(19)대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(51) 。Int. Cl.
C07D 239/54 (2006.01)
A61K 31/513 (2006.01)

(11) 공개번호 10-2006-0052790
(43) 공개일자 2006년05월19일

(21) 출원번호 10-2006-7000435
(22) 출원일자 2006년01월06일
번역문 제출일자 2006년01월06일
(86) 국제출원번호 PCT/US2004/021569
국제출원일자 2004년07월06일
(87) 국제공개번호 WO 2005/007164
국제공개일자 2005년01월27일

(30) 우선권주장 60/485,436 2003년07월07일 미국(US)

(71) 출원인 뉴로크린 바이오사이언시즈 인코퍼레이티드
미국 92130 캘리포니아주 산 디에고 카미노 리얼 12790이1

(72) 발명자 주, 윤-훼이
미국 92129 캘리포니아주 산 디에고 파크 빌리지 로드 7306
레건, 콜린
미국 92155 캘리포니아주 산 디에고 #56 콜우드 웨이 5046
루에터, 제이미, 케이.
미국 92129 캘리포니아주 산 디에고 웨스트베일 로드 9022
구오, 치퀴앙
미국 92130 캘리포니아주 산 디에고 칼르 마 드 아르모니아 4528
첸, 용웽
미국 92127 캘리포니아주 산 디에고 클래시코 코트 10510
후앙, 찰스, 큐.
미국 92129 캘리포니아주 산 디에고 골드피쉬 코트 12341

(74) 대리인 장수길
김영

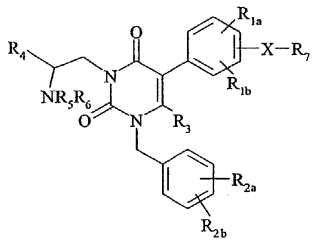
심사청구 : 없음

(54) 고나도트로핀-방출 호르몬 수용체 길항제로서의피리미딘-2,4-디온 유도체

요약

본 발명은 남성 및 여성 모두에게서 다양한 성-호르몬 관련된 상태를 치료하는데 유용성을 갖는 GnRH 수용체 길항제를 기술하고 있다. 본 발명의 화합물은 화학식 I의 구조를 가지며 그의 입체이성질체, 프로드럭 및 제약학적으로 허용되는 염을 포함하고, 여기에서 R_{1a}, R_{1b}, R_{2a}, R_{2b}, R_3, R_4, R_5, R_6, R_7 및 X는 본 발명에서 정의하는 바와 같다. 또한, 본 발명은 본 발명의 화합물 및 제약학적으로 허용되는 담체를 함유하는 조성물, 및 필요한 대상체에서의 고나도트로핀-방출 호르몬을 길항하기 위한 그의 사용과 관련된 방법을 기술하고 있다.

<화학식 I>



색인어

고나도트로핀-방출 호르몬, 수용체 길항제, 성-호르몬 관련된 상태, 전립선암, 자궁내막증, 자궁 유섬유종

명세서

정부 과제의 설명

본 출원에 기술된 연구의 부분적 자금은 미국 국립보건원에 의해서 규정된 미국 정부 보조금 제 1-R43-HD38625 및 2R44-HD38625-02에 의해서 제공되었다. 미국 정부는 본 발명에 대하여 특정의 권리를 가질 수 있다.

기술분야

본 발명은 일반적으로, 고나도트로핀-방출 호르몬 (GnRH) 수용체 길항제, 및 이러한 길항제를 이를 필요로 하는 온혈동물에게 투여함으로써 질병을 치료하는 방법에 관한 것이다.

배경기술

황체형성호르몬-방출 호르몬 (LHRH)으로도 또한 알려져 있는 고나도트로핀-방출 호르몬 (GnRH)은 인간의 생식에서 중요한 역할을 하는 데카펩티드 (pGlu-His-Trp-Ser-Tyr-Gly-Leu-Arg-Pro-Gly-NH_2)이다. GnRH는 시상하부로부터 방출되며, 뇌하수체에 작용하여 황체형성호르몬 (LH) 및 난포자극호르몬 (FSH)의 생합성 및 방출을 촉진시킨다. 뇌하수체로부터 방출된 LH는 남성 및 여성 모두에게서 생식선 스테로이드 생산의 조절을 맡고 있고, FSH는 남성에게서 정자형성 및 여성에게서 난포발생을 조절한다.

그의 생물학적 중요성으로 인하여 GnRH에 대한 합성 길항제 및 작용제는 특히 전립선암, 유방암, 자궁내막증, 자궁평활근종 (유섬유종), 난소암, 전립선 비대증, 보조 생식 요법 및 성조숙증과 관련하여 상당한 관심이 집중되고 있다 (문헌 [*The Lancet* 358:1793-1803, 2001; *Mol. Cell. Endo.* 166:9-14, 2000]). 예를 들어, 류프로렐린 (pGlu-His-Trp-Ser-Tyr-d-Leu-Leu-Arg-Pro-NHEt)과 같은 펩티드성 GnRH 작용제가 이러한 상태를 치료하기 위해서 사용되어 왔다. 이러한 작용제는 GnRH 수용체에 결합함으로써 뇌하수체 고나도트로핀에서 작용하여 고나도트로핀의 합성 및 방출을 유도하는 것으로 보인다. GnRH 작용제의 만성적 투여는 고나도트로핀을 고갈시키고, 이어서 수용체를 하향-조절함으로써 일정한 기간 (예를 들어, 만성적 투여를 개시한 후 2 내지 3 주일 정도) 후에 스테로이드성 호르몬의 억제를 야기한다.

이와는 반대로, GnRH 길항제는 작용 발현시부터 고나도트로핀를 억제하는 것으로 믿어지며, 따라서 지난 20년에 걸쳐서 가장 큰 관심을 받아왔다. 현재까지, 이러한 길항제의 임상적 사용에 대한 일차적 장애물 중의 일부는 히스타민 방출에 의해서 야기된 그들의 비교적 낮은 생체이용률 및 유해한 부작용이었다. 그러나, 낮은 히스타민 방출 특성을 갖는 몇가지 펩티드성 길항제가 보고되었지만, 이들은 여전히 제한된 생체이용률로 인하여 지속적인 전달 경로 (예를 들어, 피하 주사 또는 비내 분사)를 통해서 전달되어야만 한다.

펩티드성 GnRH 길항제와 연관된 제한조건을 고려하여, 다수의 비펩티드성 화합물들이 제안되었다. 예를 들어, 문헌 [Cho et al., *J. Med. Chem.* 41:4190-4195, 1998]에는 GnRH 수용체 길항제로서 사용하는 티에노[2,3-b]피리딘-4-온이 기술되어 있으며; 미국 특허 제 5,780,437 및 5,849,764 호는 GnRH 수용체 길항제로서 치환된 인돌을 제시하였고 (공개된 PCT WO 97/21704, 98/55479, 98/55470, 98/55116, 98/55119, 97/21707, 97/21703 및 97/21435에도 기술됨); 공개

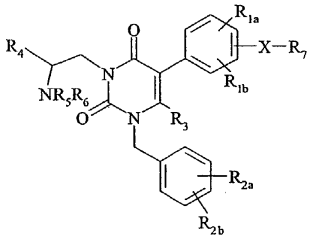
된 PCT WO 96/38438은 GnRH 수용체 길항제로서 트리시클릭 디아제핀을 기술하고 있으며; 공개된 PCT WO 97/14682, 97/14697 및 99/09033은 GnRH 길항제로서 퀴놀린 및 티에노피리딘 유도체를 기술하고 있고; 공개된 PCT WO 97/44037, 97/44041, 97/44321 및 97/44339는 GnRH 수용체 길항제로서 치환된 퀴놀린-2-온을 교시하였으며; 공개된 PCT WO 99/33831은 GnRH 수용체 길항제로서 특정의 페닐-치환된 융합 질소-함유 비-시클릭 화합물을 기술하였다. 최근에 공개된 PCT WO 02/66459 및 WO 02/11732에는 각각 GnRH 길항제로서 인돌 유도체 및 신규한 비-시클릭 및 트리시클릭 피롤리딘 유도체의 용도가 기술되어 있다. GnRH 길항제인 화합물 및 그들의 용도를 기술한 최근에 공개된 그 밖의 다른 PCT로는 WO 00/69859, WO 01/29044, WO 01/55119, WO 03/013528, WO 03/011870, WO 03/11841, WO 03/011839 및 WO 03/011293이 있다.

이 분야에서 상당한 진보가 이루어졌지만, 당업계에서는 효과적인 소분자 GnRH 수용체 길항제에 대한 필요성이 남아 있다. 또한, 이러한 GnRH 수용체 길항제를 함유하는 제약 조성물, 및 예를 들어, 성-호르몬 관련된 상태를 치료하기 위하여 이들을 사용하는 것에 관한 방법이 또한 필요하다. 본 발명은 이들 필요성을 충족시키며, 그 밖의 다른 관련된 이점을 제공한다.

발명의 간단한 요약

간략하게, 본 발명은 일반적으로 고나도트로핀-방출 호르몬 (GnRH) 수용체 길항제, 및 이들의 제조 및 사용 방법, 및 이들을 함유하는 제약 조성물에 관한 것이다. 더욱 구체적으로, 본 발명의 GnRH 수용체 길항제는 하기 화학식 I의 구조를 갖는 화합물 및 이들의 입체이성질체, 프로드럭 및 제약학적으로 허용되는 염이다.

화학식 I



상기 식에서, R_{1a}, R_{1b}, R_{2a}, R_{2b}, R_3, R_4, R_5, R_6, R_7 및 X는 이하에서 정의하는 바와 같다.

본 발명의 GnRH 수용체 길항제는 넓은 범위의 치료학적 적용분야에 걸쳐서 유용성을 가지며, 일반적인 포유동물 (여기에서는 또한, 대상체라고 칭함)뿐만 아니라 남성 및 여성 둘 다에서 다양한 성-호르몬 관련된 상태를 치료하기 위해서 사용될 수 있다. 예를 들어, 이러한 상태에는 자궁내막증, 자궁 유섬유종, 다낭성 난소질환, 다모증, 성조숙증, 전립선, 유방 및 난소의 암과 같은 생식선 스테로이드-의존성 신생물, 뇌하수체 생식선자극세포 선종, 수면성 무호흡, 과민성 대장증후군, 월경전 증후군, 양성 전립선 비대증, 피임 및 불임증 (예를 들어, 체외수정과 같은 보조 생식 요법)이 포함된다. 본 발명의 화합물은 또한, 성장호르몬 결핍 및 저신장의 치료에 대한 보조제로서, 및 전신성 홍반성 루푸스의 치료에 유용하다. 이 화합물은 또한, 자궁내막증, 유섬유종의 치료 및 피임시에 안드로겐, 에스트로겐, 프로게스테론 및 안티에스트로겐 및 안티프로게스토겐과 조합으로, 및 자궁 유섬유종의 치료를 위해서 안지오텐신-전환효소 억제제, 안지오텐신 II-수용체 길항제 또는 레닌 억제제와 조합으로도 유용하다. 또한, 상기 화합물은 칼슘, 인 및 골 대사의 장애의 치료 및(또는) 예방을 위해서 비스포스포네이트 및 그 밖의 다른 약제와 조합으로, 및 GnRH 길항제에 의한 치료 중에 일과성 열감과 같은 생식선기능저하 증상 또는 골손실의 예방 또는 치료를 위해서 에스트로겐, 프로게스테론 및(또는) 안드로겐과 조합으로 사용될 수 있다.

본 발명의 화합물은 그들의 GnRH 수용체 길항제 활성 이외에도 간 내의 주요 대사효소, 즉 시토크롬 P450 효소와의 감소된 상호작용을 갖는다. 서브타입 CYP2D6 및 CYP3A4를 비롯한 이러한 부류의 효소는 신체로부터 약물 및 독소의 소인(disposition)을 유도하는 약물 및 톡신의 대사에 관여한다. 이들 효소의 억제는 효소가 그의 기능을 수행할 수 없는 경우 치명적인 상태를 초래할 수 있다.

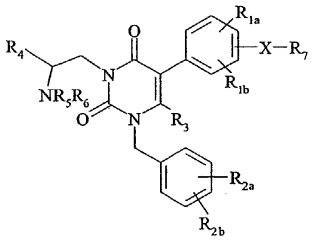
본 발명의 방법은 유효량의 GnRH 수용체 길항제를 바람직하게는 제약 조성물의 형태로 이를 필요로 하는 포유동물에게 투여하는 것을 포함한다. 따라서, 또 다른 실시양태로 본 발명의 1종 이상의 GnRH 수용체 길항제 및 제약학적으로 허용되는 담체 및(또는) 희석제를 함유하는 제약 조성물이 기술되어 있다.

본 발명의 이들 관점 및 그 밖의 관점은 이하의 상세한 설명을 참고로 하여 명백해질 것이다. 이를 위해서, 특정의 배경기술 정보, 방법, 화합물 및(또는) 정보를 더 상세하게 기술한 다양한 문헌들이 본 출원에 언급되어 있으며, 각각은 그 전문이 본 명세서에 참고로 도입된다.

발명의 상세한 설명

상기 언급한 바와 같이, 본 발명은 일반적으로 고나도트로핀-방출 호르몬 (GnRH) 수용체 길항제로서 유용한 화합물에 관한 것이다. 본 발명의 화합물은 하기 화학식 I의 구조를 갖는 화합물, 또는 그의 입체이성질체, 프로드럭 또는 제약학적으로 허용되는 염이다:

<화학식 I>



상기 식에서,

R_{1a} 및 R_{1b}는 동일하거나 상이하며, 독립적으로 수소, 할로겐, C_{1-4} 알킬, 또는 알콕시이며;

R_{2a} 및 R_{2b}는 동일하거나 상이하며, 독립적으로 수소, 할로겐, 트리플루오로메틸, 시아노 또는 $-SO_2CH_3$이고;

R_3는 수소 또는 메틸이고;

R_4는 페닐 또는 C_{3-7} 알킬이고;

R_5 및 R_6는 동일하거나 상이하며, 독립적으로 수소 또는 C_{1-4} 알킬이거나;

R_5 및 이에 부착된 질소와 R_4 및 이에 부착된 탄소는 함께 취해져 1,2,3,4-테트라히드로이소퀴놀린 또는 2,3-디히드로-1H-이소인돌을 형성하고;

R_7은 -COOH 또는 산 동배체 (isostere)이고;

X는 -O-(C_{1-6} 알칸디일) 또는 -O-(C_{1-6} 알칸디일)-O-(C_{1-6} 알칸디일)이며, 여기서 각각의 (C_{1-6} 알칸디일)은 1 내지 3개의 C_{1-4} 알킬기로 임의로 치환된다.

본 명세서에서 사용된 것으로, 상기의 용어들은 다음의 의미를 갖는다:

본 명세서에서 사용된 것으로, 상기의 용어들은 다음의 의미를 갖는다:

"C_{1-6} 알킬"은 1 내지 6개의 탄소원자를 함유하는 직쇄 또는 분지형이고, 비-시클릭이거나 시클릭이며, 불포화되거나 포화된 지방족 탄화수소를 의미한다. 대표적인 포화 직쇄 알킬에는 메틸, 에틸, n-프로필, n-부틸, n-펜틸, n-헥실 등이 포함되고; 포화 분지형 알킬에는 이소프로필, sec-부틸, 이소부틸, tert-부틸, 이소펜틸 등이 포함된다. 대표적인 포화 시클릭 알킬에는 시클로프로필, 시클로부틸, 시클로펜틸, 시클로헥실 등이 포함되고; 불포화 시클릭 알킬에는 시클로펜테닐 및 시클로헥세닐 등이 포함된다. 불포화 알킬은 인접한 탄소원자 사이에 하나 이상의 이중 또는 삼중 결합을 함유한다 (각각, "

알케닐" 또는 "알키닐"이라 칭함). 대표적인 직쇄 및 분지형 알케닐에는 에틸레닐, 프로필레닐, 1-부테닐, 2-부테닐, 이소부틸레닐, 1-펜테닐, 2-펜테닐, 3-메틸-1-부테닐, 2-메틸-2-부테닐, 2,3-디메틸-2-부테닐 등이 포함되고; 대표적인 직쇄 및 분지형 알키닐에는 아세틸레닐, 프로피닐, 1-부티닐, 2-부티닐, 1-펜티닐, 2-펜티닐, 3-메틸-1-부티닐 등이 포함된다.

