인돌-3-일)-2-메틸아크릴레이트 (수율 : 82 %)

[0180] <sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 500 MHz) δ 8.49 (b, 1H), 7.95 (s, 1H), 7.67 (d, J = 8.5 Hz, 1H), 7.57 (d, J = 1.0 Hz, 1H), 7.47 (d, J = 2.5 Hz, 1H), 7.33 (dd, J = 1.5 Hz, 8.5 Hz, 1H), 4.30 (q, J = 7.0 Hz, 2H), 2.18 (s, 3H), 1.37 (t, J = 7.0 Hz, 3H);

[0181] MS (EI) m/z 308 (M<sup>+</sup>).

[0182] **실시에 17 내지 26. 화학식 1-17 내지 1-26의 인돌계 화합물의 제조**

[0183] : **화학식 1에서, R<sub>1</sub>이 메틸이고, R<sub>2</sub>가 OH인 경우)**



R : 4-methoxy, 5-methyl, 5-methoxy, 5-cyano, 5-nitro, 6-methyl, 6-methoxy, 6-isopropyl, 6-bromo, H

[0184]

[0185] 인돌 알데히드(1.0당량) 및 (1-카브에톡시에틸리덴)트리페닐포스포란(1.3당량)을 메틸렌 클로라이드에 용해시켰다. 반응 용액을 18시간 동안 환류시킨 뒤, 감압 조건하에서 과량의 용매를 증발시켰다. 실리카겔의 칼럼 크로마토그래피로 잔류물을 정제하여 중간체를 얻었다.

[0186] 상기 중간체(1.0 당량)를 에탄올에 용해시킨 뒤, 물 안의 수산화나트륨(10 당량)을 5°C에서 가하였다. 반응 혼합물을 2시간 동안 환류시킨 뒤, 감압 조건하에서 증발시켰다. 잔류물을 10%의 HCl로 중화시키고, 메틸렌 클로라이드로 추출하였다. 수상(water phase)을 5°C에서 10%의 HCl로 중화시키고, 물로부터 침전시켰다. 고체를 여과한 후, 진공에서 건조시켰다. 조 생성물을 칼럼 크로마토그래피로 정제하여 하기 표 3의 화합물을 얻었다.

**표 3**

[0187]

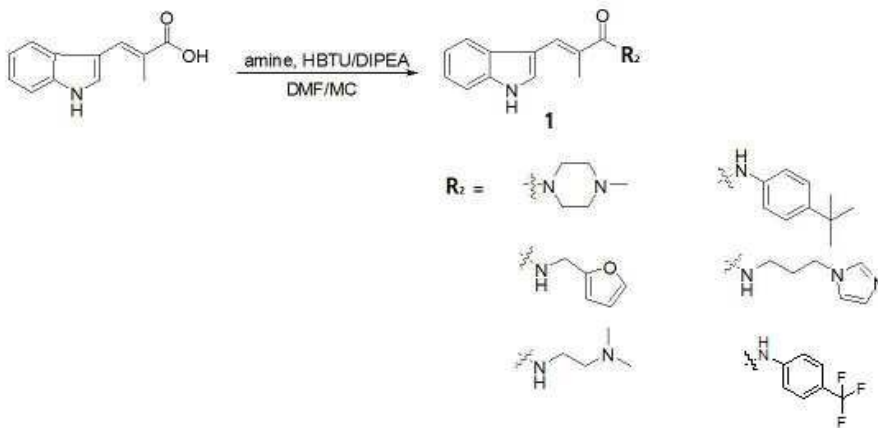
	IUPAC name	분자식	R	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>
화학식 1-17	(E)-3-(6-이소프로필-1H-인돌-3-일)-2-메틸아크릴산	C <sub>15</sub> H <sub>17</sub> NO <sub>2</sub>	H	메틸	OH
화학식 1-18	(E)-3-(6-브로모-1H-인돌-3-일)-2-메틸아크릴산	C <sub>12</sub> H <sub>10</sub> BrNO <sub>2</sub>	6-이소프로필	메틸	OH
화학식 1-19	(E)-2-메틸-3-(5-메틸-1H-인돌-3-일)아크릴산	C <sub>13</sub> H <sub>13</sub> NO <sub>2</sub>	5-메틸	메틸	OH
화학식 1-20	(E)-3-(1H-인돌-3-일)-2-메틸아크릴산	C <sub>12</sub> H <sub>11</sub> NO <sub>2</sub>	6-Br	메틸	OH
화학식 1-21	(E)-3-(4-메톡시-1H-인돌-3-일)-2-메틸아크릴산	C <sub>13</sub> H <sub>13</sub> NO <sub>3</sub>	4-메톡시	메틸	OH
화학식 1-22	(E)-3-(5-메톡시-1H-인돌-3-일)-2-메틸아크릴산	C <sub>13</sub> H <sub>13</sub> NO <sub>3</sub>	5-메톡시	메틸	OH
화학식 1-23	(E)-3-(5-시아노-1H-인돌-3-일)-2-메틸아크릴산	C <sub>13</sub> H <sub>10</sub> N <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	5-시아노	메틸	OH
화학식 1-24	(E)-2-메틸-3-(5-니트로-1H-인돌-3-일)아크릴산	C <sub>13</sub> H <sub>13</sub> NO <sub>2</sub>	5-니트로	메틸	OH
화학식 1-25	(E)-2-메틸-3-(6-메틸-1H-인돌-3-일)아크릴산	C <sub>13</sub> H <sub>14</sub> NO <sub>2</sub>	6-메틸	메틸	OH
화학식 1-26	(E)-3-(6-메톡시-1H-인돌-3-일)-2-메틸아크릴산	C <sub>13</sub> H <sub>14</sub> NO <sub>3</sub>	6-메톡시	메틸	OH

- [0188] 상기 표 3의 화합물의 NMR 데이터 및 질량 스펙트럼 데이터는 다음과 같다.
- [0189] <화학식 1-17의 화합물> : (E)-3-(6-이소프로필-1H-인돌-3-일)-2-메틸아크릴산(수율 : 93%)
- [0190]  $^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CD}_3\text{OD}$ , 500 MHz)  $\delta$  8.06 (s, 1H), 7.62 (d,  $J = 8.2$  Hz, 1H), 7.57 (s, 1H), 7.26 (s, 1H), 7.06 (dd,  $J = 1.3$  Hz, 8.3 Hz, 1H), 2.97-3.02 (m, 1H), 2.14 (d,  $J = 0.9$  Hz, 3H), 1.30 (d,  $J = 6.9$  Hz, 6H);
- [0191] MS (EI)  $m/z$  243 ( $\text{M}^+$ );
- [0192] HRMS (EI)  $m/z$  calcd for  $\text{C}_{15}\text{H}_{17}\text{NO}_2$  243.1259, found: 243.1256);
- [0193] 순도 100 % (as determined by RP-HPLC, method A,  $t_R = 12.7$  min).
- [0194] <화학식 1-18의 화합물> : (E)-3-(6-브로모-1H-인돌-3-일)-2-메틸아크릴산(수율 : 34%)
- [0195]  $^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CD}_3\text{OD}$ , 500 MHz)  $\delta$  8.00 (s, 1H), 7.63 (s, 1H), 7.62 (d,  $J = 8.5$  Hz, 1H), 7.58 (d,  $J = 1.6$  Hz, 1H), 7.24 (dd,  $J = 1.7$  Hz, 8.5 Hz, 1H), 2.14 (d,  $J = 1.0$  Hz, 3H);
- [0196] MS (EI)  $m/z$  279 ( $\text{M}^+$ );
- [0197] HRMS (EI)  $m/z$  calcd for  $\text{C}_{12}\text{H}_{10}\text{BrNO}_2$  278.9895, found: 278.9894);
- [0198] 순도 100 % (as determined by RP-HPLC, method A,  $t_R = 11.2$  min).
- [0199] <화학식 1-19의 화합물> : (E)-2-메틸-3-(5-메틸-1H-인돌-3-일)아크릴산(수율 : 72%)
- [0200]  $^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CD}_3\text{OD}$ , 500 MHz)  $\delta$  8.06 (s, 1H), 7.58 (s, 1H), 7.49 (s, 1H), 7.29 (d,  $J = 8.3$  Hz, 1H), 7.03 (d,  $J = 8.3$  Hz, 1H), 2.44 (s, 3H), 2.14 (d,  $J = 0.7$  Hz, 3H);
- [0201] MS (EI)  $m/z$  215 ( $\text{M}^+$ );
- [0202] HRMS (EI)  $m/z$  calcd for  $\text{C}_{13}\text{H}_{13}\text{NO}_2$  215.0946, found: 215.0948);
- [0203] 순도 100 % (as determined by RP-HPLC, method A,  $t_R = 9.6$  min).
- [0204] <화학식 1-20의 화합물> : (E)-3-(1H-인돌-3-일)-2-메틸아크릴산(수율 : 61%)
- [0205]  $^1\text{H-NMR}$  (acetone- $d_6$ , 500 MHz)  $\delta$  10.84 (b, 1H), 8.10 (s, 1H), 7.79 (d,  $J = 8.0$  Hz, 1H), 7.50 (d,  $J = 8.0$  Hz, 1H), 7.16-7.24 (m, 3H), 2.17 (d,  $J = 1.0$  Hz, 3H);
- [0206] MS (EI)  $m/z$  201 ( $\text{M}^+$ );
- [0207] HRMS (EI)  $m/z$  calcd for  $\text{C}_{12}\text{H}_{11}\text{NO}_2$  201.0790, found: 201.0791);
- [0208] 순도 100 % (as determined by RP-HPLC, method A,  $t_R = 7.9$  min).
- [0209] <화학식 1-21의 화합물> : (E)-3-(4-메톡시-1H-인돌-3-일)-2-메틸아크릴산(수율 : 93%)
- [0210]  $^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz)  $\delta$  8.70 (s, 1H), 8.45 (brs, 1H), 7.45 (d,  $J = 2.4$  Hz, 1H), 7.18 (t,  $J = 8.0$  Hz, 1H), 7.01 (t,  $J = 8.0$  Hz, 1H), 6.63 (d,  $J = 8.4$  Hz, 1H), 3.99 (s, 3H), 2.16 (s, 3H);
- [0211] MS (ESI)  $m/z$  232 ( $\text{M} + \text{H}^+$ ), 230 ( $\text{M} - \text{H}^-$ ).
- [0212] <화학식 1-22의 화합물> : (E)-3-(5-메톡시-1H-인돌-3-일)-2-메틸아크릴산(수율 : 78%)
- [0213]  $^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz)  $\delta$  8.43 (brs, 1H), 8.12 (s, 1H), 7.54 (d,  $J = 2.8$  Hz, 1H), 7.31 (d,  $J = 8.8$  Hz, 1H), 7.24 (d,  $J = 2.4$  Hz, 1H), 6.94 (dd,  $J = 2.4, 8.8$  Hz, 1H), 3.90 (s, 3H), 2.21 (s, 3H); MS (ESI)  $m/z$  232 ( $\text{M} + \text{H}^+$ ).