"C_{1-4} 알킬"은 1 내지 4개의 탄소원자를 함유하는 직쇄 또는 분지형의 비-시클릭 또는 시클릭 탄화수소를 의미한다. 대표적인 직쇄 알킬에는 메틸, 에틸, n-프로필, n-부틸 등이 포함되고; 분지형 알킬에는 이소프로필, sec-부틸, 이소부틸, tert-부틸 등이 포함되며; 시클릭 알킬에는 시클로프로필 등이 포함된다.

"C_{3-7} 알킬"은 3 내지 7개의 탄소원자를 함유하는 직쇄 또는 분지형의 비-시클릭 또는 시클릭 탄화수소를 의미한다. 대표적인 직쇄 알킬에는 n-프로필, n-부틸, n-헥실 등이 포함되고; 분지형 알킬에는 이소프로필, sec-부틸, 이소부틸, tert-부틸, 이소펜틸 등이 포함된다. 대표적인 시클릭 알킬에는 시클로프로필, 시클로펜틸, 시클로헥실 등이 포함된다.

"C_{1-6} 알칸디일"은 $-CH_2-$, $-CH_2CH_2-$, $-CH_2CH_2CH_2-$, $-CH(CH_3)CH_2CH_2-$, $-CH_2C(CH_3)_2CH_2-$ 등과 같이 2개의 수소원자가 동일한 탄소원자로부터 또는 상이한 탄소원자로부터 취해진 2가 C_{1-6} 알킬을 의미한다.

"할로겐"은 플루오로, 클로로, 브로모 또는 요오도, 일반적으로 플루오로 및 클로로를 의미한다.

"히드록시"는 -OH를 의미한다.

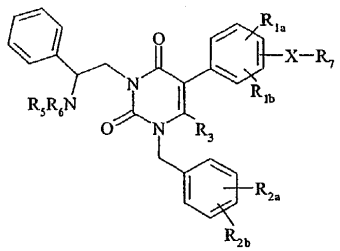
"알콕시"는 -O-(C_{1-6} 알킬)을 의미한다.

"시아노"는 -CN을 의미한다.

"산 동배체"는 카르복실산과 유사한 특성을 나타내고, 8 미만, 바람직하게는 7 미만의 pKa를 갖는 잔기를 의미한다. 대표적인 산 동배체에는 테트라졸, 3H-[1,3,4]옥사디아졸-2-온, [1,2,4]옥사디아졸-3-온, 1,2-디히드로-[1,2,4]트리아졸-3-온, 2H-[1,2,4]옥사디아졸-5-온, 술포닐 또는 술폭시드 기로 치환된 트리아졸, 술포닐 또는 술폭시드 기로 치환된 이미다졸, [1,2,4]-옥사디아졸리딘-3,5-디온, [1,2,4]-티아디아졸리딘-3,5-디온, 이미다졸리딘-2,4-디온, 이미다졸리딘-2,4,5-트리온, 피롤리딘-2,5-디온 및 피롤리딘-2,3,5-트리온이 포함된다. 산 동배체에는 또한, $-C(=O)NHSO_2NR_aR_b$, $-C(=O)NHSO_2R_b$, $-C(=O)NHC(=O)NR_aR_b$ 및 $-C(=O)NHC(=O)R_b$가 포함되고, 여기에서 R_a는 수소 또는 C_{1-4} 알킬이며, R_b는 C_{1-4} 알킬이다.

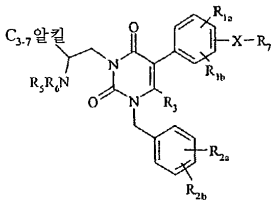
한가지 실시양태에서, R_4는 페닐이며, 본 발명의 대표적인 GnRH 길항제에는 하기 화학식 II의 구조를 갖는 화합물이 포함된다.

화학식 II

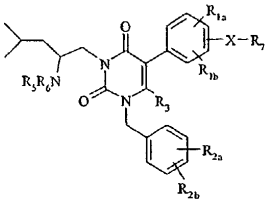


또 다른 실시양태에서, R_4는 화학식 III에서 나타낸 바와 같이 C_{3-7} 알킬이다. C_{3-7} 알킬 그룹은 직쇄이거나, 화학식 IV에 나타낸 것으로 이소부틸과 같은 분지형 알킬이거나, 또는 화학식 V에 나타낸 것으로 시클로헥실과 같은 시클릭 알킬일 수 있다.

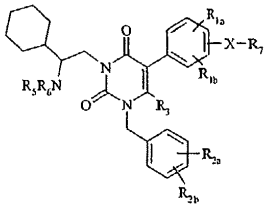
화학식 III



화학식 IV

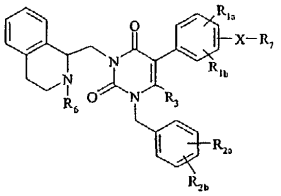


화학식 V

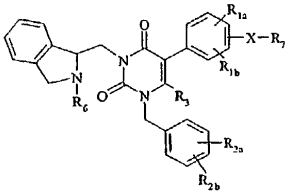


또 다른 실시양태에서, R_5 및 이에 부착된 질소와 R_4 및 이에 부착된 탄소는 함께 취해져 각각 화학식 VI 및 VII로 나타낸 바와 같은 1,2,3,4-테트라히드로이소퀴놀린 또는 2,3-디히드로-1H-이소인돌을 형성한다.

화학식 VI



화학식 VII



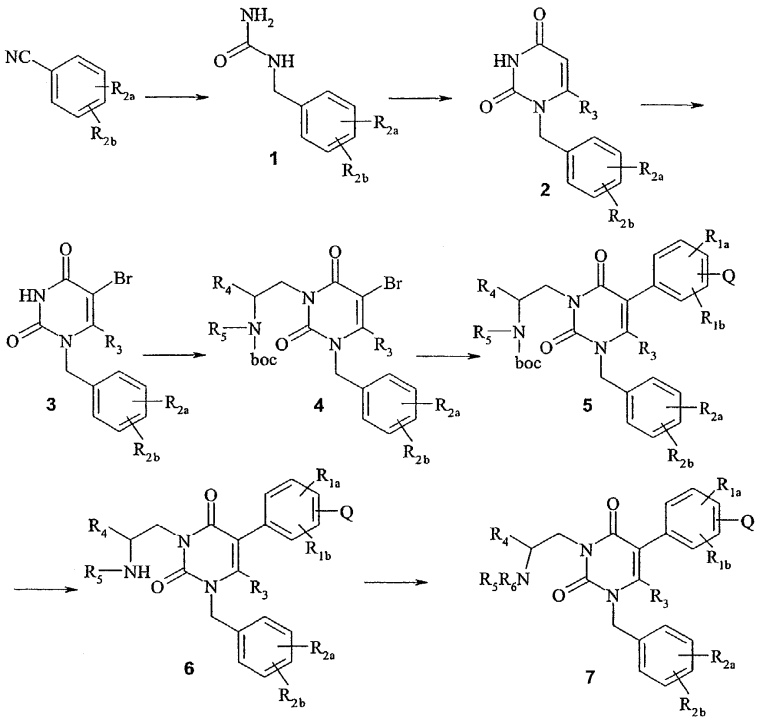
또 다른 실시양태에서, R_{1a} 및 R_{1b}는 수소, 알콕시 또는 할로겐이다. 알콕시는 메톡시 또는 에톡시일 수 있으며, 할로겐은 전형적으로 플루오로 또는 클로로이다.

또 다른 실시양태에서, R_{2a} 및 R_{2b}는 수소, 트리플루오로메틸, 할로겐 (전형적으로 플루오로 또는 클로로) 또는 $-SO_2CH_3$ 일 수 있다.

추가의 실시양태에서 X는 $-OCH_2CH_2-$, $-OCH_2CH_2CH_2-$ 또는 $-OCH_2CH_2CH_2CH_2-$이다.

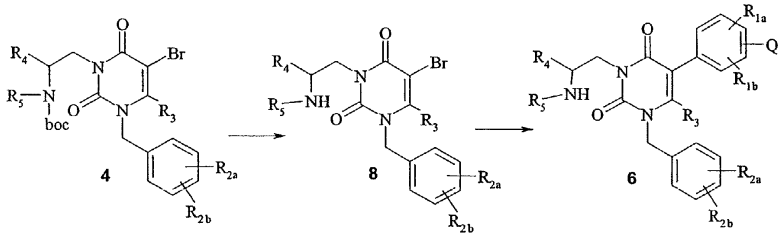
본 발명의 화합물은 실시예에 더 상세히 기술된 방법을 포함한 공지된 유기합성기술에 의해서 제조될 수 있다. 일반적으로, 상기 화학식 I의 화합물은 이하의 반응식에 의해서 제조될 수 있으며, 여기에서 모든 치환체는 다른 식으로 정의되지 않는 한은 상기한 바와 같이 정의된다.

반응식 1



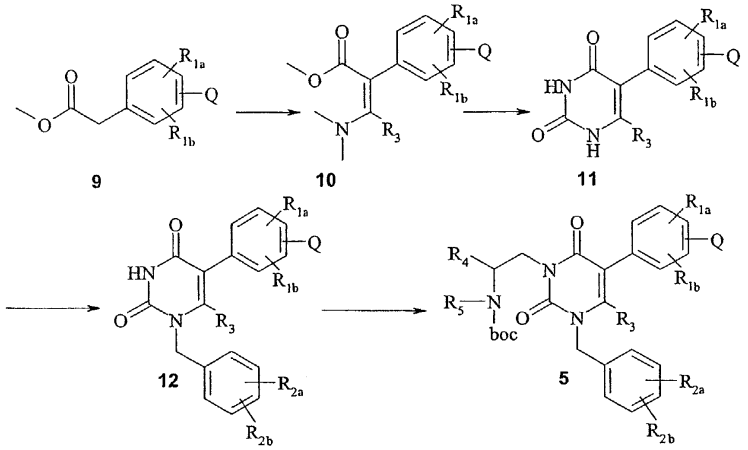
적절하게 치환된 벤조니트릴을 THF 중에서 보란과 같은 적절한 시약을 사용하여 환원시킬 수 있으며, 그 후에 우레아 1을 형성한다. 디케텐과 같은 시약에 의한 폐환반응으로 화합물 2를 수득하고, 이것을 아세트산 중의 브롬, N-브로모숙신이미드 또는 그 밖의 다른 브롬화제로 브롬화시켜 화합물 3을 수득할 수 있다. 알킬화반응으로 화합물 4를 수득하고, 보론산 또는 보론산 에스테르와의 스즈끼 축합반응 (Suzuki condensation)으로 화합물 5를 수득하는데, 여기에서 Q는 알콕시, 히드록시 또는 화학식 -X-R_7의 기일 수 있다. 메틸렌 클로라이드 중의 트리플루오로아세트산과 같은 전형적인 시약을 사용한 보호된 아민의 탈보호반응으로 화합물 6을 수득하고, 이것을 환원적 아민화 조건을 통해서 알데히드와의 축합시키거나 알킬화시켜 화학식 7의 화합물을 수득할 수 있다. 다양한 단계들의 순서를 변화시켜 본 발명의 화합물을 수득할 수 있다.

반응식 2



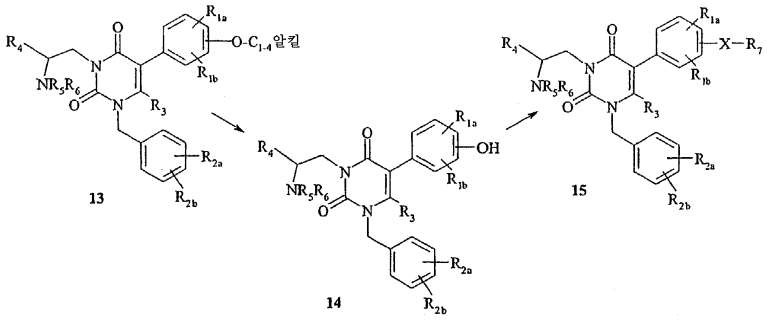
반응식 1의 변형에서는, 화합물 4의 탈보호를 수행하여 화합물 8을 수득하고, 이것을 스즈끼 조건 하에서 적절한 보론산과 축합시켜 화합물 6을 수득할 수 있다.

반응식 3



치환된 페닐아세트산 에스테르 9 (상응하는 산으로부터 제조하거나 구입함), 및 디페틸포름아미드 디메틸아세탈과 같은 시약을 축합시켜 화합물 10을 수득한다. 우레아를 사용한 폐환반응으로 화학식 11의 화합물을 수득한다. 예를 들어, 치환된 벤질 브로마이드를 사용한 알킬화반응으로 화학식 12의 화합물을 수득하고, 이것을 적절한 알킬 할라이드, 메실레이트 또는 토실레이트로 알킬화시켜 화합물 5를 수득할 수 있다.

반응식 4



화합물 13 또는 화합물 13의 적절하게 보호된 tert-부톡시카르보닐 (Boc) 또는 카보벤질옥시 (CBZ) 변형체를 HBr 또는 BBr_3와 같은 적절한 산으로 탈알킬화시켜 화합물 14를 수득할 수 있다. 아민 작용기의 탈보호반응은 산, 에스테르 또는 산 동배체 작용기를 함유하는 알킬 할라이드에 의한 알킬화반응으로 직접적으로 화합물 15를 수득하기 전에 필요할 수 있거나, 존재하는 경우의 에스테르기를 가수분해시킨 후에 화합물 15를 수득할 수 있다.

본 발명의 화합물은 일반적으로, 유리 산 또는 유리 염기로 이용될 수 있다. 대용으로, 본 발명의 화합물은 산 또는 염기 부가염의 형태로 사용될 수도 있다. 본 발명의 방출 아미노 화합물의 산 부가염은 당업계에서 잘 알려진 방법에 의해서 제조될 수 있으며, 유기산 및 무기산으로부터 형성될 수 있다. 적합한 유기산에는 말레산, 푸마르산, 벤조산, 아스코르브산, 숙신산, 메탄술폰산, 아세트산, 트리플루오로아세트산, 옥살산, 프로피온산, 타르타르산, 살리실산, 시트르산, 글루콘산, 락트산, 만델산, 신남산, 아스파르트산, 스테아르산, 팔미트산, 글리콜산, 글루탐산, 및 벤젠술폰산이 포함된다. 적합한 무기산에는 염산, 브롬화수소산, 황산, 인산, 및 질산이 포함된다. 염기 부가염은 카르복실레이트 음이온에 의해서 형성되는 염을 포함하며, 알칼리 금속 및 알칼리 토금속 (예를 들어, 리튬, 나트륨, 칼륨, 마그네슘, 바륨 및 칼슘) 및 암모늄 이온 및 그의 치환된 유도체 (예를 들어, 디벤질암모늄, 벤질암모늄, 2-히드록시에틸암모늄 등)로부터 선택된 것과 같은 유기 및 무기 양이온에 의해서 형성된 염을 포함한다. 따라서, 화학식 I의 용어 "제약학적으로 허용되는 염"은 모든 허용가능한 염 형태는 어떤 것이라도 포함하고자 하는 의미이다.

또한, 프로드럭도 본 발명과 관련하여 포함된다. 프로드럭은 이러한 프로드럭을 환자에게 투여한 경우에 생체내에서 화학식 I의 화합물을 방출하는, 공유 결합된 캐리어이다. 프로드럭은 일반적으로, 일상적인 조작에 의해서나 생체내에서 변형이 분해되어 모 화합물이 수득되도록 하는 방식으로 작용기를 변형시킴으로써 제조된다. 프로드럭에는 예를 들어, 히드록시, 아민 또는 술프히드릴기가, 환자에게 투여하였을 때에 절단되어 히드록시, 아민 또는 술프히드릴기를 형성하는 기에

결합된 본 발명의 화합물이 포함된다. 따라서, 프로드럭의 대표적인 예에는 화학식 I의 화합물의 알콜 및 아민 작용기의 아세테이트, 포르메이트 및 벤조에이트 유도체가 포함된다 (그러나, 이들로 제한되지는 않는다). 또한, 카르복실산 (-COOH)의 경우에는 메틸 에스테르, 에틸 에스테르 등과 같은 에스테르가 이용될 수 있다.

입체이성질체와 관련하여, 화학식 I의 화합물은 키랄 중심을 가질 수 있으며, 라세미체, 라세미 혼합물 및 개개 거울상이성질체 또는 부분입체이성질체로 존재할 수 있다. 이러한 모든 이성질체 형태는 그의 혼합물을 포함하여 본 발명에 포함된다. 또한, 화학식 I의 화합물의 결정성 형태의 일부는 본 발명에 포함되는 다형체로 존재할 수 있다. 또한, 화학식 I의 화합물의 일부는 물 또는 다른 유기 용매와 용매화물을 형성할 수도 있다. 이러한 용매화물도 마찬가지로 본 발명의 범주 내에 포함된다.

GnRH 수용체 길항제로서 화합물의 유효성은 다양한 검정 기술에 의해서 측정될 수 있다. 당업계에서 잘 알려진 검정 기술에는 배양된 뇌하수체 세포를 사용한 GnRH 활성의 측정 (문헌 [Vale et al., *Endocrinology 91*:562-572, 1972]) 및 래트 뇌하수체 막에 대한 (문헌 [Perrin et al., *Mol. Pharmacol. 23*:44-51, 1983]), 또는 이하에 기술하는 바와 같은 클로닝된 수용체를 발현하는 세포로부터의 막에 대한 방사성리간드 결합의 측정이 포함된다. 그 밖의 다른 검정 기술에는 GnRH-자극된 칼슘 유출 (flux)의 억제, 포스포이노시톨 가수분해의 조절, 및 거세 동물에서 고나도트로핀의 순환 농도에 대한 GnRH 수용체 길항제의 효과의 측정이 포함된다 (그러나, 이들로 제한되지는 않는다). 이들 기술, 방사성표지된 리간드의 합성, 방사성면역검정에서 방사성표지된 리간드의 사용, 및 GnRH 수용체 길항제로서 화합물의 유효성에 대하여는 후술한다.

<u>GnRH 자극된 LH 방출의 억제</u>

적합한 GnRH 길항제는 GnRH 수용체에 대한 GnRH의 특이적 결합을 억제하고, GnRH와 관련된 활성을 길항할 수 있다. 예를 들어, 미성숙 래트에서 GnRH 자극된 LH 방출의 억제는 빌체즈-마르티네즈 (Vilchez-Martinez)의 방법 (문헌 [*Endocrinology 96*:1130-1134, 1975])에 따라 측정될 수 있다. 간략하게, 25일령의 수컷 스프라그-도울리 래트에게 경구 가바즈 (gavage), 피하 주사 또는 정맥내 주사에 의해서, 염수 또는 그 밖의 다른 적합한 제제 중의 GnRH 길항제를 투여한다. 이어서 0.2 ㎖의 염수 중의 200 ng의 GnRH를 피하 주사한다. 마지막 주사한 지 30분 후에, 동물을 단두시키고 체간 혈액 (trunk blood)을 수집한다. 원심분리한 후에, 분리된 혈장은 방사성면역검정에 의해서 LH 및(또는) FSH의 농도를 측정할 때까지 -20℃에서 저장한다 (이하 참고).

<u>GnRH 길항제의 래트 뇌하수체 전엽세포 배양 검정</u>

뇌하수체 전엽은 7-주령의 스프라그-도울리 래트로부터 수집하고, 수거된 글랜드 (gland)는 37℃에서 1.5시간 동안, 분산 플라스크 중에서 콜라게나제로 분해시킨다. 콜라게나제 분해시킨 후에, 글랜드는 37℃에서 9분 동안, 뉴라미니다제로 더 분해시킨다. 그후, 분해된 조직을 0.1% BSA/맥코이 (McCoy's) 5A 배지로 세척하고, 세척된 세포를 3% FBS/0.1 BSA/맥코이 5A 배지에 현탁시키고, 200 ㎕ 배지 중에서 웰당, 40,000개 세포의 세포 밀도로 96-웰 조직 배양 플레이트 상에서 평판배양한다. 그후, 세포를 37℃에서 3일 동안 인큐베이션한다. GnRH 길항제의 검정을 위해서, 인큐베이션된 세포를 우선 0.1% BSA/맥코이 5A 배지로 한번 세척하고, 이어서 3벌의 웰에서 200 ㎕의 0.1% BSA/맥코이 5A 배지 중의 1 nM GnRH와 시험 샘플을 첨가한다. 각각의 샘플을 5-용량 수준으로 검정하여 GnRH 자극된 LH 및(또는) FSH 방출의 억제에 대한 효력의 측정을 위한 투여량-반응 곡선을 작성한다. 37℃에서 4시간 배양한 후에, 배지를 수거하고, 배지 내로 분비된 LH 및(또는) FSH의 수준을 RIA에 의해서 측정한다.

<u>막결합 검정 1</u>

GnRH 수용체 발현 벡터에 의해서 안정적으로 또는 일시적으로 형질감염된 세포를 수거하고, 5% 수크로스 내에 재현탁시키고, 폴리트론 균질화기 (2×15초)를 사용하여 균질화시킨다. 핵을 원심분리 (5분 동안, 3000×g)에 의해서 제거하고, 상등액을 원심분리 (4℃에서 30분 동안, 20000×g)하여 막 분획을 수집한다. 최종 막 제제를 결합 완충액 (10 mM Hepes (pH 7.5), 150 mM NaCl, 및 0.1% BSA)에 재현탁시키고, -70℃에서 저장한다. 결합 반응은 폴리에틸렌이민 코팅된 GF/C 막을 갖는 밀리포어 멀티스크린 (Millipore Multiscreen) 96-웰 여과 플레이트 조립체에서 수행한다. 반응은 막 (130 ㎕의 결합 완충액 내의 40 ㎍의 단백질)을 다양한 농도로 50 ㎕의 [^{125}I]-표지된 GnRH 펩티드 (약 100,000 cpm) 및 20 ㎕의 경합제 (competitor)에 첨가함으로써 개시된다. 반응은 진공을 적용하고, 인산염 완충 염수로 세척 (2×)함으로써 90분 후에 종결된다. 결합된 방사활성은 96-웰 섬광계수기 (Packard Topcount)를 사용하거나, 플레이트로부터 필터를 분리하고 직접적인 감마 계수를 함으로써 측정된다. K_i 값은 프리즘 소프트웨어 패키지 (Prism software package; GraphPad Software)를 사용하여 경쟁적 결합 데이타로부터 비-선형 최소자승 회귀를 이용하여 계산된다.

막결합 검정 2

추가의 막결합 시험을 위해서, 안정적으로 형질감염된 HEK293 세포는 고정면에 대하여 조직 배양 플라스크를 부딪치게 함으로써 수거하고, 5분 동안 1000×g에서 원심분리하여 수집한다. 세포 펠릿을 5% 슈크로즈 내에 재현탁시키고, 2회의 15초 균질화 단계 동안에 폴리트론 균질화기를 사용하여 균질화시킨다. 그후, 세포 균질물을 5분 동안 3000×g으로 원심분리하여 핵을 제거하고, 이어서 상등액을 30분 동안 44,000×G으로 원심분리하여 막 분획을 수집한다. 막 펠릿을 GnRH 결합 완충액 (10 mM HEPES, pH 7.5, 150 mM NaCl 및 0.1% BSA)에 재현탁시키고, 분취액을 즉시 액체 질소 중에서 순간-동결시켜 -80℃에서 저장한다. 막 현탁액의 단백질 함량은 바이오-래드 (Bio-Rad) 단백질 검정 키트 (Bio-Rad, Hercules, CA)를 사용하여 측정한다.

막 제제를 사용한 경쟁적 방사성리간드 결합 검정은 200 ㎕의 0.1% 폴리에틸렌이민 (미국 미주리주 세인트 루이스에 소재하는 시그마(Sigma) 제품)으로 예비-코팅된 GF/C 막 필터를 사용하여 밀리포어 96-웰 여과 플레이트에서 수행한다. 사용하기 전에, 플레이트를 인산염 완충 염수 용액으로 3× 세척한다. GnRH 결합 완충액 (인간 및 짧은꼬리원숭이 수용체의 경우에는 25 ㎍의 단백질 또는 래트 수용체의 경우에는 12 ㎍의 단백질을 함유하는 130 ㎕) 내의 막 분획을 다양한 농도로 20 ㎕의 경쟁적 리간드와 함께 웰에 첨가한다. 결합 반응을 방사성리간드 (50 ㎕의 GnRH 결합 완충액 내의 0.1 nM)를 첨가함으로써 개시한다. 반응을 실온에서 플랫폼 진탕기 (platform shaker) 상에서 90분 동안 수행한 다음에, 밀리포어 진공 복합기 (미국 메사추세츠주 베드포드에 소재하는 밀리포어(Millipore) 제품) 상에 시험 플레이트를 배치시키고, 용매를 흡인하고, 웰을 200 ㎕의 빙냉 인산염 완충 염수 (PBS)로 세척함으로써 종결시킨다. 웰 내의 필터를 분리하여, 감마 계수기 내에서 계수한다. K_i 값은 각각의 경쟁적 결합 곡선으로부터 비-선형 최소자승 회귀를 이용하여 계산되고, 0.5 nM의 방사성리간드 친화성을 추정하는 쳉-프루소프 식 (Cheng-Prusoff equation) (프리즘(Prism), 미국 캘리포니아주 산 디에고에 소재하는 그래프패드 소프트웨어(GraphPad Software))을 사용하여 방사성리간드 농도에 대해서 보정한다. 평균 K_i 값은 각각의 수용체 리간드 쌍에 대한 pK_i 값의 평균의 안티로그 (antilog)로부터 계산된다.

막결합 검정 3

안정하게 형질감염된 인간 GnRH 수용체 RBL 세포를 합류하도록 성장시킨다. 배지를 제거하고, 세포 단일층을 DPBS로 한번 세척한다. 0.5 mM EDTA/PBS ($Ca^{++}Mg^{++}$ 무함유)의 용액을 플레이트에 첨가한 다음에, 플레이트를 37℃에서 10분 동안 인큐베이션한다. 세포를 플라스크를 온화하게 두드림으로써 탈락시킨다. 세포를 수집하여 4℃에서 10분 동안, 800 g으로 원심분리함으로써 펠릿화시킨다. 그후, 세포 펠릿을 완충액 [10 mM $MgCl_2$, 2 mM EGTA가 보충되고, NaOH에 의해서 pH=7.4로 된 DPBS (1.5 mM KH_2PO_4, 8.1 mM Na_2HPO_4, 2.7 mM KCl 및 138 mM NaCl)]에 재현탁시킨다. 그후, 세포 용해는 압력 셀 (pressure cell)을 사용하고, 4℃에서 30분 동안 900 psi의 압력으로 N_2를 적용하여 수행한다. 파괴되지 않은 세포 및 더 큰 파편은 4℃에서 10분 동안 1200 g으로 원심분리시킴으로써 제거한다. 그후, 세포막 상등액을 45,000 g으로 원심분리시키고, 생성된 막 펠릿을 검정 완충액에 재현탁시키고, 얼음 상에서 조직 균질화기를 사용하여 균질화시킨다. 단백질 농도는 표준품으로서 소혈청 알부민을 사용하여 쿠마시 플러스 단백질 시약 키트 (Coomassie Plus Protein Reagent kit)(미국 일리노이주 록폴드에 소재하는 피어스(Pierce) 제품)를 사용하여 측정한다. 펠릿을 분취하여, 사용할 때까지 -80℃에서 저장한다. 일정 범위의 단백질 농도를 사용한 적정 분석은 최적 단백질 농도가 웰당, 15 ㎍의 최종 농도인 것으로 결정하였다.

유니필터 (UniFilter) GF/C 필터 플레이트 (미국 메사추세츠주 보스톤에 소재하는 퍼킨 엘머(Perkin Elmer) 제품)를 증류수 중의 0.5% 폴리에틸렌이민의 용액으로 30분 동안 예비처리한다. 필터를 세포 수거기 (cell harvester)를 사용하여 웰당, 200 ㎕의 PBS, 1% BSA (분획 V) 및 0.01% 트윈-20 (pH= 7.4)으로 예비-세정한다. 막은 신속한 진공 여과에 의해서 수거하고, 250 ㎕의 빙냉 완충액 (PBS, 0.01% 트윈-20, pH= 7.4)으로 3회 세척한다. 플레이트를 공기 건조시키고, 50 ㎕의 섬광 유체 (마이크로신트(Microscint) 20; 팩커드(Packard) 제품)를 첨가하고, 플레이트를 톱카운트 (TopCount) NXT (미국 일리노이주에 소재하는 팩커드 인스트루먼츠(Packard Instruments) 제품)를 사용하여 방사활성에 대해서 모니터링한다.

결합 실험은 10 mM HEPES, 150 mM NaCl 및 0.1% BSA를 함유하는 완충액 (pH= 7.5) 중에서 수행한다. 막을 각각의 웰에서 200 ㎕의 총 부피에 대하여 30 pM 내지 10 μM 범위의 농도로 50 ㎕의 [^{125}I], His^5, D-Tyr^6 GnRH (0.2 nM 최종 농도) 및 50 ㎕의 소분자 경합제와 함께 인큐베이션한다. 인큐베이션은 실온에서 2시간 동안 수행한다. 반응은 전술한 바와 같이 GF/C 필터 상에서 신속하게 여과하여 종결시킨다. 곡선 피팅(fitting)은 엑셀 피트 (Excel Fit) 소프트웨어 (미국

캘리포니아주 에머리빌에 소재하는 IDBS 제품)를 사용하여 수행한다. K_i 값은 포화 결합 실험에서 미리 측정된 방사성리간드에 대한 0.7 nM의 Kd 값을 사용하여 쳉과 프루소프의 방법 (문헌 [Cheng and Prusoff, 1973])을 사용하여 계산한다.

Ca^{++} 유출 측정

인간 GnRH 수용체를 발현하는 세포에서 GnRH-자극된 칼슘 유출의 억제를 측정하기 위하여, 96-웰 플레이트를 인간 GnRH 수용체로 안정하게 형질감염된 RBL 세포로 50,000개 세포/웰의 밀도로 접종하고, 밤새 부착하도록 유지시킨다. 세포를 다음의 배지 내에서 37℃로 1시간 동안 로딩한다: 20 mM HEPES, 10% FBS, 2 μM 플루오-4, 0.02% 플루론산 및 2.5 mM 프로베네시드를 함유하는 DMEM. 세포를 로딩한 후에 세척 완충액 (행크스 평형화 염, 20 mM HEPES, 2.5 mM 프로베네시드)으로 4회 세척하고, 마지막 세척 후에 웰 내에 150 ㎕를 남긴다. GnRH를 FLIPR 완충액 (행크스 평형화 염, 20 mM HEPES)을 함유하는 0.1% BSA에 20 nM의 농도로 희석하고, 96-웰 플레이트 내에 분배시킨다 (낮은 단백질 결합). 다양한 농도의 길항제는 세번째 96-웰 플레이트에서 0.1% BSA/FLIPR 완충액 내에서 제조된다. GnRH 자극된 (20 nM 또는 최종 4 nM 50 ㎕) Ca^{++} 유출에 기인한 형광의 측정은 다양한 농도의 50 ㎕의 길항제와 함께 1분 인큐베이션한 후에 FLIPR 시스템 (Molecular Devices, 미국 캘리포니아주 서니베일에 소재하는 FLIPR384 시스템) 상에서 제조자 지침에 따라서 수행한다.

포스포이노시톨 가수분해 검정

이 방법은 공개된 프로토콜 (문헌 [W.Zhou et al.; *J. Biool. Chem. 207*(32), pp18853-18857, 1995])을 변형시킨 것이다. 간략하게, 인간 GnRH 수용체로 안정하게 형질감염된 RBL 세포를 24시간 동안, 24 웰 플레이트에 200,000 세포/웰의 밀도로 접종한다. 세포를 10% 투석된 FBS를 함유하는 이소니톨-무함유 배지로 한번 세척한 다음에, 1 μCi/㎖의 [*myo*-^{3}H]-이노시톨로 표지한다. 20 내지 24시간 후에, 세포를 완충액 (140 nM NaCl, 4 mM KCl, 20 mM Hepes, 8.3 mM 글루코스, 1 mM $MgCl_2$, 1 mM $CaCl_2$ 및 0.1% BSA)으로 세척하고, 다양한 농도의 길항제 및 10 mM LiCl이 존재 또는 부재하는 동일한 완충액 중에서 1시간 동안 37℃에서 천연 GnRH 펩티드로 처리한다. 세포를 4℃에서 30분 동안, 10 mM 포름산으로 추출하고, 다우엑스 (Dowex) AG1-X8 칼럼 상에 로딩하여 세척하고, 1 M 암모늄 포르메이트 및 0.1 M 포름산으로 용출시킨다. 용출액을 섬광계수기에서 계수한다. PI 가수분해 시험으로부터의 데이타를 프리즘 프로그램 (Prism program), (그래프패드(Graphpad), 미국 캘리포니아주 산 디에고에 소재하는 그래프패드 소프트웨어 제품)에 의해서 비-선형 최소자승 회귀를 사용하여 도시하고, 이것으로부터 투여량비를 또한 계산한다. 쉴드 선형 플롯 (Schild linear plot)은 4개의 독립적인 실험에서 수득된 투여량비로부터 선형회귀에 의해서 생성시키며, X-절편을 사용하여 길항제의 친화성을 측정한다.