- [0214] <화학식 1-23의 화합물> : (E)-3-(5-시아노-1H-인돌-3-일)-2-메틸아크릴산(수율 : 99%)
- [0215] <sup>1</sup>H-NMR (DMSO-d<sub>6</sub>, 400 MHz) δ 12.21 (brs, 1H), 8.27 (s, 1H), 7.9 (d, J = 16.0 Hz, 2H), 7.60 (d, J = 8.8 Hz, 1H), 7.52 (d, J = 8.4 Hz, 1H), 2.08 (s, 3H); MS (ESI) m/z 227 (M + H)<sup>+</sup>.
- [0216] <화학식 1-24의 화합물> : (E)-2-메틸-3-(5-니트로-1H-인돌-3-일)아크릴산(수율 : 96%)
- [0217] <sup>1</sup>H-NMR (DMSO-d<sub>6</sub>, 400 MHz) δ 12.82 (brs, 1H), 9.06 (s, 1H), 8.50 (d, J = 9.2 Hz, 1H), 8.42 (s, 1H), 8.33 (s, 1H), 8.06 (d, J = 9.2 Hz, 1H), 2.52 (s, 3H); MS (ESI) m/z 245 (M - H)<sup>-</sup>.
- [0218] <화학식 1-25의 화합물> : (E)-2-메틸-3-(6-메틸-1H-인돌-3-일)아크릴산(수율 : 91%)
- [0219] <sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz) δ 8.39 (brs, 1H), 8.17 (s, 1H), 7.72 (d, J = 8.0 Hz, 1H), 7.50 (d, J = 2.8 Hz, 1H), 7.22 (s, 1H), 7.09 (d, J = 7.6 Hz, 1H), 2.49 (s, 3H), 2.21 (s, 3H);
- [0220] HRMS (ESI) m/z calcd for C<sub>13</sub>H<sub>14</sub>NO<sub>2</sub> [(M+H)<sup>+</sup>] 216.1025, found: 216.1028.
- [0221] <화학식 1-26의 화합물> : (E)-3-(6-메톡시-1H-인돌-3-일)-2-메틸아크릴산(수율 : 94%)
- [0222] <sup>1</sup>H-NMR (DMSO-d<sub>6</sub>, 400 MHz) δ 12.00 (brs, 1H), 11.51 (brs, 1H), 7.83 (s, 1H), 7.57 (d, J = 2.8 Hz, 1H), 7.54 (d, J = 8.4 Hz, 1H), 6.91 (d, J = 2.0 Hz, 1H), 6.75 (dd, J = 2.4 Hz, 8.8 Hz, 1H), 3.76 (s, 3H), 2.04 (s, 3H);
- [0223] HRMS (ESI) m/z calcd for C<sub>13</sub>H<sub>14</sub>NO<sub>3</sub> [(M+H)<sup>+</sup>] 232.0974, found: 232.0976.

[0224] **실시예 27 내지 32. 화학식 1-27 내지 1-32의 인돌계 화합물의 제조**

[0225] : 화학식 1에서, R<sub>1</sub>이 H이고, R<sub>2</sub>이 메틸인 경우

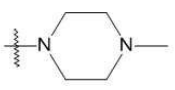
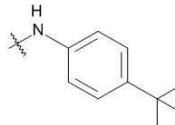
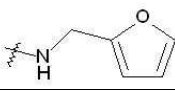
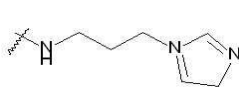
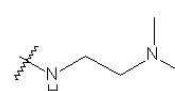



- [0226]
- [0227] 둥근 바닥 플라스크에 (E)-3-(1H-인돌-3-일)-2-메틸아크릴산(1.0 당량) 및 메틸렌 클로라이드 내의 DMF의 혼합물을 부피비 1:3으로 채웠다. 상기 용액에 DIPEA(1.5 당량)를 가하고, 이어서 HBTU(1.5당량)를 가하였다. 반응 혼합물을 실온(약 25℃)에서 30분간 교반시킨 후, 아민 화합물(1당량)을 가하고 실온에서 밤새 교반하였다. 감압 조건하에서 과량의 용매를 증발시키고, 실리카겔 칼럼 크로마토그래피로 잔류물을 정제하여 하기 표 4의 화합물을 얻었다.



표 4

[0228]

	IUPAC name	분자식	R	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>
화학식 1-27	(E)-3-(1H-인돌-3-일)-2-메틸-1-(4-메틸피페라진-1-일)프로프-2-엔-1-온	C <sub>17</sub> H <sub>21</sub> N <sub>3</sub> O	H	메틸	
화학식 1-28	(E)-N-(4-tert-부틸페닐)-3-(1H-인돌-3-일)-2-메틸아크릴아미드	C <sub>22</sub> H <sub>24</sub> N <sub>2</sub> O	H	메틸	
화학식 1-29	(E)-N-(퓨란-2-일메틸)-3-(1H-인돌-3-일)-2-메틸아크릴아미드	C <sub>17</sub> H <sub>16</sub> N <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	H	메틸	
화학식 1-30	(E)-N-(3-(1H-이미다졸-1-일)프로필)-3-(1H-인돌-3-일)-2-메틸아크릴아미드	C <sub>18</sub> H <sub>20</sub> N <sub>4</sub> O	H	메틸	
화학식 1-31	(E)-N-(2-(디메틸아미노)에틸)-3-(1H-인돌-3-일)-2-메틸아크릴아미드	C <sub>16</sub> H <sub>21</sub> N <sub>3</sub> O	H	메틸	
화학식 1-32	(E)-3-(1H-인돌-3-일)-2-메틸-N-(4-(트리플루오로메틸)페닐)아크릴아미드	C <sub>22</sub> H <sub>24</sub> N <sub>2</sub> O	H	메틸	

[0229]

상기 표 4의 화합물의 NMR 데이터 및 질량 스펙트럼 데이터는 다음과 같다.

[0230]

<화학식 1-27의 화합물> : (E)-3-(1H-인돌-3-일)-2-메틸-1-(4-메틸피페라진-1-일)프로프-2-엔-1-온(수율 : 98%)

[0231]

<sup>1</sup>H-NMR (CD<sub>3</sub>OD, 400 MHz) δ 7.64 (d, *J* = 8.0 Hz, 1H), 7.50 (s, 1H), 7.39 (d, *J* = 8.0 Hz, 1H), 7.16 (t, *J* = 7.2 Hz, 1H), 7.09 (t, *J* = 7.6 Hz, 1H), 6.94 (s, 1H), 3.73 (b, 4H), 2.58 (b, 4H), 2.40 (s, 3H), 2.14 (s, 3H);

[0232]

MS (EI) *m/z* 283 (M<sup>+</sup>); HRMS (EI) *m/z* calcd for C<sub>17</sub>H<sub>21</sub>N<sub>3</sub>O 283.1685, found: 283.1683);

[0233]

순도 100 % (as determined by RP-HPLC, method A, t<sub>R</sub> = 2.8 min).

[0234]

<화학식 1-28의 화합물> : (E)-N-(4-tert-부틸페닐)-3-(1H-인돌-3-일)-2-메틸아크릴아미드(수율 : 77%)

[0235]

<sup>1</sup>H-NMR (CD<sub>3</sub>OD, 400 MHz) δ 7.80 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H), 7.76 (s, 1H), 7.60 (s, 1H), 7.54 (d, *J* = 7.2 Hz, 2H), 7.37-7.43 (m, 3H), 7.13-7.19 (m, 3H), 2.26 (s, 3H), 1.33 (s, 9H);

[0236]

MS (EI) *m/z* 332 (M<sup>+</sup>); HRMS (EI) *m/z* calcd for C<sub>22</sub>H<sub>24</sub>N<sub>2</sub>O 332.1889, found: 332.1888);

[0237]

순도 100 % (as determined by RP-HPLC, method A, t<sub>R</sub> = 21.2 min).