거세 동물 연구

거세 동물의 연구는 GnRH 길항제의 효과에 대한 민감성 생체내 검정을 제공한다 (문헌 [*Andrology 25*: 141-147, 1993]). 뇌하수체에서 GnRH 수용체는 GnRH-자극된 LH 방출을 매개하여 순환시킨다. 거세는 생식선 스테로이드의 음성 피드백의 감소로 인하여 순환 LH의 증가된 수준을 제공함으로써 GnRH 자극된 LH 방출의 증가를 제공한다. 따라서, 거세 짧은꼬리원숭이에서 순환 LH 수준의 억제의 측정은 GnRH 길항작용의 민감성 생체내 척도로 사용될 수 있다. 따라서, 수컷 짧은꼬리원숭이를 수술에 의해서 거세하고, 4주일 동안 회복하도록 유지시키며, 이 시점에서 LH의 상승된 수준이 존재한다. 그후, 동물에게 시험 화합물을 경구로, 또는 i.v. 투여량으로 투여하고, LH의 측정을 위해서 일련의 혈액 샘플을 채취한다. 이들 동물로부터의 혈청 내의 LH 농도는 면역검정 또는 생물검정 기술에 의해서 측정할 수 있다 (문헌 [*Endocrinology 107*:902-907, 1980]).

GnRH 방사성리간드의 제조

GnRH 동족체를 클로라민-T 방법에 의해서 표지한다. 20 ㎕의 0.5 M 인산나트륨 완충액 (pH 7.6) 중의 10 ㎍의 펩티드에 1 mCi의 $Na^{125}I$를 첨가하고, 이어서 15 ㎕의 0.05 M 인산나트륨 완충액 중의 22.5 ㎍의 클로라민-T를 첨가하고, 혼합물을 20초 동안 볼텍싱한다. 반응을 30 ㎕의 0.05 M 인산나트륨 완충액 중의 60 ㎍의 나트륨 메타비술파이트를 첨가하여 중지시키고, 반응 혼합물을 C-8 Sep-Pak 카트리지 (미국 메사추세츠주 밀포드에 소재하는 밀리포어 코포레이션(Millipore Corp.) 제품)를 통해서 통과시킴으로써 방출 요오드를 제거한다. 펩티드를 소량의 80% 아세토니트릴/물로 용출시킨다. 회수된 표지된 펩티드는 0.1% TFA 중의 아세토니트릴의 구배를 사용하여 베크만 (Beckman) 334 구배 HPLC 시스템 상

의 바이댁 (Vydac) C-18 분석용 칼럼 (미국 캘리포니아주 헤스페리카에 소재하는 더 세퍼레이션스 그룹(The Separations Group) 제품) 상에서 역상 HPLC에 의해서 더 정제한다. 정제된 방사활성 펩티드는 -80℃에서 0.1% BSA/20% 아세토니트릴/0.1% TFA 중에서 저장하여, 4주일 이하 동안 사용할 수 있다.

LH 및 FSH의 RIA

LH 수준의 측정을 위해서는, 각각의 샘플 배지를 이중으로 검정하며, 모든 희석은 RIA 완충액 (0.01 M 인산나트륨 완충액/0.15 M NaCl/1% BSA/0.01% NaN_3, pH 7.5)을 사용하여 수행하고, 검정 키트는 NIDDK에 의해서 지원되는 내이션 호르몬 앤드 피츄이터리 프로그램 (Nation Hormone and Pituitary Program)으로부터 수득된다. 12×75 ㎜ 폴리에틸렌 시험관에 RIA 완충액 중의 100 ㎕의 1:5 희석된 샘플 배지 또는 rLH 표준품, 및 100 ㎕의 [^{125}I]-표지된 rLH (약 30,000 cpm)과 1:187,500으로 희석된 100 ㎕의 항토끼-rLH 및 100 ㎕의 RIA 완충액을 첨가한다. 혼합물을 실온에서 밤새 배양한다. 다음날에 1:20 희석된 100 ㎕의 항염소-토끼 IgG 및 1:1000 희석된 100 ㎕의 표준 토끼 혈청을 첨가하고, 혼합물을 실온에서 추가로 3시간 더 인큐베이션한다. 그 후, 배양된 시험관을 3,000 rpm으로 30분 동안 원심분리하고, 상등액은 흡인하여 제거한다. 시험관에 잔류하는 펠릿을 감마-계수기에서 계수한다. FSH의 RIA는 1:30,000으로 희석된 FSH 항체 및 표지된 rFSH에 의해서 표지된 rLH로 LH 항체를 대체하여 LH에 대한 시험과 유사한 방식으로 수행한다.

GnRH 수용체 길항제의 활성

GnRH 수용체 길항제의 활성은 일반적으로 GnRH 수용체로부터 50%의 방사성 표지된 리간드를 치환시키는데 필요한 화합물의 농도인 IC_{50}으로부터 계산되며, 다음의 수학식에 의해서 계산된 "K_i" 값으로 보고된다:

$$K_i = \frac{IC_{50}}{1+L/K_D}$$

여기에서 L은 방사성리간드이고, K_D는 수용체에 대한 방사성리간드의 친화성이다 (문헌 [Cheng and Prusoff, *Biochem. Pharmacol. 22*:3099, 1973]). 본 발명의 GnRH 수용체 길항제는 100 μM 또는 그 미만의 K_i를 갖는다. 본 발명의 바람직한 실시양태에서, GnRH 수용체 길항제는 10 μM 미만, 더욱 바람직하게는 1 μM 미만, 더 더욱 바람직하게는 0.1 μM (즉, 100 nM) 미만의 K_i를 갖는다. 따라서, 실시예에 구체적으로 기술된 모든 화합물은 상기의 막결합 시험 1 내지 3 중의 하나 이상에서 100 nM 미만의 K_i 값을 갖는다.

인간 간에서 주요 약물 대사성 효소, 즉 CYP2D6 및 CYP3A4를 억제하는 GnRH 길항제의 능력은 크레스피 (Crespi) 등에 의해서 기술된 미량역가판-기재 형광측정방법 (문헌 [*Anal. Biochem.* 248: 188-190; 1997])에 따라서 시험관내에서 평가될 수 있다. Km (즉, 최대 속도의 절반을 발생시키는 기질의 농도)에 해당하는 농도의 AMMC (즉, 3-[2-(N,N-디에틸-N-메틸암모늄)에틸]-7-메톡시-4-메틸쿠마린) 및 BFC (즉, 7-벤질옥시-4-(트리플루오로메틸)쿠마린)를 CYP2D6 및 CYP3A4 각각에 대한 마커 기질로 사용한다. 간략하게, 재조합 CYP2D6 또는 CYP3A4를 0.03, 0.09, 0.27, 0.82, 2.5, 7.4, 22, 67 및 200 μM의 샘플 GnRH 길항제의 존재 또는 부재 하에 37℃에서 마커 기질 및 NADPH 생성 시스템 (1 mM NADP+, 46 mM 글루코스-6-포스페이트 및 3 유니트/㎖의 글루코즈-6-포스페이트 데히드로게나제로 구성됨)과 함께 인큐베이션한다. 반응을 동일 부피의 아세토니트릴을 첨가함으로써 중지시킨다. 침전된 단백질을 원심분리에 의해서 제거하고, 투명한 상등액 유체는 미량역가판 형광측정계를 사용하여 분석한다. 본 발명의 GnRH 길항제는 바람직하게는 250 nM 초과, 더욱 바람직하게는 1 μM 초과, 가장 바람직하게는 5 μM 초과의 K_i 값을 갖는다.

상기 언급한 바와 같이, 본 발명의 GnRH 수용체 길항제는 넓은 범위의 치료학적 적용분야에 걸쳐서 유용성을 가지며, 일반적으로 포유동물뿐만 아니라, 남성 및 여성 모두에게서 다양한 성-호르몬 관련된 상태를 치료하기 위해서 사용될 수 있다. 예를 들어, 이러한 상태에는 자궁내막증, 자궁 유섬유종, 다낭성 난소질환, 다모증, 성조숙증, 전립선, 유방 및 난소의 암과 같은 생식선 스테로이드-의존성 신생물, 뇌하수체 생식선자극세포 선종, 수면성 무호흡, 과민성 대장증후군, 월경전 증후군, 양성 전립선 비대증, 피임 및 불임증 (예를 들어, 체외 수정과 같은 보조 생식 요법)이 포함된다.

본 발명의 화합물은 또한, 성장호르몬 결핍 및 저신장의 치료에 대한 보조제로서, 및 전신성 홍반성 루푸스의 치료에 유용하다.

또한, 화합물은 자궁내막증, 유섬유종의 치료 및 피임시에 안드로겐, 에스트로겐, 프로게스테론 및 안티에스트로겐 및 안티프로제스겐과의 조합, 및 자궁 유섬유종의 치료를 위해서 안지오텐신-전환효소 억제제, 안지오텐신 II-수용체 길항제 또는 레닌 억제제와의 조합으로도 유용하다. 또한, 화합물은 칼슘, 인 및 골 대사의 장애의 치료 및(또는) 예방을 위해서 비스포스포네이트 및 그 밖의 다른 약제와의 배합물로, 및 GnRH 길항제에 의한 치료 중에 일과성 열감과 같은 생식선기능저하 증상 또는 골손실의 예방 또는 치료를 위해서 에스트로겐, 프로게스테론 및(또는) 안드로겐과 조합으로 사용될 수 있다.

본 발명의 또 다른 실시양태로는 하나 또는 그 이상의 GnRH 수용체 길항제를 함유하는 제약 조성물이 기술된다. 투여의 목적으로, 본 발명의 화합물은 제약 조성물로 제제화될 수 있다. 본 발명의 제약 조성물은 본 발명의 GnRH 수용체 길항제 및 제약학적으로 허용되는 담체 및(또는) 희석제를 포함한다. GnRH 수용체 길항제는 특정한 질환을 치료하는데 효과적인 양으로, 즉 GnRH 수용체 길항제 활성을 얻고, 바람직하게는 환자에게 허용되는 독성을 갖는데 충분한 양으로 조성물 내에 존재한다. 일반적으로, 본 발명의 제약 조성물은 투여의 경로에 따라서 투여당, 0.1 ㎎ 내지 250 ㎎, 더욱 바람직하게는 1 ㎎ 내지 60 ㎎의 양으로 GnRH 수용체 길항제를 포함할 수 있다. 적절한 농도 및 투여량은 당업자에 의해서 쉽게 결정될 수 있다.

제약학적으로 허용되는 담체 및(또는) 희석제는 당업자에게 잘 알려져 있다. 액체 용액으로 제제화된 조성물의 경우에 허용되는 담체 및(또는) 희석제로는 염수 및 멸균수가 포함되며, 임의로 항산화제, 완충제, 정균제 및 그 밖의 통상적인 첨가제를 포함할 수도 있다. 조성물은 또한, GnRH 수용체 길항제 이외에도 희석제, 분산제 및 계면활성제, 결합제 및 윤활제를 함유하는 환제, 캡슐제, 과립제 또는 정제로 제제화될 수도 있다. 당업자는 또한, GnRH 수용체 길항제를 적절한 방식으로, 문헌 [*Remington's Pharmaceutical Sciences*, Gennaro, Ed., Mack Publishing Co., Easton, PA 199])에 기술된 것과 같은 허용되는 방법에 따라서 제제화할 수도 있다.

또 다른 실시양태에서, 본 발명은 상기 거론한 바와 같은 성-호르몬 관련된 상태를 치료하는 방법을 제공한다. 이러한 방법은 본 발명의 화합물을 상태를 치료하는데 충분한 양으로 온혈동물에게 투여하는 것을 포함한다. 이와 관련하여 "치료"에는 예방적 투여가 포함된다. 이러한 방법은 본 발명의 GnRH 수용체 길항제를 바람직하게는 상기 거론한 바와 같은 제약 조성물의 형태로 전신적 투여하는 것을 포함한다. 본 출원에서 사용된 것으로 전신적 투여에는 경구 및 비경구 투여방법이 포함된다. 경구 투여의 경우에, GnRH 수용체 길항제의 적합한 제약 조성물은 분말, 과립제, 환제, 정제 및 캡슐제, 및 액체, 시럽, 현탁제 및 에멀젼을 포함한다. 이들 조성물은 또한, 방향제, 보존제, 현탁화제, 증점제 및 유화제, 및 그 밖의 제약학적으로 허용되는 첨가제를 포함할 수도 있다. 비경구 투여의 경우에, 본 발명의 화합물은 GnRH 수용체 길항제에 더하여 완충제, 항산화제, 정균제, 및 이러한 용액에서 통상적으로 사용되는 그 밖의 첨가제를 함유할 수 있는 주사용 수용액으로 제조될 수 있다.

이하의 실시예는 제한하는 것이 아닌 설명을 목적으로 제시된 것이다. 요약하면, 본 발명의 GnRH 수용체 길항제는 상술한 일반적 방법에 의해서 시험되는 반면에, 이하의 실시예는 본 발명의 대표적 화합물의 합성을 기술한 것이다.

실시예

샘플을 분석하기 위한 HPLC 방법, 체류시간 t_R (분)

방법 1 -- 초임계 유체 크로마토그래피 질량 스펙트럼 (SFC-MS)

칼럼: 터모-하이퍼실-키스톤 (Thermo-Hypersil-Keystone)으로부터의 4.6×150 ㎜ 델타본드 시아노 (Deltabond Cyano) 5 μM

이동상: 1 mM 디나트륨 디에틸말로네이트 개질제를 함유하는 SFC 등급 이산화탄소 및 최적 등급 메탄올

온도: 50℃

압력: 120 bar

유속: 4.8 ㎖/분

구배: 1.7분에 걸쳐서 5%에서 55%까지의 메탄올, 그 다음에 0.8분 동안 55%에서 유지시킨 후, 0.1분 내에 5%로 복귀하여 총 운전 시간 2.6분

방법 2 (HPLC-MS)

칼럼: 워터스 (Waters) ODS-AQ, 2.0×50 ㎜

이동상: A= 0.05% 트리플루오로아세트산을 함유하는 물; B= 0.05% 트리플루오로아세트산을 함유하는 아세토니트릴

구배: 13.25분에 걸쳐서 95% A/5% B에서 5% A/95% B까지로 하고, 그 다음에 2분 동안 5% A/95% B로 유지시킨 후, 0.25분에 걸쳐서 95% A/5% B로 복귀시킴

유속: 1 ㎖/분

UV 파장: 220 및 254 nM

방법 3 (HPLC-MS)

칼럼: BHK 랩 (Lab) ODS-O/B, 4.6×50 ㎜, 5 μM

이동상: A= 0.05% 트리플루오로아세트산을 함유하는 물; B= 0.05% 트리플루오로아세트산을 함유하는 아세토니트릴

구배: 0.5분 동안은 95% A/5% B로 한 다음에, 0.05분 동안 90% A/10% B로 하고, 18.94분에 걸쳐서 90% A/10% B에서 5% A/95% B까지로 하고, 그 다음에 0.05분에 걸쳐서 1% A/99% B로 하여 2.16분 동안 1% A/99% B로 유지시킨 후에, 0.50분에 걸쳐서 95% A/5% B로 복귀시킴

유속: 2.5 ㎖/분

UV 파장: 220 및 254 nM

방법 4 (HPLC-MS)

칼럼: 워터스 ODS-AQ, 2.0×50 ㎜

이동상: A= 0.05% 트리플루오로아세트산을 함유하는 물; B= 0.05% 트리플루오로아세트산을 함유하는 아세토니트릴

구배: 2.25분에 걸쳐서 95% A/5% B에서 10% A/90% B까지로 하고, 그 다음에 1.0분에 걸쳐서 10% A/90% B로 유지시킨 후, 0.1분에 걸쳐서 95% A/5% B로 복귀시킴

유속: 1 ㎖/분

UV 파장: 220 및 254 nM

방법 5 (HPLC)

칼럼: 에질런트 (Agilent), 조르박스 (Zorbax) SB-C18, 5 μM, 4.6×250 ㎜

이동상: A= 0.05% 트리플루오로아세트산을 함유하는 물; B= 0.05% 트리플루오로아세트산을 함유하는 아세토니트릴

구배: 50분에 걸쳐서 95% A/5% B에서 5% A/95% B까지로 하고, 그 다음에 0.1분에 걸쳐서 5% A/95% B에서 1% A/99% B까지로 한 다음에, 0.8분 동안 1% A/99% B로 유지시킨 후, 0.2분에 걸쳐서 95% A/5% B로 복귀시키고, 이러한 구배를 4분 동안 유지시킴

유속: 2.0 ㎖/분

UV 파장: 220 및 254 nM

방법 6 (HPLC-MS)

칼럼: 페노메넥스 시너지 (Phenomenex Synergi) 4 μ 맥스 (Max)-RP 80A, 50.0×2.0 ㎜

이동상: A= 0.025% 트리플루오로아세트산을 함유하는 물; B= 0.025% 트리플루오로아세트산을 함유하는 아세토니트릴

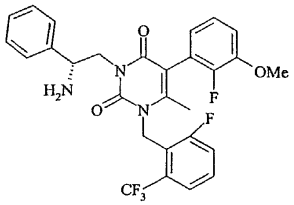
구배: 0.25분 동안 95% A/5% B로 한 다음에, 13분에 걸쳐서 95% A/5% B에서 95% B/5% A까지로 하고, 2분에 걸쳐서 95% A/5% B에서 95% B/5% A까지로 유지시킨 다음에, 0.25분 동안 95% A/5% B로 복귀시킴

유속: 1 ㎖/분

UV 파장: 220 및 254 nM

실시예 1

3-[2(R)-아미노-2-페닐에틸]-5-(2-플루오로-3-메톡시페닐)-1-[2-플루오로-6-(트리플루오로메틸)벤질]-6-메틸-피리미딘-2,4(1H,3H)-디온



1-1

단계 1A: 2-플루오로-6-(트리플루오로메틸)벤질아민 1a의 제조

60 ㎖의 THF 중의 2-플루우로-6-(트리플루오로메틸)벤조니트릴 (45 g, 0.238 mmol)에 60℃에서 1 M BH_3:THF를 서서히 첨가하고, 생성된 용액을 밤새 환류시켰다. 반응 혼합물을 주위 온도로 냉각시켰다. 메탄올 (420 ㎖)을 서서히 첨가하고, 잘 교반하였다. 그 후, 용매를 증발시키고, 잔류물을 EtOAc와 물 사이에 분배시켰다. 유기층을 Na_2SO_4 상에서 건조시켰다. 증발시켜 황색 오일로서 1a를 수득하였다 (46 g, 0.238 mmol). MS (CI) *m/z* 194.0 (MH^+).

단계 1B: N-[2-플루오로-6-(트리플루오로메틸)벤질]우레아 1b의 제조

플라스크 내의 2-플루오로-6-(트리플루오로메틸)벤질아민 1a에 우레아 (64 g, 1.07 mmol), HCl (농축, 30.9 mmol, 0.374 mmol) 및 물 (111 ㎖)을 첨가하였다. 혼합물을 6시간 동안 환류시켰다. 혼합물을 주위 온도로 냉각시키고, 얼음으로 더 냉각시킨 다음에 여과하여 황색 고체를 수득하였다. 400 ㎖의 EtOAc로 재결정화시켜 백색 고체로서 1b를 수득하였다 (46.2 g, 0.196 mmol). MS (CI) *m/z* 237.0 (MH^+).

단계 1C: 1-[2-플루오로-6-(트리플루오로메틸)벤질]-6-메틸피리미딘-2,4(1H,3H)-디온 1c의 제조

NaI (43.9 g, 293 mmol)를 365 ㎖의 아세토니트릴 중의 N-[2-플루오로-6-(트리플루오로메틸)벤질]우레아 1b (46.2 g, 19.6 mmol)에 첨가하였다. 생성된 혼합물을 빙수욕 중에서 냉각시켰다. 디케텐 (22.5 ㎖, 293 mmol)을 적하 깔때기를 통해서 서서히 첨가한 후에, 동일한 방식으로 TMSCl (22.5 ㎖, 293 mmol)을 첨가하였다. 생성된 황색 현탁액을 서서히 실

온으로 가온하고, 20시간 동안 교반하였다. LC-MS는 출발 물질의 소실을 나타내었다. 황색 혼합물에 525 ㎖의 물을 첨가하고, 밤새 교반하였다. 추가로 20시간 동안 교반한 후에 침전물을 부흐너 (Buchnner) 깔때기를 통해서 여과하고, 황색 고체를 물 및 EtOAc로 세척하여 백색 고체로서 1c를 수득하였다 (48.5 g, 16 mmol).

^{1}H NMR ($CDCl_3$) δ 2.152 (s, 3H), 5.365 (s, 2H), 5.593 (s, 1H), 7.226-7.560 (m, 3H), 9.015 (s, 1H); MS (CI) *m/z* 303.0 (MH^+).

단계 1D: 5-브로모-1-[2-플루오로-6-(트리플루오로메틸)벤질]-6-메틸피리미딘-2,4(1H,3H)-디온 1d의 제조

브롬 (16.5 ㎖, 0.32 mmol)을 145 ㎖의 아세트산 중의 1-[2-플루오로-6-(트리플루오로메틸)벤질]-6-메틸피리미딘-2,4(1H,3H)-디온 1c (48.5 g, 0.16 mmol)에 첨가하였다. 생성된 혼합물은 투명하게 된 다음에 1시간 이내에 침전물을 형성하였다. 2시간 동안 교반한 후에, 황색 고체를 여과하고 거의 백색인 고체가 될 때까지 냉 EtOAc로 세척하였다. 여액을 포화 $NaHCO_3$로 세척하고, Na_2SO_4 상에서 건조시켰다. 증발시켜서 황색 고체를 수득하고, 이것을 EtOAc로 세척하여 밝은 황색 고체를 수득하였다. 두개의 고체를 합하여 총 59.4 g의 1d를 수득하였다.

^{1}H NMR ($CDCl_3$) δ 2.422 (s, 3H), 5.478 (s, 2H), 7.246-7.582 (m, 3H), 8.611 (s, 1H); MS (CI) *m/z* 380.9 (MH^+).

5-브로모-1-[2,6-디플루오로벤질]-6-메틸피리미딘-2,4(1H,3H)-디온 1d.1을 동일한 방법을 사용하여 제조하였다.

단계 1E: 5-브로모-1-[2-플루오로-6-(트리플루오로메틸)벤질]-6-메틸-3-[2(R)-tert-부톡시카르보닐아미노-2-페닐에틸]-피리미딘-2,4(1H,3H)-디온 1e의 제조

225 ㎖의 THF 중의 5-브로모-1-[2-플루오로-6-(트리플루오로메틸)벤질]-6-메틸피리미딘-2,4(1H,3H)-디온 1d (15 g, 39.4 mmol)에 N-t-Boc-D-페닐글리시놀 (11.7 g, 49.2 mmol) 및 트리페닐포스핀 (15.5 g, 59.1 mmol)을 첨가하고, 이어서 디-tert-부틸 아조디카르복실레이트 (13.6 g, 59.1 mmol)를 첨가하였다. 생성된 황색 용액을 밤새 교반하였다. 휘발성 물질을 증발시키고, 잔류물을 3:7 EtOAc/헥산을 사용하여 실리카겔에 의해서 정제하여 백색 고체로서 1e를 수득하였다 (23.6 g, 39.4 mmol). MS (CI) *m/z* 500.0 (MH^+-Boc).

단계 1F: 3-[2(R)-아미노-2-페닐에틸]-5-(2-플루오로-3-메톡시페닐)-1-[2-플루오로-6-(트리플루오로메틸)벤질]-6-메틸-피리미딘-2,4(1H,3H)-디온 1f의 제조

압력관 내에서 30 ㎖/90 ㎖의 H_2O/디옥산 중의 5-브로모-1-[2-플루오로-6-(트리플루오로메틸)벤질]-6-메틸-3-[2(R)-tert-부톡시카르보닐아미노-2-페닐에틸]-피리미딘-2,4(1H,3H)-디온 1e (15 g, 25 mmol)에 2-플루오로-3-메톡시페닐보론산 (4.25 g, 25 mmol) 및 탄산나트륨 (15.75 g, 150 mmol)을 첨가하였다. N_2 가스를 10분 동안 버블링시켰다. 테트라키스(트리페닐포스핀)팔라듐 (2.9 g, 2.5 mmol)을 첨가하고, 압력관을 밀봉하고, 생성된 혼합물을 90℃에서 교반하면서 밤새 가열하였다. 주위 온도로 냉각시킨 후에, 침전물을 여과에 의해서 제거하였다. 휘발성 물질을 증발시켜 제거하고, 잔류물을 EtOAc/포화 $NaHCO_3$ 사이에 분배시켰다. 유기 용매를 증발시키고, 잔류물을 2:3 EtOAc/헥산을 사용하여 크로마토그래피시켜 13.4 g (20.8 mmol, 83%)의 황색 고체를 수득하였다.

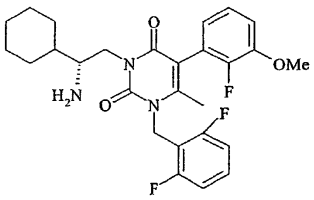
이 황색 고체 (6.9 g, 10.7 mmol)를 20 ㎖/20 ㎖ CH_2Cl_2/TFA에 용해시켰다. 생성된 황색 용액을 실온에서 2시간 동안 교반하였다. 휘발성 물질을 증발시키고, 잔류물을 EtOAc/포화 $NaHCO_3$ 사이에 분배시켰다. 유기상을 Na_2SO_4 상에서 건조시켰다. 증발시켜 황색 오일로서 1f를 수득하였다 (4.3 g, 7.9 mmol, 74%).

^{1}H NMR ($CDCl_3$) δ 2.031 (s, 3H), 3.724-4.586 (m, 6H), 5.32-5.609 (m, 2H), 6.736-7.558 (m, 11H); MS (CI) *m/z* 546.0 (MH^+).

3-[2(R)-아미노-2-페닐에틸]-5-(2-플루오로-3-메톡시페닐)-1-[2,6-디플루오로벤질]-6-메틸-피리미딘-2,4(1H,3H)-디온 If.1을 본 실시예에 기술된 것과 동일한 방법을 사용하여 제조하였다.

실시예 2

3-[2(R)-아미노-2-시클로헥실에틸]-5-(2-플루오로-3-메톡시페닐)-1-[2,6-디플루오로벤질]-6-메틸-피리미딘-2,4(1H,3H)-디온



단계 2A: tert-부틸 1-시클로헥실-2-히드록시에틸카바메이트 2a의 제조

무수 THF (10 ㎖) 중의 N-(t-부틸옥시카르보닐)시클로헥실글리신 (2.0 g, 7.77 mmol)의 용액을 0℃로 냉각시켰다. 보란 용액 (THF 중의 1 M, 15.5 ㎖, 15.5 mmol)을 서서히 첨가하고, 반응 혼합물을 실온으로 가온하고 2시간 동안 교반하였다. 반응물을 MeOH (5 ㎖)로 켄칭하고, 휘발성 물질을 증발시키고, 잔류물을 물과 EtOAc 사이에 분배시켰다. 유기상을 포화 $NaHCO_3$/물 및 염수로 세척하고, 건조시키고 (황산나트륨) 증발시켜 tert-부틸 1-시클로헥실-2-히드록시에틸카바메이트 2a를 수득하였다 (1.26 g, 66.7%). MS (CI) *m/z* 144.20 (MH^+-Boc).

단계 2B: 5-브로모-3-[2(R)-tert-부톡시카르보닐아미노-2-시클로헥실에틸]-1-[2,6-디플루오로벤질]-6-메틸-피리미딘-2,4(1H,3H)-디온 2b의 제조

THF (10 ㎖) 중의 tert-부틸 1-시클로헥실-2-히드록시에틸카바메이트 4a (638 ㎎, 2.62 mmol)의 용액을 주위 온도에서 5-브로모-1-(2,6-디플루오벤질)-6-메틸피리미딘-2,4(1H,3H)-디온 1d.1 (869 ㎎, 2.62 mmol) 및 트리페닐포스핀 (1.03 g, 3.93 mmol)으로 처리한 다음에, 디-tert-부틸아조디카르복실레이트 (906 ㎎, 3.93 mmol)를 도입하였다. 반응 혼합물을 주위 온도에서 16시간 동안 교반하고, 휘발성 물질을 증발시켰다. 잔류물을 포화 $NaHCO_3$/H_2O와 EtOAc 사이에 분배시켰다. 유기층을 건조시키고 (황산나트륨), 증발시키고 플래쉬 크로마토그래피 (실리카, 25% EtOAc/헥산)에 의해서 정제하여 화합물 2b를 수득하였다 (1.39 g, 95.4%). MS (CI) *m/z* 456.10, 458.10 (MH^+-Boc).

단계 2C: 3-[2(R)-tert-부톡시카르보닐아미노-2-시클로헥실에틸]-5-(2-플루오로-3-메톡시페닐)-1-[2,6-디플루오로벤질]-6-메틸-피리미딘-2,4(1H,3H)-디온 2c의 제조

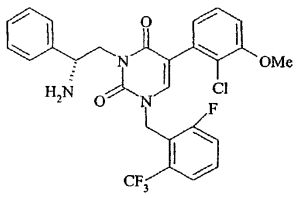
벤젠/EtOH/에틸렌 글리콜 디메틸 에테르 (20/2/22 ㎖) 중의 5-브로모-3-[2(R)-tert-부톡시카르보닐아미노-2-시클로헥실에틸]-1-[2,6-디플루오로벤질]-6-메틸-피리미딘-2,4(1H,3H)-디온 2b (1.0 g, 1.79 mmol)에 2-플루오로-3-메톡시페닐보론산 (382 ㎎, 2.24 mmol) 및 포화 $Ba(OH)_2$/물 (약 0.5 M, 15 ㎖)을 첨가하였다. 반응 혼합물을 10분 동안 N_2로 탈산소화시키고, 테트라키스(트리페닐포스핀)팔라듐 (O) (208 ㎎, 0.18 mmol)을 첨가하고, 반응 혼합물을 N_2 하에 80℃에서 밤새 가열하였다. 반응 혼합물을 염수와 EtOAc 사이에 분배시켰다. 유기층을 건조시키고 (황산나트륨), 증발시키고 플래쉬 크로마토그래피 (실리카, 30% EtOAc/헥산)에 의해서 정제하여 화합물 2c를 수득하였다 (348 ㎎, 32.3%). MS (CI) *m/z* 502.20 (MH^+-Boc).

단계 2D: 3-[2(R)-아미노-2-시클로헥실에틸]-5-(2-플루오로-3-메톡시페닐)-1-[2,6-디플루오로벤질]-6-메틸-피리미딘-2,4(1H,3H)-디온 2d의 제조

디클로로메탄 (DCM, 2 ㎖) 중의 화합물 2c (300 ㎎, 0.5 mmol)에 TFA (2 ㎖)를 첨가하고, 반응 혼합물을 주위 온도에서 1시간 동안 교반하였다. 휘발성 물질을 증발시키고, 잔류물을 포화 $NaHCO_3$/물과 EtOAc 사이에 분배시켰다. 유기층을 건조시키고 (황산나트륨), 증발시키고 역상 HPLC (C-18 칼럼, 15-75% ACN/물)에 의해서 정제하여 화합물 2d를 수득하였다. MS (CI) *m/z* 502.20 (MH^+).

실시예 3

3-[2(R)-아미노-2-페닐에틸]-5-(2-클로로-3-메톡시페닐)-1-[2-플루오로-6-(트리플루오로메틸)벤질]피리미딘-2,4(1H,3H)-디온



단계 3A: 2-클로로-3-메톡시벤즈알데히드 3a의 제조

HOAc (40 ㎖) 중의 3-히드록시벤즈알데히드 (20.12 g, 160 mmol)의 현탁액에 tBuOCl (20 ㎖, 176 mmol)을 교반하면서 주의해서 첨가하였다. 반응물은 투명한 용액으로 되고 강한 발열반응이 일어났다. 이것을 냉각시키고 16시간 동안 교반하여 백색 침전물을 생성시켰다. 고체를 여과하고, H_2O로 세척하고 건조시켜 2-클로로-3-히드록시벤즈알데히드를 수득하였다 (13.77 g, 55%). GCMS (EI) *m/z* 156, 158 (M^+).