[0238]

<화학식 1-29의 화합물> : (E)-N-(퓨란-2-일메틸)-3-(1H-인돌-3-일)-2-메틸아크릴아미드(수율 : 99%)

[0239]

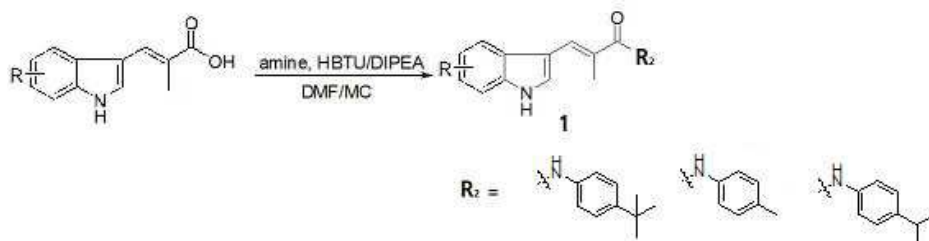
<sup>1</sup>H-NMR (CD<sub>3</sub>OD, 400 MHz) δ 7.74 (d, *J* = 8.0 Hz, 1H), 7.69 (s, 1H), 7.54 (s, 1H), 7.43 (d, *J* = 0.8 Hz, 1H), 7.40 (d, *J* = 7.6 Hz, 1H), 7.17 (t, *J* = 7.6 Hz, 1H), 7.11 (t, *J* = 7.6 Hz, 1H), 6.35 (s, 1H), 6.27 (d, *J* = 3.2 Hz, 1H), 4.50 (s, 2H), 2.81 (s, 3H);



- [0240] MS (EI)  $m/z$  280 ( $M^+$ ); HRMS (EI)  $m/z$  calcd for  $C_{17}H_{16}N_2O_2$  280.1212, found: 280.1211);
- [0241] 순도 100 % (as determined by RP-HPLC, method A,  $t_R$  = 21.2 min).
- [0242] <화학식 1-30의 화합물> : (E)-N-(3-(1H-이미다졸-1-일)프로필)-3-(1H-인돌-3-일)-2-메틸아크릴아미드(수율 : 88%)
- [0243]  $^1H$ -NMR ( $CD_3OD$ , 400 MHz)  $\delta$  7.75 (d,  $J$  = 8.0 Hz, 1H), 7.71 (s, 1H), 7.67 (s, 1H), 7.54 (s, 1H), 7.40 (d,  $J$  = 7.6 Hz, 1H), 7.16-7.19 (m, 2H), 7.11 (t,  $J$  = 7.6 Hz, 1H), 6.97 (s, 1H), 4.11 (t,  $J$  = 7.2 Hz, 2H), 3.35 (t,  $J$  = 7.2 Hz, 2H), 2.16 (s, 3H), 2.06-2.13 (m, 2H);
- [0244] MS (EI)  $m/z$  308 ( $M^+$ );
- [0245] HRMS (EI)  $m/z$  calcd for  $C_{18}H_{20}N_4O$  308.1637, found: 308.1636;
- [0246] 순도 100 % (as determined by RP-HPLC, method A,  $t_R$  = 3.5 min).
- [0247] <화학식 1-31의 화합물> : (E)-N-(2-(디메틸아미노)에틸)-3-(1H-인돌-3-일)-2-메틸아크릴아미드(수율 : 81%)
- [0248]  $^1H$ -NMR ( $CD_3OD$ , 400 MHz)  $\delta$  7.75 (t,  $J$  = 4.0 Hz, 1H), 7.65-7.69 (m, 1H), 7.56 (s, 1H), 7.41 (d,  $J$  = 8.0 Hz, 1H), 7.23-7.28 (m, 1H), 7.18 (t,  $J$  = 7.6 Hz, 1H), 7.12 (t,  $J$  = 7.6 Hz, 1H), 3.59 (t,  $J$  = 6.4 Hz, 2H), 3.34 (s, 3H), 2.97-2.99 (m, 2H), 2.68 (s, 6H);
- [0249] MS (EI)  $m/z$  271 ( $M^+$ );
- [0250] HRMS (EI)  $m/z$  calcd for  $C_{16}H_{21}N_3O$  271.1685, found: 271.1684;
- [0251] 순도 100 % (as determined by RP-HPLC, method A,  $t_R$  = 3.1 min).
- [0252] <화학식 1-32의 화합물> : (E)-3-(1H-인돌-3-일)-2-메틸-N-(4-(트리플루오로메틸)페닐)아크릴아미드 (수율 : 77%)
- [0253]  $^1H$ -NMR ( $CDCl_3$ , 400 MHz)  $\delta$  8.76 (brs, 1H), 8.53 (s, 1H), 8.10 (d,  $J$  = 9.2 Hz, 1H), 7.89 (d,  $J$  = 7.6 Hz, 1H), 7.72 (d,  $J$  = 3.2 Hz, 1H), 7.42-7.57 (m, 4H), 7.28-7.36 (m, 2H), 2.39 (s, 3H);
- [0254] HRMS (ESI)  $m/z$  calcd for  $C_{22}H_{24}N_2O$  332.1889, found: 332.1888;
- [0255] 순도 100 % (as determined by RP-HPLC, method A,  $t_R$  = 21.2 min).

[0256] **실시예 33 내지 43. 화학식 1-33 내지 1-43의 인돌계 화합물의 제조**

[0257] : 화학식 1에서,  $R_1$ 이 메틸이고,  $R_2$ 가 4-알킬 치환된 아닐린인 경우



R : 4-methoxy, 5-methyl, 5-methoxy, 5-cyano, 5-nitro, 6-methyl,  
6-methoxy, 6-Isopropyl, 6-bromo

- [0258]
- [0259] 둥근 바닥 플라스크에 치환된 (E)-3-(1H-인돌-3-일)-2-메틸아크릴산(1.0 당량)과 메틸렌 클로라이드 내의 DMF의 혼합물을 부피비 1:3으로 채웠다. 상기 용액에 DIPEA(1.5 당량)를 가하고, 이어서 HBTU(1.5당량)를 가하였다.

실온(약 25℃)에서 30분간 교반시킨 후, 아민 화합물(1.2 당량)을 가하고 실온에서 밤새 교반하였다. 감압 조건 하에서 과량의 용매를 증발시키고, 실리카겔 칼럼 크로마토그래피로 잔류물을 정제하여 하기 표 5의 화합물을 얻었다.

표 5

	IUPAC name	분자식	R	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>
화학식 1-33	(E)-3-(5-시아노-1H-인돌-3-일)-2-메틸-N-p-톨릴아크릴아미드	C <sub>20</sub> H <sub>18</sub> N <sub>3</sub> O	5-시아노	메틸	
화학식 1-34	(E)-N-(4-tert-부틸페닐)-3-(4-메톡시-1H-인돌-3-일)-2-메틸아크릴아미드	C <sub>23</sub> H <sub>27</sub> N <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	4-메톡시	메틸	
화학식 1-35	(E)-N-(4-tert-부틸페닐)-2-메틸-3-(5-메틸-1H-인돌-3-일)아크릴아미드	C <sub>23</sub> H <sub>27</sub> N <sub>2</sub> O	5-메틸	메틸	
화학식 1-36	(E)-N-(4-tert-부틸페닐)-3-(5-메톡시-1H-인돌-3-일)-2-메틸아크릴아미드	C <sub>23</sub> H <sub>27</sub> N <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	5-메톡시	메틸	
화학식 1-37	(E)-N-(4-tert-부틸페닐)-3-(5-시아노-1H-인돌-3-일)-2-메틸아크릴아미드	C <sub>23</sub> H <sub>24</sub> N <sub>3</sub> O	5-시아노	메틸	
화학식 1-38	(E)-N-(4-tert-부틸페닐)-2-메틸-3-(5-니트로-1H-인돌-3-일)아크릴아미드	C <sub>22</sub> H <sub>24</sub> N <sub>3</sub> O <sub>3</sub>	5-니트로	메틸	
화학식 1-39	(E)-N-(4-tert-부틸페닐)-2-메틸-3-(6-메틸-1H-인돌-3-일)아크릴아미드	C <sub>23</sub> H <sub>27</sub> N <sub>2</sub> O	6-메틸	메틸	
화학식 1-40	(E)-N-(4-tert-부틸페닐)-3-(6-메톡시-1H-인돌-3-일)-2-메틸아크릴아미드	C <sub>23</sub> H <sub>27</sub> N <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	6-메톡시	메틸	
화학식 1-41	(E)-N-(4-tert-부틸페닐)-3-(6-이소프로필-1H-인돌-3-일)-2-메틸아크릴아미드	C <sub>25</sub> H <sub>31</sub> N <sub>2</sub> O	6-이소프로필	메틸	
화학식 1-42	(E)-3-(6-브로모-1H-인돌-3-일)-N-(4-tert-부틸페닐)-2-메틸아크릴아미드	C <sub>22</sub> H <sub>24</sub> N <sub>2</sub> OBr	6-Br	메틸	
화학식 1-43	(E)-3-(5-시아노-1H-인돌-3-일)-N-(4-이소프로필페닐)-2-메틸아크릴아미드	C <sub>22</sub> H <sub>22</sub> N <sub>3</sub> O	5-시아노	메틸	

[0261] 상기 표 5의 화합물의 NMR 데이터 및 질량 스펙트럼 데이터는 다음과 같다.