DMF (30 ㎖) 중의 2-클로로-3-히드록시벤즈알데히드 (4.55 g, 29 mmol)의 용액에 K_2CO_3 (4.8 g, 34.9 mmol)를 첨가하고, 이어서 MeI (2.7 ㎖, 43.6 mmol)를 첨가하고, 혼합물을 실온에서 16시간 동안 교반하였다. 진공 중에서 농축시킨 후에, 잔류물을 에틸 아세테이트에 녹이고 H_2O 및 염수로 세척하고, Na_2SO_4 상에서 건조시키고 농축시켰다. 에틸 아세테이트/헥산 1/5를 사용하여 실리카겔 상에서 칼럼 크로마토그래피시켜 정제하여, 정치시 고화하는 무색 오일로서 2-클로로-3-메톡시벤즈알데히드 3a를 수득하였다 (4.68 g, 94%). GCMS (EI) *m/z* 170, 172 (M^+).

단계 3B: 2-클로로-1-메톡시-3-[2-(메틸술파닐)-2-(메틸술피닐)비닐]벤젠 3b의 제조

THF (25 ㎖) 중의 2-클로로-3-메톡시벤즈알데히드 3a (4.65 g, 27.3 mmol) 및 메틸 (메틸티오)메틸 술폭시드 (4.3 ㎖, 43.9 mmol)의 용액에 트리톤 B의 40% 메탄올성 용액 (6.2 ㎖, 13.6 mmol)을 첨가하고, 생성된 용액을 16시간 동안 환류시켰다. THF를 제거한 후에, 잔류물을 에틸 아세테이트에 녹이고, 1 N HCl, H_2O 및 염수로 세척한 다음에, Na_2SO_4 상에서 건조시키고 농축시켰다. 디클로로메탄을 사용하여 실리카겔 상에서 칼럼 크로마토그래피시켜 정제하여 황색 오일로서 2-클로로-1-메톡시-3-[2-(메틸술파닐)-2-(메틸술피닐)비닐]벤젠 3b를 수득하였다 (3.61 g, 48%). GCMS (EI) *m/z* 225 (M^+-Cl-16), 210 (M^+-Cl-OMe).

단계 3C: 에틸 (2-클로로-3-메톡시페닐)아세테이트 7c의 제조

에탄올 (20 ㎖) 중의 2-클로로-1-메톡시-3-[2-(메틸술파닐)-2-(메틸술피닐)비닐]벤젠 3b (3.58 g, 12.9 mmol)의 용액에 HCl의 5 M 에탄올성 용액 (5.2 ㎖)을 첨가하고, 생성된 용액을 3시간 동안 환류시켰다. 증발시킨 후에, 잔류물을 디클로로메탄을 사용하여 실리카겔 상에서 칼럼 크로마토그래피시켜 정제하여 황색 오일로서 에틸 (2-클로로페닐-3-메톡시페닐)아세테이트 3c를 수득하였다 (2.78 g, 94%). GCMS (EI) *m/z* 228, 230 (M^+).

단계 3D: 에틸 2-(2-클로로-3-메톡시페닐)-3-(디메틸아미노)아크릴레이트 3d의 제조

DMFDMA (16 ㎖, 120 mmol) 중의 에틸 (2-클로로-3-메톡시페닐)아세테이트 3c (2.78 g, 12 mmol)의 용액을 16시간 동안 환류시켰다. 증발시킨 후에, 잔류물을 에틸 아세테이트/헥산 1/2 내지 1/1을 사용하여 실리카겔 상에서 칼럼 크로마토그래피시켜 정제하여 일차적으로 미반응 에틸 (2-클로로-3-메톡시페닐)아세테이트 3c (1.8 g, 65%)를 수득한 다음에, 황색 시럽으로서 에틸 2-(2-클로로-3-메톡시페닐)-3-(디메틸아미노)아크릴레이트 3d (1.1 g, 32%; 회수된 출발 물질을 기준으로 하여 90%)를 수득하였다. MS (CI) *m/z* 284.0, 286.0 (MH^+).

단계 3E: 5-(2-클로로-3-메톡시페닐)피리미딘-2,4(1H,3H)-디온 3e의 제조

아세토니트릴 (20 ㎖) 중의 에틸 2-(2-클로로-3-메톡시페닐)-3-(디메틸아미노)아크릴레이트 3d (1.7 g, 6 mmol), 우레아 (1.08 g, 18 mmol) 및 NaI (2.7 g, 18 mmol)의 혼합물에 TMSCl (2.3 ㎖, 18 mmol)을 첨가하였다. 생성된 혼합물을 16시간 동안 환류시키고, 실온으로 냉각시켜 1.0 M NaOH (30 ㎖)를 첨가하였다. 생성된 용액을 20시간 동안 교반하고, 아세토니트릴을 진공 중에서 제거하였다. 수용액을 에테르로 세척하고, 빙욕 중에서 냉각시키고, 1 N HCl (30 ㎖)로 중화시켰다. 침전물을 여과하여 추가의 H_2O로 세척하고, 건조시켜 담황색 고체로서 5-(2-클로로-3-메톡시페닐)피리미딘-2,4(1H,3H)-디온 3e를 수득하였다 (1.24 g, 82%). MS (CI) *m/z* 253.1, 255.1 (MH^+).

단계 3F: 5-(2-클로로-3-메톡시페닐)-1-[2-플루오로-6-(트리플루오로메틸)벤질]-피리미딘-2,4(1H,3H)-디온 3f의 제조

아세토니트릴 (25 ㎖) 중의 5-(2-클로로-3-메톡시페닐)피리미딘-2,4(1H,3H)-디온 3e (2.2 g, 8.7 mmol)의 현탁액에 비스(트리메틸실릴)아세트아미드 (4.3 ㎖, 17.4 mmol)를 첨가하고, 생성된 용액을 1.5시간 동안 환류시켰다. 혼합물을 실온으로 냉각시키고, 2-플루오로-3-트리플루오로메틸벤질 브로마이드 (2.7 g, 10.5 mmol)를 첨가하고, 환류를 16시간 동안 다시 계속하였다. 반응물을 MeOH (25 ㎖)를 첨가하고 2시간 동안 교반함으로써 켄칭하였다. 농축시킨 후에, 잔류물을 에틸 아세테이트/헥산 1/1을 사용하여 실리카겔 상에서 칼럼 크로마토그래피시켜 정제하여 백색 고체로서 5-(2-클로로-3-메톡시페닐)-1-[2-플루오로-6-(트리플루오로메틸)벤질]피리미딘-2,4(1H,3H)-디온 3f를 수득하였다 (3.3 g, 88%). MS (CI) *m/z* 429.0, 431.0 (MH^+).

단계 3G: 3-[2(R)-(tert-부톡시카르보닐아미노)-2-페닐에틸]-5-(2-클로로-3-메톡시페닐)-1-[2-플루오로-6-(트리플루오로메틸)벤질]-피리미딘-2,4(1H,3H)-디온 3g의 제조

DMF (2 ㎖) 중의 5-(2-클로로-3-메톡시페닐)-1-[2-플루오로-6-(트리플루오로메틸)벤질]피리미딘-2,4(1H,3H)-디온 3f (75 ㎎, 0.175 mmol), K_2CO_3 (72 ㎎, 0.525 mmol) 및 N-(t-부톡시카르보닐)-D-α-페닐글리시놀 메실레이트 (0.11 g, 0.35 mmol, THF 중에서 N-(t-부틸옥시카르보닐)-D-α-페닐글리시놀로부터 메탄설포닐 클로라이드 및 트리에틸아민을 첨가함으로써 제조됨)의 혼합물을 16시간 동안 75℃에서 가열하였다. 반응물을 에틸 아세테이트로 희석하고, H_2O 및 염수로 세척하고, Na_2SO_4 상에서 건조시키고 농축시켰다. 잔류물을 에틸 아세테이트/헥산 2/3을 사용하여 실리카겔 상에서 칼럼 크로마토그래피시켜 정제하여 백색 고체로서 화합물 3g를 수득하였다 (82 ㎎, 72%). MS (CI) *m/z* 548.0, 550.0 (MH^+-Boc).

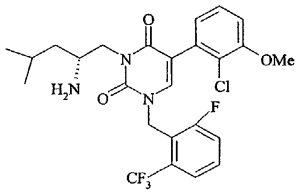
단계 3H: 3-[2(R)-아미노-2-페닐에틸]-5-(2-클로로-3-메톡시페닐)-1-[2-플루오로-6-(트리플루오로메틸)벤질]-피리미딘-2,4(1H,3H)-디온 3h의 제조

화합물 3g (2.7 g, 4.2 mmol)를 디클로로메탄 (10 ㎖)에 용해시키고, TFA (14 ㎖, 175 mmol)를 첨가하고, 혼합물을 실온에서 4.5시간 동안 교반하였다. 농축시킨 후에, 잔류물을 DCM에 녹이고, 포화 수성 $NaHCO_3$를 첨가하였다. 수성층을 DCM으로 추출하였다. 유기 추출물을 합하여 Na_2SO_4 상에서 건조시키고 농축시켜 화합물 3h를 수득하였다 (2.2 g, 96%). MS (CI) *m/z* 548.0, 550.0 (MH^+).

3-[2(R)-아미노-2-페닐에틸]-5-(2-클로로-3-메톡시페닐)-1-[2,6-디플루오로벤질]피리미딘-2,4(1H,3H)-디온 3h.1을 상기 제시된 방법을 사용하여 적절한 출발 물질로 치환시킴으로써 제조하였다.

실시예 4

3-[2(R)-아미노-2-(이소부틸)에틸]-5-(2-클로로-3-메톡시페닐)-1-[2-플루오로-6-(트리플루오로메틸)벤질]-피리미딘-2,4(1H,3H)-디온



단계 4A: 3-[2(R)-{tert-부톡시카르보닐-아미노}-2-(이소부틸)에틸]-5-(2-클로로-3-메톡시페닐)-1-[2-플루오로-6-(트리플루오로메틸)벤질]-피리미딘-2,4(1H,3H)-디온 4a의 제조

피리딘 (6 ㎖) 중의 N-(t-부틸옥시카르보닐)-D-α-류시놀 (1.21 g, 5.57 mmol)의 용액에 토실 클로라이드 (1.6 g, 8.35 mmol)를 첨가하였다. 반응 혼합물을 3시간 동안 실온에서 교반하고, EtOAc로 희석하고, 1 N HCl, H_2O, 포화 수성 $NaHCO_3$ 및 염수로 순차적으로 세척하였다. 유기층을 Na_2SO_4 상에서 건조시키고, 농축시키고, 에틸 아세테이트/헥산 1/3을 사용하여 실리카겔 상에서 칼럼 크로마토그래피시켜 정제하여 [3-메틸-1-[[[(4-메틸페닐)설포닐]옥시]메틸]부틸-1,1-디메틸에틸 카르밤산 에스테르를 수득하였다 (1.66 g, 80%), MS (CI) *m/z* 272.2 (MH^+-Boc).

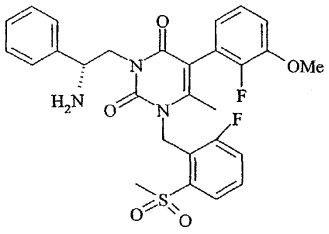
DMF (2 ㎖) 중의 5-(2-클로로-3-메톡시페닐)-1-[2-플루오로-6-(트리플루오로메틸)벤질]-피리미딘-2,4(1H,3H)-디온 3f (56 ㎎, 0.13 mmol), K_2CO_3 (754 ㎎, 0.39 mmol) 및 [3-메틸-1-[[[(4-메틸페닐)설포닐]옥시]메틸]부틸]-1,1-디메틸에틸 카르밤산 에스테르 (97 ㎎, 0.26 mmol)의 혼합물을 95℃에서 16시간 동안 가열하였다. 반응물을 에틸 아세테이트로 희석하고, H_2O 및 염수로 세척하고, Na_2SO_4 상에서 건조시키고 농축시켰다. 잔류물을 에틸 아세테이트/헥산 1/1을 사용하여 실리카겔 상에서 칼럼 크로마토그래피시켜 정제하여 회수된 [3-메틸-1-[[[(4-메틸페닐)설포닐]옥시]메틸]부틸]-1,1-디메틸에틸 카르밤산 에스테르 (30 ㎎, 54%) 및 화합물 4a (30 ㎎, 37%)를 수득하였다. MS (CI) *m/z* 528.0, 530.0 (MH^+-Boc).

단계 4B: 3-[2(R)-아미노-2-(이소부틸)에틸]-5-(2-클로로-3-메톡시페닐)-1-[2-플루오로-6-(트리플루오로메틸)벤질]-피리미딘-2,4(1H,3H)-디온 4b의 제조

DCM (1 ㎖) 중의 화합물 4a (30 ㎎, 0.048 mmol)의 용액에 TFA (0.1 ㎖, 1.3 mmol)를 첨가하고, 1.5시간 동안 실온에서 교반하였다. 농축시킨 후에, 잔류물을 DCM에 녹이고 포화 수성 $NaHCO_3$를 첨가하였다. 수성층을 DCM으로 추출하였다. 유기 추출물을 합하여 Na_2SO_4 상에서 건조시키고, 농축시켜 화합물 4b를 수득하였다. MS (CI) *m/z* 528.0, 530.0 (H^+).

실시예 5

3-[2(R)-아미노-2-페닐에틸]-5-(2-플루오로-3-메톡시페닐)-1-[2-플루오로-6-메틸설포닐벤질]-6-메틸-피리미딘-2,4(1H,3H)-디온



단계 5A: 3-[2(R)-tert-부톡시카르보닐아미노-2-페닐에틸]-5-(2-플루오로-3-메톡시페닐)-1-[2,6-디플루오로벤질]-6-메틸-피리미딘-2,4(1H,3H)-디온 5a의 제조

디클로로메탄 (200 ㎖) 중의 화합물 1f.1 (28 g, 56 mmol)의 용액에 디클로로메탄 (100 ㎖) 중의 디-tert-부틸디카보네이트 (12 g, 56 mmol)의 용액을 적하 깔때기를 통해서 적가하였다. 반응 혼합물을 실온에서 2시간 동안 교반하였으며, LC/MS는 출발 물질이 소비되었음을 나타내었다. 반응 혼합물을 진공에 의해서 농축시켜 밝은 황색 고체로서 목적하는 생성물 5a를 수득하였다.

단계 5B: 3-[2(R)-tert-부톡시카르보닐아미노-2-페닐에틸]-5-(2-플루오로-3-메톡시페닐)-1-[2-플루오로-6-메틸티오벤질]-6-메틸-피리미딘-2,4(1H,3H)-디온 5b의 제조

무수 DMSO (100 ㎖) 중의 화합물 5a (33 g, 56 mmol)의 용액에 질소 하에서 나트륨 티오메톡사이드 (4.0 g, 56 mmol)를 첨가하였다. 반응 혼합물을 질소 하에서 1시간 동안 100℃로 가열하였다. 추가로 0.28 당량의 나트륨 티오메톡사이드 (1.1 g, 16 mmol)를 첨가하고, 반응 혼합물을 질소 하에서 1시간 동안 100℃로 가열하였다. 반응 혼합물을 냉각시키고, 에틸 에테르와 물 사이에 분배시켰다. 유기층을 포화 중탄산나트륨 수용액 및 염수로 세척하고, 황산나트륨으로 건조시키고, 여과하고 농축시켰다. 조생성물을 헥산 중의 50% 에틸 아세테이트로 용출되는 실리카겔 상에서 플래쉬 크로마토그래피에 의해서 정제하여 담황색 고체로서 화합물 5b를 수득하였다 (27 g, 44 mmol, 78%).

단계 5C: 3-[2(R)-tert-부톡시카르보닐아미노-2-페닐에틸]-5-(2-플루오로-3-메톡시페닐)-1-[2-플루오로-6-메틸설포닐벤질]-6-메틸-피리미딘-2,4(1H,3H)-디온 5c의 제조

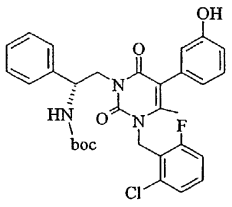
무수 디클로로메탄 (400 ㎖) 중의 화합물 5b (27 g, 44 mmol)의 용액에 3-클로로퍼옥시벤조산 (mCPBA, 30 g, 180 mmol)을 첨가하였다. 반응 혼합물을 실온에서 밤새 교반하였다. 반응 혼합물을 디클로로메탄과 물 사이에 분배시켰다. 유기층을 포화 중탄산나트륨 수용액 및 염수로 세척하고, 황산나트륨으로 건조시키고, 여과하고 농축시켰다. 조생성물을 헥산 중의 50% 에틸 아세테이트로 용출되는 실리카겔 상에서 크로마토그래피에 의해서 정제하여 담황색 고체로서 화합물 5c를 수득하였다 (15 g, 24 mmol, 53%).

단계 5D: 3-[2(R)-아미노-2-페닐에틸]-5-(2-플루오로-3-메톡시페닐)-1-[2-플루오로-6-메틸설포닐벤질]-6-메틸-피리미딘-2,4(1H,3H)-디온 5-1의 제조

무수 디클로로메탄 (60 ㎖) 중의 화합물 5c (10 g, 15 mmol)의 용액에 트리플루오로아세트산 (TFA, 16 ㎖)을 첨가하였다. 반응 혼합물을 실온에서 4시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 농축시키고, 에틸 아세테이트와 묽은 NaOH 수용액 사이에 분배시켰다. 유기층을 포화 중탄산나트륨 수용액 및 염수로 세척하고, 황산나트륨으로 건조시키고, 여과하고 농축시켜 황갈색 고체로서 화합물 5-1을 수득하였다 (8.0 g, 14 mmol, 94%).

실시예 6

3-[2(R)-tert-부톡시카르보닐아미노-2-페닐에틸]-5-(3-히드록시페닐)-1-[2-클로로-6-플루오로벤질]-6-메틸-피리미딘-2,4(1H,3H)-디온



단계 6A: 3-[2(R)-tert-부톡시카르보닐아미노-2-페닐에틸]-5-브로모-1-[2-클로로-6-플루오로벤질]-6-메틸-피리미딘-2,4(1H,3H)-디온

40 ㎖의 무수 THF 중의 N-Boc-D-페닐글리시놀 (2.61 g, 11.0 mmol), 5-브로모-1-[2-클로로-6-(플루오로)벤질]-6-메틸피리미딘-2,4(1H,3H)-디온 (3.48 g, 10.0 mmol), PPh_3 (3.95 g, 15.0 mmol) 및 디-tert-부틸 아조디카르복실레이트 (3.45 g, 15.0 mmol)를 N_2 하에 주위 온도에서 16시간 동안 교반하였다. 용매를 진공 중에서 제거하고, 잔류물을 용출제로서 EtOAc/헥산 (EtOAc를 10%로부터 30%까지 증가시킴)을 사용하여 실리카겔 (약 300 g)을 통해서 정제하여 발포성 고체로서 4.29 g (수율 76%)의 화합물 6a를 수득하였다.

MS $(M+H)^+$: 466.0/468.1. NMR ($CDCl_3$), δ, 7.41-7.25 (m, 7H), 7.03-6.97 (m, 1H), 5.60 (d, J=16.3 Hz, 1H), 5.55-5.40 (m, 1H), 5.31 (d, J = 16.3 Hz, 1H), 5.18-4.78 (m, 1H), 4.24-4.34 (m, 1H), 4.09 (dd, J = 13.2 & 3.0 Hz, 1H), 2.46 (s, 3H), 1.37 (s, 9H).

단계 6B: 3-[2(R)-tert-부톡시카르보닐아미노-2-페닐에틸]-5-(3-히드록시페닐)-1-[2-클로로-6-플루오로벤질]-6-메틸-피리미딘-2,4(1H,3H)-디온

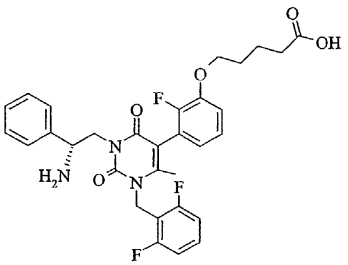
화합물 6a (4.00 g, 7.06 mmol), 3-히드록시페닐보론산 피나콜 에스테르 (2.33 g, 10.59 mmol), K_2CO_3 (7.8 ㎖, 2 N 용액, 15.5 mmol) 및 $Ba(OH)_2$ (2.6 ㎖ 포화 용액)를 시험관 내에서 130 ㎖의 톨루엔 및 50 ㎖의 EtOH에 현탁시켰다. 혼합물을 15분 동안 N_2로 퍼지하고, $Pd(PPh_3)_4$ (404 ㎎, 0.35 mmol)를 첨가하고, 시험관을 밀봉하고 16시간 동안 100℃로 가열하였다. 혼합물을 실온으로 냉각시킨 후에, 고체를 여과하고, 용액을 증발시켰다. 생성된 잔류물을 실리카겔 (30 내지 40% EtOAc/헥산)을 통해서 정제하여 연갈색 발포성 고체 6b를 수득하였다 (3.96 g, 98% 수율).

MS $(M-Boc+H)^+$: 480.2/482.2. NMR ($CDCl_3$), δ, 7.38-7.17 (m, 8H), 7.05-6.96 (m, 1H), 6.74 (d, J = 7.8 Hz, 1H), 6.68 (d, J = 7.8 Hz, 1H), 6.63 (s, 1H), 5.85-4.86 (m, 4H), 4.40-4.23 (m, 1H), 4.15-3.95 (m, 1H), 1.22 (s, 3H).

3-[2(R)-tert-부톡시카르보닐프로필아미노-2-페닐에틸]-5-(3-히드록시페닐)-1-[2-플루오로-6-트리플루오로메틸벤질]-6-메틸-피리미딘-2,4(1H,3H)-디온 화합물 6b.1을 동일한 방법에 의해서 제조하였다.

실시예 7

3-[2(R)-아미노-2-페닐에틸]-5-(2-플루오로-3-([4-히드록시카르보닐]-1-부톡시)페닐)-1-[2,6-디플루오로벤질]-6-메틸-피리미딘-2,4(1H,3H)-디온



단계 7A: 3-[2(R)-tert-부톡시카르보닐아미노-2-페닐에틸]-5-(2-플루오로-3-히드록시페닐)-1-[2,6-디플루오로벤질]-6-메틸-피리미딘-2,4(1H,3H)디온의 제조

N_2 하의 -78℃에서 무수 디클로로메탄 (20 ㎖) 중의 1f.1 히드로클로라이드 (2.13 g, 4 mmol)에 디클로로메탄 중의 BBr_3 (1 M, 16 ㎖, 4 당량)를 서서히 첨가하였다. 그 후, 혼합물을 밤새 교반하면서 온도를 실온으로 서서히 상승시켰다. 용매 및 과량의 BBr_3를 N_2 퍼지에 의해서 제거하여 황색 고체를 생성시켰다. 이 고체를 MeOH에 용해시켜 존재할 수 있는 잔류 BBr_3를 분해시킨 다음에, N_2 퍼지에 의해서 다시 농축시켰다. 생성된 고체를 디클로로메탄 (50 ㎖)에 현탁시키고, TEA를 pH > 8이 될 때까지 첨가하였다. Boc 무수물 (698 ㎎, 0.8 당량)을 첨가하고, 수 시간 동안 교반하였다. TLC 및 HPLC-MS는 반응의 완결을 나타내었다. 혼합물을 농축시키고, 물과 에틸 아세테이트 사이에 분배시켰다. 유기층을 분리하여 건조시키고 농축시켜 수득된 잔류물을 실리카겔 크로마토그래피에 의해서 정제하여 화합물 7a를 수득하였다 (1.5 g). MS $(M-Boc+H)^+$: 518.4.

단계 7B: 3-[2(R)-tert-부톡시카르보닐아미노-2-페닐에틸]-5-(2-플루오로-3-([4-히드록시카르보닐]-1-부톡시)페닐)-1-[2,6-디플루오로벤질]-6-메틸-피리미딘-2,4(1H,3H)-디온의 제조

무수 DMF (5 ㎖) 중의 Boc 보호된 페놀 7a (581 ㎎, 1.0 mmol)에 메틸 5-브로모발레레이트 (234 ㎎, 1.2 mmol) 및 K_2CO_3 (690 ㎎, 5.0 mmol)를 첨가하였다. 혼합물을 50℃에서 5시간 동안 격렬하게 교반하였다. 교반 혼합물에 LiOH (240 ㎎, 10 mmol)를 첨가하고, 이어서 MeOH (10 ㎖) 및 물 (10 ㎖)을 첨가하였다. 혼합물을 1시간 동안 80℃에서 가열하였다. 혼합물을 실온으로 냉각시키고, 포화 시트르산 용액을 사용하여 pH= 3으로 산성화시키고 에틸 아세테이트로 추출하였다. 유기층을 물로 세척하고, 건조시키고 농축시켜 오일을 수득하고, 이 오일을 크로마토그래피 (헥산/에틸 아세테이트= 1/1)에 의해서 정제하여 7b를 수득하였다 (0.68 g, 발포체형).

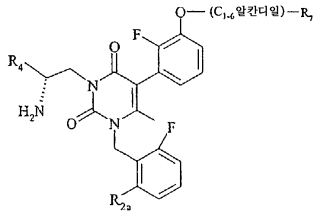
MS $(M\text{-}Boc+H)^+$: 582.1. NMR ($CDCl_3$), δ, 7.39-6.79 (m, 11H), 5.76 (d, J = 7.5Hz, 1H), 5.45 & 5.40 (2 m, 1H), 5.35- 4.87 9 (m, 2H), 4.41-4.28 (m, 1H), 4.10-4.5 (m, 3H), 2.46-2.42 (m, 2H), 2.13 (s, 3H), 1.88-1.80 (m, 4H), 1.38 (s, 9H).

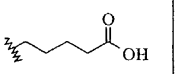
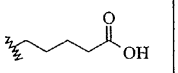
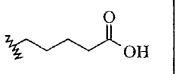
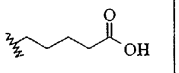
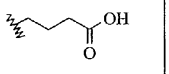
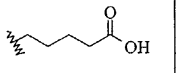
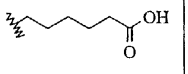
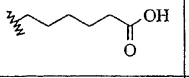
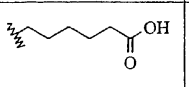
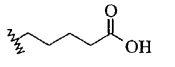
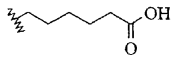
단계 7C: 3-[2(R)-아미노-2-페닐에틸]-5-(2-플루오로-3-([4-히드록시카르보닐]-1-부톡시)페닐)-1-[2,6-디플루오로벤질]-6-메틸-피리미딘-2,4(1H,3H)-디온의 제조

화합물 7b (0.68 g)를 2시간 동안 디옥산 중의 4 N HCl (5 ㎖) 중에서 처리하였다. 반응 혼합물을 농축시키고, 정제용 HPLC에 의해서 정제하였다. 목적하는 화합물 7-1을 우선 TFA 염으로 수득한 다음에 HPLC 상에서 탈염시켜 방출 아미노산 생성물을 수득하였다. 나트륨염은 화합물 7-1 유리 염기를 50 ㎖의 물에 현탁시킨 다음에 모든 물질이 용해할 때까지 0.2 N NaOH를 서서히 첨가함으로써 제조하였다. 용액의 pH는 약 9였다. 용액을 동결건조시켜 화합물 7-1 나트륨염을 수득하였다 (395 ㎎).

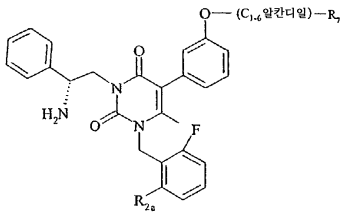
MS $(M+1)^+$: 582.3. NMR ($DMSO\text{-}d_6$), δ: 7.47-7.37 (m, 1H), 7.27-7.03 (2 m, 9H), 6.75-6.71 (m, 0.5H), 6.61-6.57 (m, 0.5H), 5.22-5.20 (m, 2H), 4.15-4.04 (m, 1H), 4.06 (t, J = 5.7Hz, 2H), 3.96-3.82 (m, 2H), 2.30 (t, J = 7.5Hz, 2H), 2.13 (s, 3H), 1.78-1.63 (m, 4H).

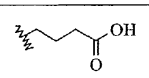
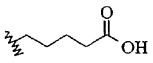
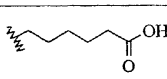
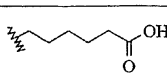
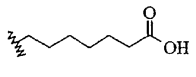
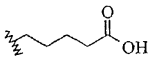
다음의 화합물들을 상기한 방법에 따라서 합성하였다.



번호	R_{2a}	R_4	-(C_{1-6}알칸디일)-R_7	질량	분자량	t_R (방법)
7-1	F	Ph		582.1	581.6	1.037 (1)
7-2	Cl	Ph		598.2	598.0	8.570 (3)
7-3	CF_3	Ph		631.2	631.6	6.036 (2)
7-4	CF_3	시클로펜틸		624.2	623.6	6.390 (2)
7-5	SO_2Me	Ph		628.3	627.7	5.139 (2)
7-6	SO_2Me	Ph		642.1	641.7	5.361 (2)
7-7	CF_3	Ph		646.3	645.6	6.320 (2)
7-8	SO_2Me	Ph		656.3	655.7	5.655 (2)
7-9	CF_3	이소부틸		626.2	625.6	1.157 (1)
7-10	CF_3	이소부틸		612.2	611.6	1.160 (1)
7-11	F	Ph		596.3	595.6	5.900 (2)

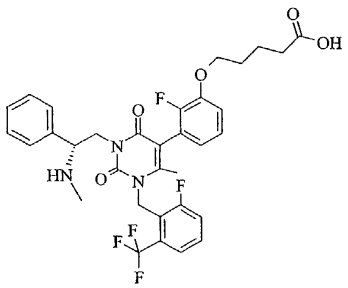
화합물 6b 및 6b.1과 같은 히드록시 치환된 화합물을 출발 물질로 사용하여 단계 7B 및 7C의 방법에 따라 다음의 화합물들을 또한 제조하였다.



번호	R_{2a}	-(C_{1-6}알칸디일)-R_7	질량	분자량	t_R (방법)
7-12	Cl		566.1	566.0	6.990 (2)
7-13	Cl		580.1	580.0	1.300 (1)
7-14	Cl		594.4	594.1	6.108 (2)
7-15	CF_3		628.0	627.6	1.341 (1)
7-16	Cl		608.2	608.11	1.527 (1)
7-17	CF_3		614.2	613.6	4.963 (2)

실시예 8

3-[2(R)-메틸아미노-2-페닐에틸]-5-(2-플루오로-3-([4-히드록시카르보닐]-1-부톡시)페닐)-1-[2-플루오로-6-(트리플루오로메틸)벤질]-6-메틸-피리미딘-2,4(1H,3H)-디온



단계 8A: N-Boc-N-메틸-D-페닐글리시놀

LAH (1.62 g, 5.0 당량)를 질소 하의 둥근 플라스크에 첨가하고, 이어서 무수 THF (200 ㎖)를 서서히 첨가하였다. N-Boc-D-페닐글리시놀 (10 g, 42.7 mmol)을 첨가하고, 반응 혼합물을 N_2 하에서 밤새 환류시켰다. 혼합물을 실온으로 냉각시킨 다음에 0℃로 냉각시키고, 거품이 발생하지 않을 때까지 NaOH (10% 용액)를 첨가하였다. 중화하는 중에 추가로 200 ㎖의 THF를 첨가한 다음에 50 g의 $NaSO_4$를 첨가하였다. 교반한 후에, 혼합물을 여과하고 고체를 THF로 세척하였다. 용액을 합하여 농축시켜 6.2 g의 무색 오일을 수득하였다. 이 오일에 디-tert-부틸 디카보네이트 (Boc_2O, 13.8 g, 5 mmol)를 첨가하였다. 즉시 거품이 형성되었으며, 혼합물을 톨루엔 (10 ㎖)으로 희석하고 0.5시간 동안 100℃에서 가열하였다. 단칼럼 크로마토그래피를 사용하여 일차로 헥산/에틸 아세테이트 (8/2), 및 이어서 헥산/에틸 아세테이트 (2/8)에 의해서 Boc_2O를 세척하여 화합물 8a를 수득하였다 (9.0 g, 수율= 85%).

MS $(M\text{-}Boc+H)^+$: 152.2. NMR ($CDCl_3$), δ, 7.38-7.22 (m, 5H), 5.25-5.15 (m, 1H), 4.05-4.00 (m, 2H), 2.70 (s, 3H), 1.66 (br, 1H), 1.48 (s, 9H).

단계 8B: 3-[2(R)-{N-tert-부톡시카르보닐-N-메틸아미노}-2-페닐에틸]-5-브로모-1-[2-플루오로-6-(트리플루오로메틸)벤질]-6-메틸-피리미딘-2,4(1H,3H)-디온

무수 THF 중의 Boc-N-메틸-D-페닐글리시놀 8a (8.9 g, 35 mmol) 및 5-브로모-1-[2-플루오로-6-(트리플루오로메틸)벤질]-6-메틸피리미딘-2,4(1H,3H)-디온 1d (12 g, 31.5 mmol)에 트리페닐포스핀 (12 g, 45.6 mmol)을 첨가한 다음에 디-tert-부틸 디아조카르복실레이트 (10.5 g, 45.6 mmol)를 첨가하였다. 혼합물을 실온에서 밤새 교반하였다. 혼합물을 농축시키고, 칼럼 크로마토그래피에 의해서 정제하여 21 g의 백색 발포체 8b를 수득하였다. NMR은 생성물이 50%의 부산물 (t-$BuO_2CNHNHCO_2$-tBu)을 함유하는 것을 나타내었다.