[0262] <화학식 1-33의 화합물> : (E)-3-(5-시아노-1H-인돌-3-일)-2-메틸-N-p-톨릴아크릴아미드(수율 : 35%)

[0263] <sup>1</sup>H-NMR (DMSO-d<sub>6</sub>, 400 MHz) δ 12.25 (s, 1H), 9.91 (s, 1H), 8.54 (s, 1H), 7.99 (d, J = 2.8 Hz, 1H), 7.68-7.74 (m, 4H), 7.63 (d, J = 8.4 Hz, 2H), 7.23 (d, J = 8.4 Hz, 2H), 2.37 (s, 3H), 2.24 (s, 3H);

[0264] HRMS (ESI) m/z calcd for C<sub>20</sub>H<sub>18</sub>N<sub>3</sub>O [(M+H)<sup>+</sup>] 316.1450, found: 316.1443;

- [0265] 순도 100 % (as determined by RP-HPLC, method A, tR = 15.9 min).
- [0266] <화학식 1-34의 화합물> : (E)-N-(4-tert-부틸페닐)-3-(4-메톡시-1H-인돌-3-일)-2-메틸아크릴아미드(수율 : 25%)
- [0267] <sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz) δ 8.39 (brs, 1H), 8.15 (s, 1H), 7.66 (s, 1H), 7.55 (d, J = 9.2 Hz, 2H), 7.36-7.40 (m, 3H), 7.18 (t, J = 8.0 Hz, 1H), 7.03 (d, J = 8.0 Hz, 1H), 6.61 (d, J = 7.6 Hz, 2H), 3.97 (s, 3H), 2.24 (s, 3H), 1.33 (s, 9H);
- [0268] HRMS (ESI) m/z calcd for C<sub>23</sub>H<sub>27</sub>N<sub>2</sub>O<sub>2</sub> [(M+H)<sup>+</sup>] 363.2073, found: 363.2069;
- [0269] 순도 100 % (as determined by RP-HPLC, method A, tR = 20.8 min).
- [0270] <화학식 1-35의 화합물> : (E)-N-(4-tert-부틸페닐)-2-메틸-3-(5-메틸-1H-인돌-3-일)아크릴아미드(수율 : 25%)
- [0271] <sup>1</sup>H-NMR (CD<sub>3</sub>OD, 400 MHz) δ 7.75 (s, 1H), 7.60 (s, 1H), 7.55 (d, J = 8.0 Hz, 3H), 7.38 (d, J = 8.4 Hz, 2H), 7.30 (d, J = 8.0 Hz, 1H), 7.03 (d, J = 8.0 Hz, 1H), 2.81 (s, 3H), 2.45 (s, 3H), 1.33 (s, 9H);
- [0272] HRMS (ESI) m/z calcd for C<sub>23</sub>H<sub>27</sub>N<sub>2</sub>O [(M+H)<sup>+</sup>] 347.2123, found: 347.2119;
- [0273] 순도 83 % (as determined by RP-HPLC, method A, tR = 22.3 min).
- [0274] <화학식 1-36의 화합물> : (E)-N-(4-tert-부틸페닐)-3-(5-메톡시-1H-인돌-3-일)-2-메틸아크릴아미드(수율 : 61%)
- [0275] <sup>1</sup>H-NMR (CD<sub>3</sub>OD, 400 MHz) δ 7.74 (s, 1H), 7.53-7.57 (m, 3H), 7.39 (d, J = 8.4 Hz, 2H), 7.31 (d, J = 8.4 Hz, 2H), 6.84 (dd, J = 2.4, 8.4 Hz, 1H), 3.86 (s, 3H), 2.25 (s, 3H), 1.33 (s, 9H);
- [0276] HRMS (ESI) m/z calcd for C<sub>23</sub>H<sub>27</sub>N<sub>2</sub>O<sub>2</sub> [(M+H)<sup>+</sup>] 363.2073, found: 363.2068;
- [0277] 순도 100 % (as determined by RP-HPLC, method A, tR = 20.4 min).
- [0278] <화학식 1-37의 화합물> : (E)-N-(4-tert-부틸페닐)-3-(5-시아노-1H-인돌-3-일)-2-메틸아크릴아미드(수율 : 25%)
- [0279] <sup>1</sup>H-NMR (CD<sub>3</sub>OD, 400 MHz) δ 8.18 (s, 1H), 7.68 (s, 1H), 7.60(s, 1H), 7.45-7.49 (m, 3H), 7.39 (dd, J = 1.6, 8.4 Hz, 1H), 7.29 (d, J = 8.4 Hz, 2H), 2.16 (s, 3H), 1.24 (s, 9H);
- [0280] HRMS (ESI) m/z calcd for C<sub>23</sub>H<sub>24</sub>N<sub>3</sub>O [(M+H)<sup>+</sup>] 358.1919, found: 358.1922;
- [0281] 순도 100 % (as determined by RP-HPLC, method A, tR = 20.1 min).
- [0282] <화학식 1-38의 화합물> : (E)-N-(4-tert-부틸페닐)-2-메틸-3-(5-니트로-1H-인돌-3-일)아크릴아미드(수율 : 25%)
- [0283] <sup>1</sup>H-NMR (DMSO-d<sub>6</sub>, 400 MHz) δ 12.30 (s, 1H), 9.90 (s, 1H), 8.88 (s, 1H), 8.08 (dd, J = 8.8 Hz, 1H), 7.96 (s, 1H), 7.70 (s, 1H), 7.60-7.64 (m, 3H), 7.34 (d, J = 8.4 Hz, 2H), 2.16 (s, 3H), 1.27 (s, 9H);
- [0284] HRMS (ESI) m/z calcd for C<sub>22</sub>H<sub>24</sub>N<sub>3</sub>O<sub>3</sub> [(M+H)<sup>+</sup>] 378.1818, found: 378.1816;
- [0285] 순도 100 % (as determined by RP-HPLC, method A, tR = 21.4 min).
- [0286] <화학식 1-39의 화합물> : (E)-N-(4-tert-부틸페닐)-2-메틸-3-(6-메틸-1H-인돌-3-일)아크릴아미드(수율 : 82%)
- [0287] <sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz) δ 8.33 (brs, 1H), 7.68 (s, 1H), 7.66 (d, J = 8.0 Hz, 1H), 7.58 (s, 1H), 7.54 (d, J = 8.8 Hz, 2H), 7.39 (s, 2H), 7.37 (s, 1H), 7.22 (s, 1H), 7.06 (d, J = 8.4 Hz, 1H), 2.49 (s, 3H),

2.27 (s, 3H), 1.33 (s, 9H);

[0288] HRMS (ESI) m/z calcd for C<sub>23</sub>H<sub>27</sub>N<sub>2</sub>O [(M+H)<sup>+</sup>] 347.2123, found: 347.2120;

[0289] 순도 92 % (as determined by RP-HPLC, method A, tR = 22.4 min).

[0290] <화학식 1-40의 화합물> : (E)-N-(4-tert-부틸페닐)-3-(6-메톡시-1H-인돌-3-일)-2-메틸아크릴아미드(수율 : 10%)

[0291] <sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz) δ 8.31 (brs, 1H), 7.64 (d, J = 9.2Hz, 1H), 7.53-7.56 (m, 3H), 7.38 (d, J = 8.4 Hz, 2H), 7.35 (d, J = 2.4 Hz, 1H), 6.88-6.90 (m, 2H), 3.87 (s, 3H), 2.27 (s, 3H), 1.33 (s, 9H);

[0292] HRMS (ESI) m/z calcd for C<sub>23</sub>H<sub>27</sub>N<sub>2</sub>O<sub>2</sub> [(M+H)<sup>+</sup>] 363.2073, found: 363.2062;

[0293] 순도 100 % (as determined by RP-HPLC, method A, tR = 20.7 min).

[0294] <화학식 1-41의 화합물> : (E)-N-(4-tert-부틸페닐)-3-(6-이소프로필-1H-인돌-3-일)-2-메틸아크릴아미드(수율 : 53%)

[0295] <sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz) δ 8.40 (brs, 1H), 7.68 (d, J = 6.8 Hz, 2H), 7.58 (s, 1H), 7.54 (d, J = 8.8 Hz, 2H), 7.40 (d, J = 2.4 Hz, 1H), 7.38 (d, J = 8.4 Hz, 2H), 7.13 (d, J = 8.4 Hz, 1H), 2.27 (s, 3H), 1.33 (s, 9H), 1.31 (s, 6H);

[0296] HRMS (ESI) m/z calcd for C<sub>25</sub>H<sub>31</sub>N<sub>2</sub>O [(M+H)<sup>+</sup>] 375.2436, found: 375.2433;

[0297] 순도 80 % (as determined by RP-HPLC, method A, tR = 24.8 min).

[0298] <화학식 1-42의 화합물> : (E)-3-(6-브로모-1H-인돌-3-일)-N-(4-tert-부틸페닐)-2-메틸아크릴아미드(수율 : 62%)

[0299] <sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz) δ 8.54 (brs, 1H), 7.62 (d, J = 8.4 Hz, 2H), 7.58 (d, J = 3.2 Hz, 1H), 7.53 (d, J = 8.4 Hz, 2H), 7.42 (d, J = 3.2 Hz, 1H), 7.38 (d, J = 8.4 Hz, 2H), 7.32 (dd, J = 1.6, 8.8 Hz, 1H), 2.26 (s, 3H), 1.33 (s, 9H);

[0300] HRMS (ESI) m/z calcd for C<sub>22</sub>H<sub>24</sub>N<sub>2</sub>OBr 411.1072, found: 411.1065;

[0301] 순도 63 % (as determined by RP-HPLC, method A, tR = 23.5 min).

[0302] <화학식 1-43의 화합물> : (E)-3-(5-시아노-1H-인돌-3-일)-N-(4-이소프로필페닐)-2-메틸아크릴아미드(수율 : 21%)

[0303] <sup>1</sup>H-NMR (CD<sub>3</sub>OD, 400 MHz) δ 8.28 (s, 1H), 7.78 (s, 1H), 7.69 (s, 1H), 7.54-7.59 (m, 3H), 7.49 (dd, J = 1.6, 8.4 Hz, 1H), 7.23 (d, J = 8.4 Hz, 2H), 2.25 (s, 3H), 1.26 (d, J = 7.2 Hz, 6H);

[0304] HRMS (ESI) m/z calcd for C<sub>22</sub>H<sub>22</sub>N<sub>3</sub>O [(M+H)<sup>+</sup>] 344.1763, found: 344.1756;

[0305] 순도 100 % (as determined by RP-HPLC, method A, tR = 18.9 min).

[0306] **실험예 1. 본 발명의 인돌계 화합물의 간세포 독성의 분석**

[0307] 본 발명의 인돌계 화합물의 간세포 독성 여부를 확인하기 위하여, EZ-Cytox cell viability assay(Daeil Lab Service)를 이용하여 하기와 같은 실험을 수행하였다. 상기 인돌계 화합물은 동국대학교 약학대학이 소유하고 있는 소분자라이브러리의 화합물을 이용하였다.

[0308] 1-1. 화학식 1의 인돌계 화합물의 간세포 독성

[0309] 96웰-플레이트에 웰당  $1.7 \times 10^4$  내지  $2.0 \times 10^4$  개의 Huh7.5 인간 간암 세포를 첨가하고 37°C 배양기에서 24시간 동안 배양하였다. 대조군으로는 DMSO(dimethyl sulfoxide)를, 실험군으로 10 μM 농도의 화학식 1-1 내지 1-6, 1-17 내지 1-20 및 1-27 내지 1-31의 인돌계 화합물을 상기 세포에 처리하고 72시간 동안 배양하였다. 상기 배양액을 버리고, PBS로 세척한 후, 수용성 테트라졸리움 염(tetrazolium salt)이 포함된 EZ-Cytox 시약에 세포배양액을 첨가하여 제조한 1/10(v/v) 희석액을 100 μl 첨가하고 3시간 동안 반응시켰다. 반응이 종료된 후 분광광도계를 이용하여 450nm의 파장으로 상기 세포의 흡광도를 측정하였다. DMSO 처리시의 흡광도를 100으로 기준하여, 화학식 1-1 내지 1-6, 1-17 내지 1-20 및 1-27 내지 1-31의 인돌계 화합물 처리시의 상대적인 흡광도를 나타내었다.

[0310] 결과는 표 6에 나타내었다.

**표 6**

[0311] 화학식 1의 인돌계 화합물의 세포생존율

화합물	세포 생존율(%)
DMSO (대조군)	100
화학식 1-1의 화합물	60.0
화학식 1-2의 화합물	92.2
화학식 1-3의 화합물	81.7
화학식 1-4의 화합물	106.5
화학식 1-5의 화합물	93.8
화학식 1-6의 화합물	66.8
화학식 1-17의 화합물	90.0
화학식 1-18의 화합물	95.0
화학식 1-19의 화합물	74.0
화학식 1-20의 화합물	41.0
화학식 1-27의 화합물	116.7
화학식 1-28의 화합물	71.5
화학식 1-29의 화합물	81.8
화학식 1-30의 화합물	107.2
화학식 1-31의 화합물	112.3

[0312] 표 6에 나타낸 바와 같이, 화학식 1의 인돌계 화합물은 10 μM의 농도에서 매우 우수한 세포생존율을 나타내어 간세포에 대한 독성이 거의 없어 안전성이 높음을 알 수 있다.

[0313] **실험예 2. 본 발명의 인돌계 화합물의 C형 간염 바이러스 게놈 복제 저해 활성 측정**

[0314] 본 발명의 인돌계 화합물의 C형 간염 바이러스 게놈 복제 저해 활성을 측정하기 위해, 하기와 같은 실험을 수행하였다.

[0315] **2-1. C형 간염 바이러스의 게놈복제를 측정하기 위한 리포터 바이러스의 준비**

[0316] C형 간염 바이러스의 게놈복제를 측정하기 위해 유전형(genotype) 2a에 속하는 FL-J6/JFH-5C19R1uc2Aubi HCV replicon을 리포터바이러스로 사용하였다. 상기 리포터 바이러스의 게놈 구조도는 도 1에 나타내었다.

[0317] 도 1에 나타낸 바와 같이, 상기 리포터바이러스는 유전형(genotype) 2에 속하는 C형 간염 바이러스의 전체 게놈이 cDNA 상태로 포함되어있고, 바이러스의 내부리보솜진입위치(IRES, internal ribosome entry site)와 바이러스의 코어(core)단백질 사이에 레닐라 루시페라제와 스스로 잘려나가는(self cleaving) 구족병 바이러스(foot and mouth disease virus) 2A 단백질의 Ubi 시퀀스(sequence)가 부착되어있어, 상기 FL-J6/JFH-5C19R1uc2Aubi 플라스미드를 T7 RNA 중합효소(polymerase)를 사용하여 시험관상(in-vitro)에서 전사(transcription)하여 얻은 HCV RNA를 간암세포주인 Huh7.5 세포에 주입(transfection)하면, 주입된 바이러스의 RNA가 내부 리보솜 진입위

치(IRES)를 사용한 번역을 통해서 다중단백질(polyprotein)을 생산한다. 이때 생산된 다중단백질 중 레닐라 루시페라제는 스스로 잘려나가는 구족병 바이러스 2A 단백질의 Ubi 시퀀스의 도움을 받아 바이러스 비구조 단백질들과 분리되고, 분리된 레닐라 루시페라제의 활성을 측정함으로써 간접적으로 간세포내의 바이러스 RNA 게놈복제를 측정할 수 있게 된다.

[0318] 2-2. 화학식 1의 인돌계 화합물의 C형 간염바이러스 게놈 복제 저해 활성의 측정

[0319] Huh7.5 인간 간암 세포를 트립신화하여 PBS 용액으로  $1.5 \times 10^7$  개/ml의 세포 밀도를 갖도록 재현탁시켰다. 총 5  $\mu\text{g}$ 의 시험관 내(in vitro) 전사된 FL-J6/JFH-5'C19R1uc2Aubi RNA를 Huh7.5 간암세포가 포함된 400  $\mu\text{l}$  PBS 완충액과 혼합한 후 2-mm-gap cuvette(BTX)에 넣었다. BTX-830 전기천공기로 0.82kV로 99ms 동안 5회 펄스를 가하여 상기 FL-J6/JFH-5'C19R1uc2Aubi RNA를 Huh7.5 인간 간암 세포 내로 트랜스펙션하였다. 상기 전기천공을 실시한지 6시간 경과 후, 대조군으로는 DMSO를, 실험군으로는 10  $\mu\text{M}$  농도의 화학식 1-1 내지 1-6, 1-17 내지 1-20, 1-27 내지 1-31의 인돌계 화합물을 상기 세포에 처리하고 72시간 동안 배양하였다. 그 다음, 레닐라 루시페라아제 분석법을 시행하였다.

[0320] 먼저 상기 화합물을 처리한 세포의 배양액을 버리고 PBS로 세포가 부착되어 있는 웰을 세척한 다음, 20  $\mu\text{l}$ 의 세포용해 완충액(cell lysis buffer)을 넣고 얼음 내에서 20분간 방치하였다. 레닐라 루시페라아제 기질을 레닐라 루시페라아제 완충액으로 100배 희석한 희석액을 준비하고, 상기 희석액 100  $\mu\text{l}$ 를 각 웰에 넣어주었다. 인테그레이션 타이머를 10초로 하여 레닐라 루시페라아제의 발광도를 측정하였다. DMSO 처리시의 발광도를 100으로 기준하여, 화학식 1-1 내지 1-6, 1-17 내지 1-20 및 1-27 내지 1-31의 인돌계 화합물 처리시의 상대적인 발광도를 나타내었다.

[0321] 결과는 표 7에 나타내었다.

**표 7**

[0322] 화학식 1의 인돌계 화합물의 게놈 복제 저해 활성

화합물	상대적 바이러스 게놈 복제율(%)
DMSO (대조군)	100
화학식 1-1의 화합물	2.0
화학식 1-2의 화합물	35.1
화학식 1-3의 화합물	32.4
화학식 1-4의 화합물	69.0
화학식 1-5의 화합물	72.0
화학식 1-6의 화합물	66.1
화학식 1-17의 화합물	48.0
화학식 1-18의 화합물	160.0
화학식 1-19의 화합물	57.9
화학식 1-20의 화합물	65.6
화학식 1-27의 화합물	102.7
화학식 1-28의 화합물	0.8
화학식 1-29의 화합물	69.3
화학식 1-30의 화합물	91.0
화학식 1-31의 화합물	74.7

[0323] 표 7에 나타낸 바와 같이, 본 발명의 화학식 1의 인돌계 화합물은 10  $\mu\text{M}$ 의 농도에서 HCV 게놈의 복제를 저해하는 활성을 우수하게 나타내어 HCV의 증식을 저해하는 효과가 우수함을 알 수 있다.

[0324] 또한, Rluc-J6/JFH RNA-감염된 Huh7.5 세포에 화학식 1-37의 화합물을 72시간 동안 처리하여 세포의 루시페라아제(luciferase) 활성 및 상대적 세포 생존율을 측정하였다. 결과를 도 4의 용량반응곡선으로 나타내었다. 또한, Rluc-J6/JFH RNAs-감염된 Huh7.5세포에 10  $\mu\text{M}$ 의 화학식 1-37의 화합물을 처리하여 세포의 루시페라아제 활성 및 세포 생존율을 측정하였다. 결과를 도 4의 시간반응곡선으로 나타내었다.

[0325] 도 4에 나타낸 바와 같이, 용량반응곡선은 1-37의 농도의 증가에 따라 세포 생존율은 유지되나 HCV 게놈의 복제

가 저해됨을 확인하였으며, 시간반응곡선은 시간의 증가에 따라 세포 생존율은 유지되나 HCV 게놈의 복제가 저해됨을 확인하였다. 따라서, 본 발명의 인돌계 화합물은 HCV의 증식을 저해하는 효과가 우수함을 알 수 있다.

[0326] **실험예 3. 본 발명의 인돌계 화합물의 치료계수의 산정**

[0327] 상기 인돌계 화합물의 C형 간염에 대한 유효성을 확인하기 위하여, 화학식 1-1 및 1-28의 인돌계 화합물의 농도 별 세포생존율 및 게놈 복제 저해율을 도 2 및 도 3에 나타내었고, 화학식 1-1 내지 1-6, 1-17 내지 1-20, 1-27 내지 1-31의 인돌계 화합물의 하기 수학적 1에 의한 치료계수를 산정하여 표 8에 나타내었다.

[0328] [수학적 1]

[0329] 치료계수=세포생존율(cell viability)/게놈복제정도 (단위: %/%)

**표 8**

화학식 1의 인돌계 화합물의 치료계수

화합물	치료 계수
DMSO (대조군)	1
화학식 1-1의 화합물	30.0
화학식 1-2의 화합물	2.6
화학식 1-3의 화합물	2.5
화학식 1-4의 화합물	1.5
화학식 1-5의 화합물	1.3
화학식 1-6의 화합물	1.0
화학식 1-17의 화합물	0.6
화학식 1-18의 화합물	0.6
화학식 1-19의 화합물	1.3
화학식 1-20의 화합물	0.6
화학식 1-27의 화합물	1.1
화학식 1-28의 화합물	87.7
화학식 1-29의 화합물	1.2
화학식 1-30의 화합물	1.5
화학식 1-31의 화합물	1.5

[0331] 도 2, 도 3 및 표 8에 나타낸 바와 같이, 화학식 1-1 내지 1-6, 1-17 내지 1-20 및 1-27 내지 1-31의 인돌계 화합물을 처리시 간세포의 세포생존율은 높게 유지되면서, 게놈 복제정도가 큰 폭으로 감소함을 확인하였다. 이러한 결과로부터 본 발명의 인돌계 화합물은 안전성이 높으면서도 게놈 복제를 선택적으로 저해하는 효과가 우수함을 알 수 있다.

[0332] **실험예 4. 본 발명의 인돌계 화합물의 정량적 real-time RT-PCT(qRT-PCR) 분석**

[0333] J6/JFH RNA-감염된 Huh7.5 세포를 화학식 1-37의 화합물로 72시간 동안 처리하고 처리된 세포를 real time RT-PCR을 통해 GAPDH RNA 수치 및 상대적 HCV 수치를 측정하였다. 또한, J6/JFH RNA-감염된 Huh7.5 세포를 10 μM의 화학식 1-37의 화합물로 처리하고 처리된 세포를 real time RT-PCR을 통해 GAPDH RNA 수치 및 상대적 HCV 수치를 측정하였다.

[0334] real time RT-PCR은, 총체적 세포 RNA(Total cellular RNA)를 생산자의 지시에 따라 RNeasy® mini kit (Qiagen)를 사용하여 추출하였다. 추출된 RNA의 수율은 분광광도계를 사용하여 측정하였으며, HCV 서브 게놈 RNA와 세포 RNA의 발현은 정량적 real-time RT-PCR(qRT-PCR) 분석에 의해 측정하였다. 각 시료는 표준 발현 유전자(endogenous reference gene; ERG) glyceraldehydes-3-phosphate dehydro-genase(gapdh)로 표준화하였다. cDNA 정량은 CFX384 real-time PCR 탐지 시스템(Bio-Rad , US)으로 행하였다. 사용된 프라이머는 하기 표 9에



나타내었다.

**표 9**

올리고뉴클레오티드	시퀀스 5'-3'
5' J6/JFH	5'-CTCCGCCATGAATCACTC-3'
3' J6/JFH	5'-ACGACACTCATACTAACGC-3'
5' BART-Core	5'-AGAGCCATAGTGGTCT-3'
3' BART-Core	5'-CCAAATCTCCAGGCATTGAGC-3'
5' GAPDH	5'-TGGTCTCCTCTGACTTCA-3'
3' GAPDH	5'-CGTTGTCATACCAGGAATG-3'

[0336] 3번의 반복 실험의 평균이 기록되었으며, 에러 바(Error bar)는 표준 편차 값을 나타내었다. 그 결과를 도 5(A)의 용량반응그래프 및 시간반응그래프로 나타내었다.

[0337] 또한, Bart79I RNA-감염된 Huh7.5 세포를 상기와 동일한 방법으로 처리하여 그 결과를 도 5(B)의 용량반응그래프 및 시간반응그래프로 나타내었다.

[0338] 도 5(A) 및 5(B)에 나타난 바와 같이, 용량반응그래프는 화학식 1-37의 화합물의 농도의 증가에 따라 RNA 수치가 감소한다는 것을 확인하였으며, 시간반응그래프는 시간의 증가에 따라 RNA 수치가 감소한다는 것을 확인하였다. 따라서, 본 발명의 인돌계 화합물은 HCV의 증식을 저해하는 효과가 우수함을 알 수 있다.

**[0339] 실험예 5. 본 발명의 인돌계 화합물의 Western blot 분석**

[0340] J6/JFH RNA-감염된 Huh7.5 세포를 화학식 1-37의 화합물로 120시간 동안 처리하고 처리된 세포를 Western blot 분석을 통해 host β-actin 단백질 및 상대적 HCV core 수치를 측정하였다. 또한, J6/JFH RNA-감염된 Huh7.5 세포를 10 μM의 화학식 1-37의 화합물로 처리하고 처리된 세포를 Western blot 분석을 통해 host β-actin 단백질 및 상대적 HCV core 수치를 측정하였다.

[0341] Western blot 분석은, 전세포 추출물을 프로테아제 억제제(50 ml RIPA 완충액당 1 정제의 최종 농도, Roche Diagnostic)를 포함하는 RIPA 완충액(150mM NaCl, 1% 트리톤(Triton) X-100, 1% 디옥시콜릭산 나트륨염(Deoxycholic Acid Sodium Salt), 0.1% 도데실 황산 나트륨(sodium dodesil Sulfate), 50mM Tris-HCl, pH7.5, 2mM EDTA; genDEPOT)에서 제조하였으며, Bradford assay(Bio-Rad)로 정량하였다. 같은 양의 단백질은 SDS-폴리아크릴아미드 겔에서 전기영동 하였다. 그 후, 폴리비닐리덴 디플루오라이드(polyvinylidene difluoride) 막으로 이동시켰다(Immobilon-P; Millipore, Bedford). 그리고 마우스의 anti-Core 또는 anti-NS5A 단일클론항체로 측정하였다.(Core 1:1000, 1868 및 NS5A 1:1000, 1877, Virostat). 그 결과를 도 6(A)의 용량반응 및 시간반응으로 나타내었다.

[0342] 또한, Bart79I RNA-감염된 Huh7.5 세포를 같은 방법으로 처리하여 host β-actin 단백질 및 상대적 HCV NS5A 수치를 측정하였다. 그 결과를 도 6(B)의 용량반응 및 시간반응으로 나타내었다. 도 6에서 β-actin blot 아래 숫자들은 β-actin 단백질 수치가 정상화 된 후 바이러스성 단백질의 강도의 상대적 양을 나타내었다.

[0343] 도 6에 나타난 바와 같이, 용량반응은 화학식 1-37의 화합물의 농도의 증가에 따라 RNA가 생산하는 단백질이 감소하였음을 확인하였으며, 시간반응은 시간의 증가에 따라 RNA가 생산하는 단백질이 감소하였음을 확인하여 본 발명의 인돌계 화합물은 RNA 수치를 감소시킴을 알 수 있다.

**[0344] 실험예 6. 본 발명의 인돌계 화합물의 FACS 분석**

[0345] Bart79I-YFP 리플리콘 Huh7.5 세포를 화학식 1-37의 화합물로 120시간 동안 처리하고 처리된 세포를 FACS 분석을 통해 CV NS5A-YFP-positive cell의 상대적 백분율을 측정하였다. 또한, Bart79I-YFP 리플리콘 Huh7.5 세포를 10 μM의 1-37로 처리하고 처리된 세포를 FACS 분석을 통해 CV NS5A-YFP-positive cell의 상대적 백분율을 측정하였다.

[0346] FACS 분석은, 세포를 6-웰 플레이트(Costar 3516)에 놓았다. 그 후 DMSO 또는 1 μM 에서 10 μM의 1-37으로 채웠다. 배양 5일 후, 세포를 세척하고 재현탁은 1X 인산완충식염수(Phosphate-Buffered-Saline, Hyclone)를 사



용하였다. FACS 분석은 FACSria 3 시스템(BD , US)으로 행하였다. 그 결과를 도 7에 나타내었다.

[0347] 도 7에 나타난 바와 같이, 용량반응은 화학식 1-37의 화합물의 농도의 증가에 따라 바이러스가 존재하는 세포가 감소함을 확인하였으며, 시간반응은 시간의 증가에 따라 바이러스가 존재하는 세포가 감소함을 확인하여 본 발명의 인돌계 화합물은 HCV의 증식을 저해하는 효과가 우수함을 알 수 있다.

[0348] **실험예 7. 본 발명의 인돌계 화합물의 RDRP 활성 저해 실험**

[0349] 본 발명의 인돌계 화합물이 HCV 바이러스성 비구조적 단백질과 상호작용한다는 유전적 증거를 찾기 위하여 Colony formation 분석을 실시하였다. Colony formation 분석은, 유전자형 1b Bart79I 서브계놈 리플리콘 세포를 4주동안 5µM의 화학식 1-37의 화합물의 존재하에서 배양하였다. 복제 콜로니를 분리하고 이 콜로니의 cDNA를 시퀀싱하였다. 유전자형 1b NS5B 암호 영역의 몇몇 점 돌연변이(point mutation)는 저항성 콜로니로 확인되었다. 동시에 배양된 화학식 1-37의 화합물이 처리되지 않은 리플리콘 세포는 돌연변이가 발견되지 않았다. 이 돌연변이들을 포함하는 콜로니를 도 8(A)에 나타내었다.

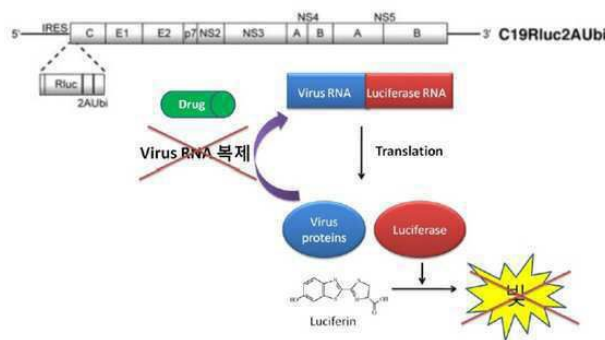
[0350] 도 8(A)에 나타난 바와 같이, 바이러스가 저항성을 보이는 유전자는 NS5B RNA 폴리머라제라는 것을 알 수 있다.

[0351] in vitro 상에서 NS5B의 RDRP 활성은 200 nM의 화학식 1-37의 화합물 존재하에서 측정되었다. 이를 도 8(B)에 나타내었으며, 도 8(C)는 도 8(B)의 결과를 양적 그래프로 나타내었다.

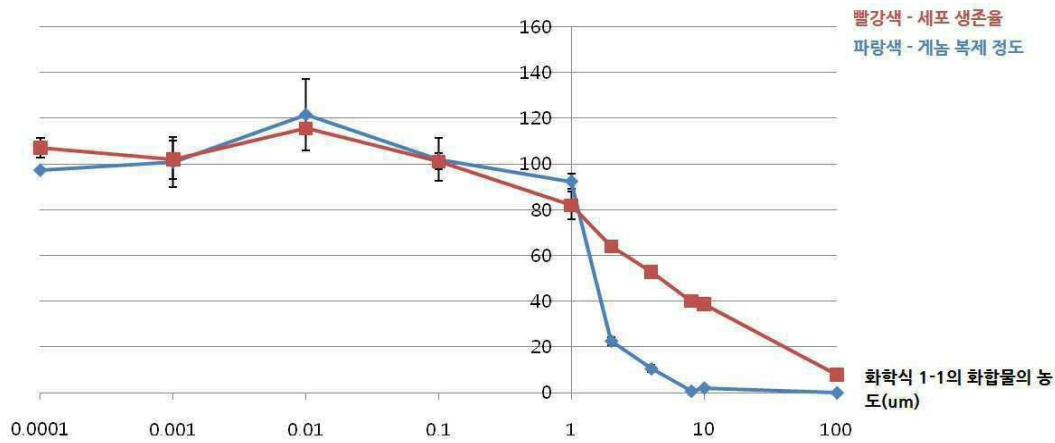
[0352] 도 8(B) 및 8(C)에 나타난 바와 같이, 화학식 1-37의 화합물 처리시 RDRP 활성을 200nM 농도에서 80%까지 감소시킬 수 있음을 확인하였다. 따라서, 본 발명의 인돌계 화합물은 in vitro상에서 NS5B RNA 폴리머라제의 활성을 저해할 수 있는 능력이 있다는 것을 알 수 있다.

**도면**

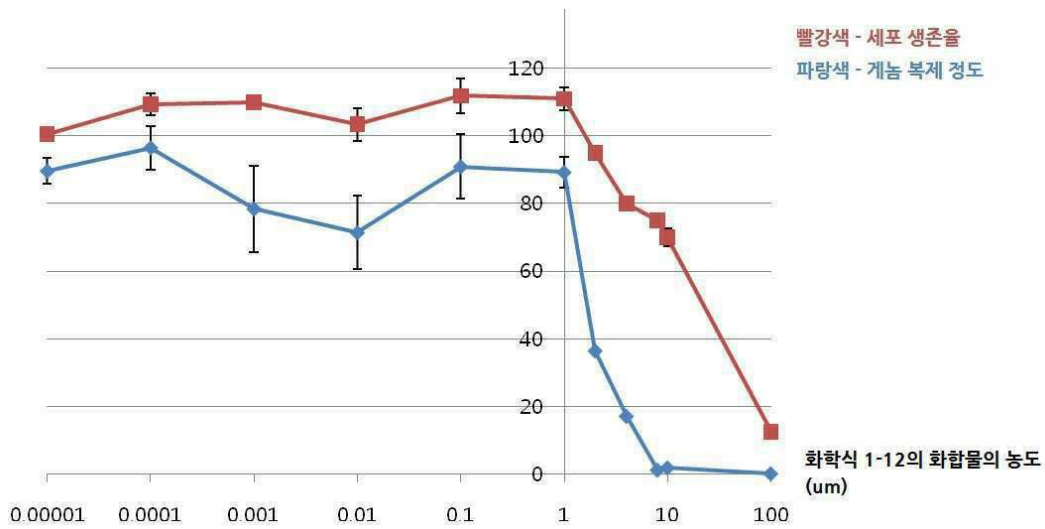
**도면1**



도면2

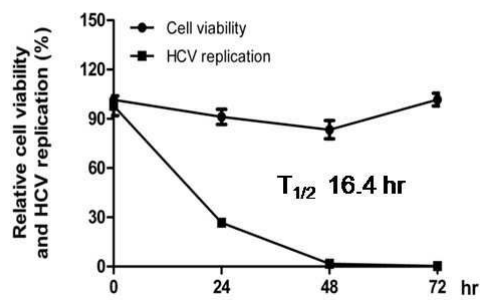
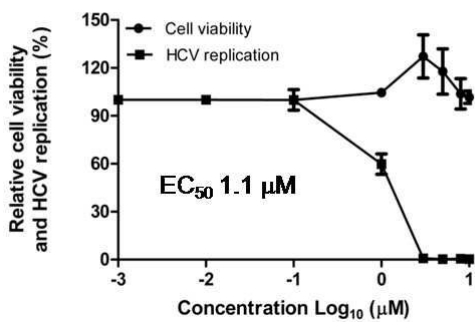


도면3

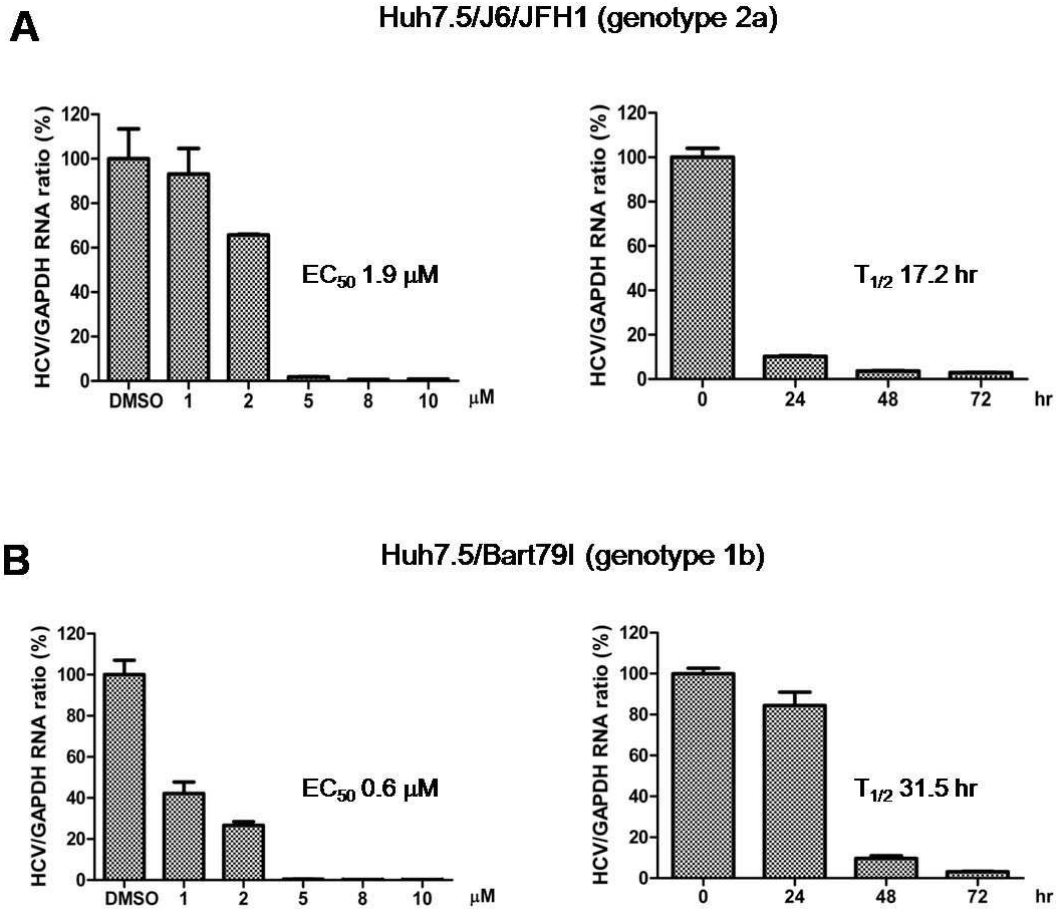


도면4

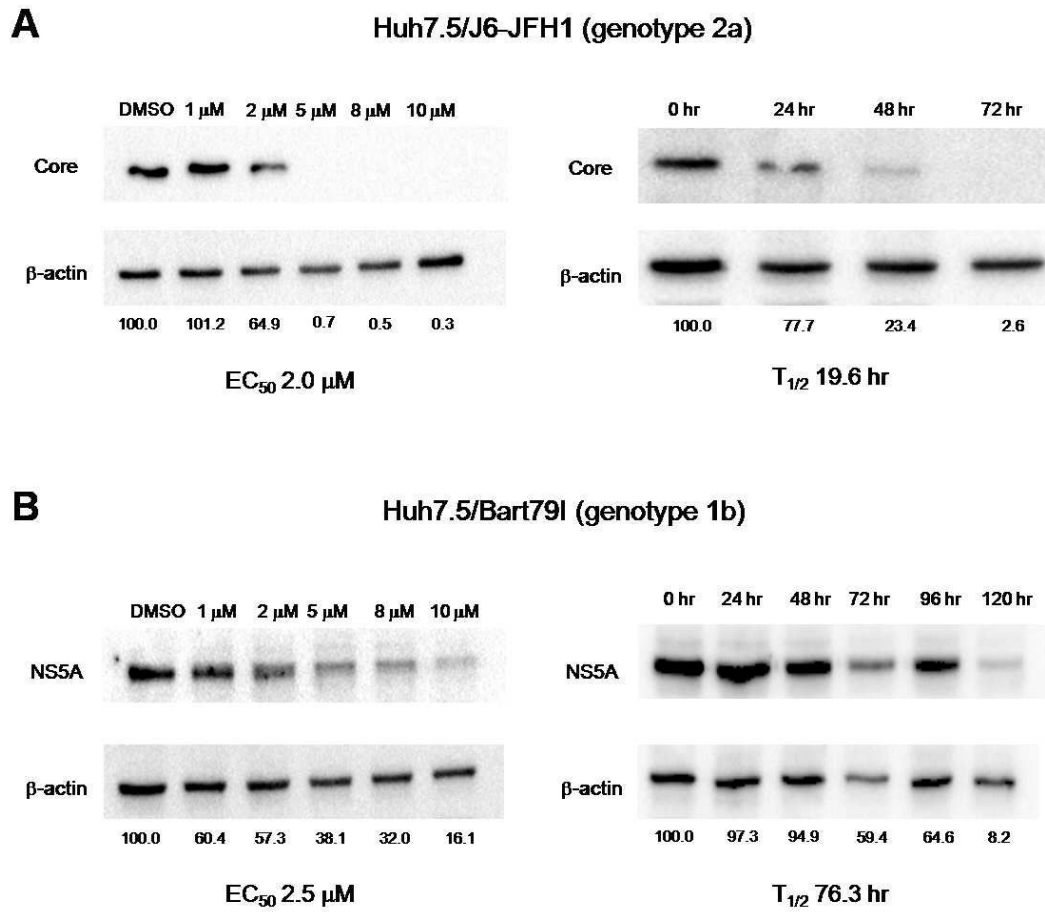
Huh7.5/Rluc-J6/JFH1 (genotype 2a)



도면5

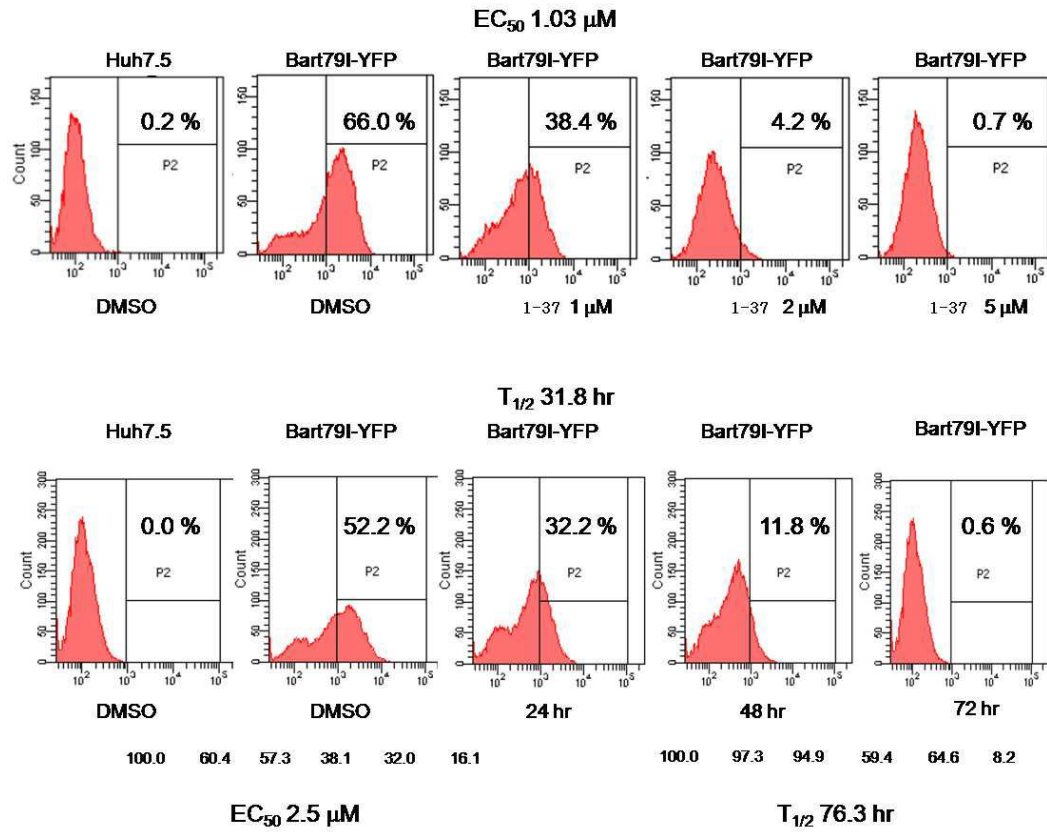


도면6



도면7

**Huh7.5-Bart79I-YFP (genotype 1b)**

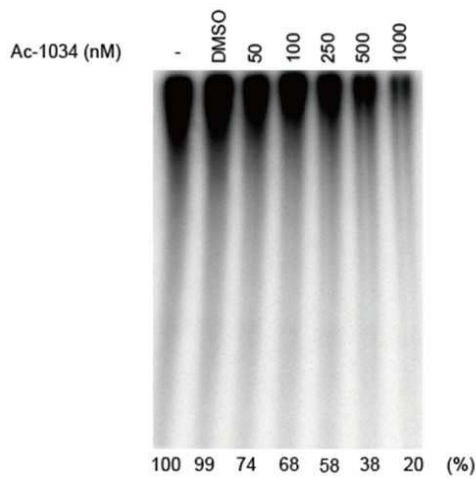


도면8

**A**

Colony	Wild type sequence No	Wild type sequence	Mutant sequence	Wild type AA No	Wild type AA	Mutant AA
1	6713	GAC	GCC	244	Asp	Ala
2	6788	TCT	TGT	269	Ser	Cys
3	6811	CGC	TGC	277	Arg	Cys
4	6838	ACG	TCG	286	Thr	Ser
5	6252	AAG	AAC	90	Lys	Asn
6	7549	AAG	GAG	523	Lys	Glu

**B**



**C**