MS $(M\text{-}Boc+H)^+$: 512.2, 514.2. NMR ($CDCl_3$), δ, 7.55 (d, J = 7.8Hz, 1H), 7.45-7.20 (m, 7H), 5.90-5.18 (m, 3H), 4.95-4.80 (m, 1H), 4.28 (dd, J = 17.1 & 5.4 Hz, 1H), 2.56 (s, 1.5H), 2.50 (s, 3H), 2.41 (s, 1.5H), 1.42 (s, 9H).

단계 8C: 3-[2(R)-{N-tert-부톡시카르보닐-N-메틸아미노}-2-페닐에틸]-5-(2-플루오로-3-메톡시페닐)-1-[2-플루오로-6-(트리플루오로메틸)벤질]-6-메틸-피리미딘-2,4(1H,3H)-디온

30 ㎖의 디옥산과 6 ㎖의 물의 혼합물 내의 브로마이드 8b (2.7 g, 4.4 mmol)에 2-플루오로-3-메톡시페닐 보론산 (1.48 g, 2.0 당량) 및 Na_2CO_3 (3.3 g, 7 당량)를 첨가하였다. 혼합물을 N_2 가스에 의해서 15분 동안 퍼지한 다음에 $Pd(PPh_3)_4$ (500 ㎎)를 첨가하였다. 그 후에 반응 혼합물을 격렬하게 교반하면서 100℃에서 12시간 동안 교반하고 농축시켜 디옥산을 제거하였다. 혼합물을 에틸 아세테이트와 물에 분배시켰다. 유기층을 분리하여 Na_2SO_4 상에서 건조시킨 다음에 칼럼 크로마토그래피에 의해서 정제하여 885 ㎎의 화합물 8c를 수득하였다 (33%). MS $(M\text{-}Boc+H)^+$: 560.3

단계 8D: 3-[2(R)-{N-tert-부톡시카르보닐-N-메틸아미노}-2-페닐에틸]-5-(2-플루오로-3-히드록시페닐)-1-[2-플루오로-6-(트리플루오로메틸)벤질]-6-메틸-피리미딘-2,4(1H,3H)-디온

화합물 8c (885 ㎎, 1.34 mmol)를 디클로로메탄 (50 ㎖)에 용해시키고, N_2 하에서 -78℃로 냉각시키고, BBr_3 (디클로로메탄 중의 1 M, 5.2 ㎖, 4.0 당량)를 서서히 첨가하였다. 혼합물을 밤새 교반하면서 실온으로 서서히 가온하였다. 혼합물을 N_2 기류에 의해서 농축시키고, MeOH (10 ㎖)로 처리하고 다시 농축시켜 HBr을 제거하였다. THF (50 ㎖)를 첨가하고, 혼합물이 염기성이 될때까지 트리에틸아민을 첨가하였다. Boc_2O (2.33 g, 0.8 당량)를 첨가하고, TLC 및 HPLC 둘 다에서 방출 아민이 나타나지 않을 때까지 혼합물을 교반하였다. 혼합물을 여과하고, 농축시키고 EtOAc/H_2O에 분배시켰다. 유기층을 분리하고 농축시켜 오일을 수득하고, 이것을 칼럼 크로마토그래피에 의해서 정제하여 464 ㎎의 화합물 8d를 수득하였다 (수율 53%).

MS $(M\text{-}Boc+H)^+$: 546.3. NMR ($CDCl_3$), δ, 7.55 (1H, d, J = 7.8Hz, 1H), 7.46-7.38 (m, 1H), 7.37-7.22 (m, 6H), 7.17-6.92 (m, 2H), 6.76-6.68 (m, 1H), 6.08-5.36 (m, 3H), 5.36-5.18 (m, 1H), 4.87-4.83 (m, 1H), 3.31-4.20 (m,1H), 2.70 (s, 3H), 2.16-2.10 (m, 3H), 1.42 (s, 9H).

단계 8E: 3-[2(R)-{N-tert-부톡시카르보닐-N-메틸아미노}-2-페닐에틸]-5-(2-플루오로-3-([4-히드록시카르보닐]-1-부톡시)페닐)-1-[2-플루오로-6-(트리플루오로메틸)벤질]-6-메틸-피리미딘-2,4(1H,3H)-디온

화합물 8d (400 ㎎, 0.62 mmol)를 DMF (5 ㎖, 무수물)에 용해시킨 다음에, 메틸 5-브로모발레레이트를 첨가하고 (107 ㎕, 1.2 당량), 이어서 분말 K_2CO_3 (430 ㎎, 5.0 당량)를 첨가하였다. 혼합물을 3시간 동안 50℃에서 가열하였다. MeOH (10 ㎖) 및 물 (10 ㎖)을 첨가하고, 이어서 LiOH (148 ㎎, 10 당량)를 첨가하였다. 혼합물을 수 시간 동안 80℃로 가열하였

다. 조물질을 에틸 아세테이트/H_2O에 분배시켰다. 혼합물을 실온으로 냉각시키고, 수성 $NaHSO_4$를 사용하여 pH= 3으로 산성화시켰다. 유기층을 분리하여 건조시키고, 칼럼 크로마토그래피 (헥산/에틸 아세테이트 4/6)에 의해서 정제하여 화합물 7e를 수득하였다 (300 ㎎, 65%). MS (M-Boc+ h)$^+$: 646.3.

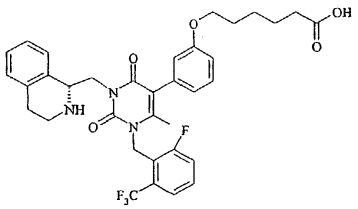
단계 8F: 3-[2(R)-메틸아미노-2-페닐에틸]-5-(2-플루오로-3-([4-히드록시카르보닐]-1-부톡시)페닐)-1-[2-플루오로-6-(트리플루오로메틸)벤질]-6-메틸-피리미딘-2,4(1H,3H)-디온

화합물 8e를 1.5 ㎖의 디클로로메탄에 용해시키고, 1.5 ㎖의 TFA를 첨가하였다. 혼합물을 실온에서 1시간 동안 교반하고, 농축시켜 TFA를 제거하고, EtOAc/H_2O에 분배시키고, 포화 $NaHCO_3$를 첨가하여 수용액을 중성으로 만들었다. 유기층을 분리하여 농축시키고, 크로마토그래피 (용출제로서 디클로로메탄/MeOH 90/10)에 의해서 정제하였다. 생성된 화합물 8-1을 물 (20 ㎖)에 현탁시키고, 0.1 N NaOH를 pH= 9까지 서서히 첨가하고, 모든 물질이 용해할 때까지 일정하게 초음파 처리하였다. 용액을 동결건조시켜 나트륨염으로서 120 ㎎의 화합물 8-1을 수득하였다.

MS $(M+H)^+$: 646.4. NMR ($CDCl_3$), δ, 7.40 (d, J=7.5 Hz, 1H), 7.37-7.14 (m, 8H), 6.98-6.81 (m, 2H), 6.69 (t, J = 7.5 Hz, 0.5H), 6.58 (t, J = 6.0Hz, 0.5H), 5.38 (s, 2H), 4.32-4.20 (m, 1H), 4.10-3.81 (m, 2H), 3.81-3.75 (m, 2H), 2.65-2.35 (br, 2H), 2.18-2.04 (m, 3H), 1.95 (s, 3H), 1.78-1.50 (m, 4H). t_R = 1.330 (방법 1)

실시예 9

3-[(1-R-1,2,3,4-테트라히드로이소퀴놀린)메틸]-5-(3-([5-히드록시카르보닐]-1-펜톡시)페닐)-1-[2-플루오로-6-(트리플루오로메틸)벤질]-6-메틸-피리미딘-2,4(1H,3H)-디온



단계 9A: 5-브로모-1-[2-플루오로-6-(트리플루오로메틸)벤질]-6-메틸-3-[N-(벤질옥시카르보닐)-1(R)-1,2,3,4-테트라히드로이소퀴놀린)메틸]-피리미딘-2,4(1H,3H)-디온 9a의 제조

THF (20 ㎖) 중의 5-브로모-1-(2-플루오로-6-트리플루오로메틸벤질)-6-메틸우라실 1d (2.29 g, 6.0 mmol)의 용액을 실온에서 N-(벤질옥시카르보닐)-R-1-하이드록실메틸-1,2,3,4-테트라히드로-이소퀴놀린 (1.96 g, 6.6 mmol, 단계 2A의 보란 환원반응을 통해서 (R)-1,2,3,4-테트라히드로-1-이소퀴놀린 카르복실산으로부터 제조됨) 및 트리페닐포스핀 (2.36 g, 9.0 mmol)으로 처리한 다음에, 디-tert-부틸아조디카르복실레이트 (2.07 g, 9.0 mmol)를 5분에 걸쳐서 몇 부분으로 나누어 도입하였다. 혼합물을 실온에서 16시간 동안 교반하고, 농축시키고 에틸 아세테이트/헥산 2/3으로 용출시키는 실리카겔 상에서 칼럼 크로마토그래피에 의해서 정제하여 화합물 9a를 수득하였다 (3.96 g, 100%). MS (CI) *m/z* 660.2, 662.2 (MH^+).

단계 9B: 5-(3-히드록시페닐)-1-[2-플루오로-6-(트리플루오로메틸)벤질]-6-메틸-3-[N-(벤질옥시카르보닐)-1(R)-1,2,3,4-테트라히드로이소퀴놀린)메틸]-피리미딘-2,4(1H,3H)-디온 9b의 제조

디옥산/물 (90/10 ㎖) 중의 화합물 9a (3.3 g, 5.0 mmol)에 3-히드록시페닐보론산 (1.38 g, 10 mmol) 및 Na_2CO_3 (3.18 g, 30 mmol)를 첨가하였다. 혼합물을 15분 동안 질소로 탈산소화시키고, 테트라키스(트리페닐포스핀)팔라듐 (O) (0.58 g, 0.5 mmol)을 첨가하고, 반응 혼합물을 16시간 동안 90℃에서 가열하였다. 반응 혼합물을 증발시키고, EtOAc와 H_2O 사이에 분배시켰다. 유기층을 염수로 세척하고, Na_2SO_4 상에서 건조시키고, 농축하고, 에틸 아세테이트/헥산 2/3 내지 1/1을 사용하여 실리카겔 상에서 칼럼 크로마토그래피시켜 정제하여 화합물 9b를 수득하였다 (3.12 g, 93%). MS (CI) *m/z* 674.0 (MH^+).

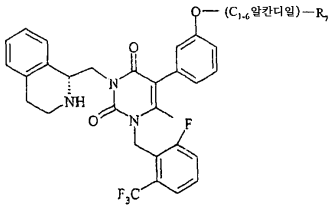
단계 9C: 3-[N-(벤질옥시카르보닐)-(1-R-1,2,3,4-테트라히드로이소퀴놀린)메틸]-5-(3-([5-히드록시카르보닐]-1-펜톡시)페닐)-1-[2-플루오로-6-(트리플루오로메틸)벤질]-6-메틸-피리미딘-2,4(1H,3H)-디온 9c의 제조

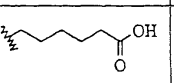
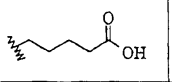
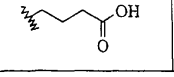
DMF (1 ㎖) 중의 화합물 9b (168 ㎎, 0.25 mmol)에 에틸 6-브로모헥사노에이트 (0.053 ㎖, 0.3 mmol) 및 K_2CO_3 (172 ㎎, 1.25 mmol)를 첨가하였다. 혼합물을 80℃에서 가열하고 5시간 동안 격렬하게 교반하였다. 그 후, NaOH (0.1 g, 2.5 mmol) 및 MeOH/H_2O (1:1, 4 ㎖)를 첨가하고, 80℃에서 1시간 동안 가열하였다. 반응 혼합물을 증발시키고, EtOAc와 1 N HCl (수성상을 pH 3으로 만듦) 사이에 분배시켰다. 유기층을 염수로 세척하고, Na_2SO_4 상에서 건조시키고 농축시키고, 에틸 아세테이트/헥산 2/1을 사용하여 실리카겔 상에서 칼럼 크로마토그래피시켜 정제하여 화합물 9c를 수득하였다 (0.14 g, 70%). MS (CI) *m/z* 788.3 (MH^+).

단계 9D: 3-[(1-R-1,2,3,4-테트라히드로이소퀴놀린)메틸]-5-(3-([5-히드록시카르보닐]-1-펜톡시)페닐)-1-[2-플루오로-6-(트리플루오로메틸)벤질]-6-메틸-피리미딘-2,4(1H,3H)-디온 9-1의 제조

화합물 9c (0.14 g, 0.18 mmol)를 80% AcOH (10 ㎖)에 용해시키고, Pd/C (14 ㎎)의 존재 하에 12시간 동안, 1 기압의 H_2 하에 실온에서 수소화시켰다. 혼합물을 셀라이트 상에서 여과하고, 증발시키고 EtOAc와 포화 수성 $NaHCO_3$ (수성상을 pH 6 내지 7로 만듦) 사이에 분배시켰다. 유기층을 H_2O 및 염수로 세척하고, Na_2SO_4 상에서 건조시키고 농축시켜 화합물 4를 수득하였다 (0.114 g, 98%). MS (CI) *m/z* 654.4 (MH^+).

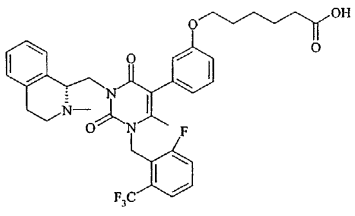
다음의 화합물들을 상기한 방법에 따라 제조하였다.



No.	-(C_{1-6}알칸디일)-R_7	질량	분자량	t_R (방법)
9-1		654.0	653.67	6.827 (6)
9-2		640.0	639.64	5.497 (6)
9-3		626.3	625.62	4.962 (6)

실시예 10

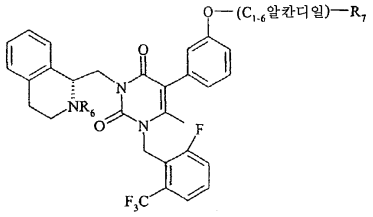
3-[(N-메틸-1-R-1,2,3,4-테트라히드로이소퀴놀린)메틸]-5-(3-([5-히드록시카르보닐]-1-펜톡시)페닐)-1-[2-플루오로-6-(트리플루오로메틸)벤질]-6-메틸-피리미딘-2,4(1H,3H)-디온

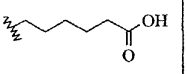
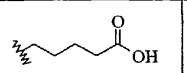
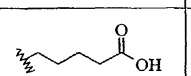
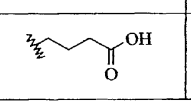


단계 10A: 3-[(N-메틸-1-R-1,2,3,4-테트라히드로이소퀴놀린)메틸]-5-(3-([5-히드록시카르보닐]-1-펜톡시)페닐)-1-[2-플루오로-6-(트리플루오로메틸)벤질]-6-메틸-피리미딘-2,4(1H,3H)-디온 10-1의 제조

THF 중의 화합물 9-1 (10 ㎎, 0.015 mmol) 및 포름알데히드 (물 중의 7.5 M 용액, 4 ㎕, 0.03 mmol)의 용액을 실온에서 5분 동안 교반하였다. 보란 피리딘 착물 (8 M; 7.5 ㎕)을 첨가하고 1시간 동안 교반하였다. 농축시킨 후에, 잔류물을 정제용 LCMS에 의해서 정제하여 화합물 10-1을 수득하였다. MS (CI) *m/z* 668.4 (MH^+).

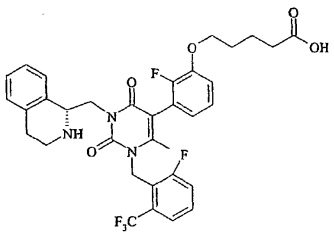
다음의 화합물들을 상기한 방법에 따라 제조하였다.



번호	-(C_{1-6}알칸디일)-R_7	R_6	질량	분자량	t_R (방법)
10-1		CH_3	668.4	667.70	6.710 (6)
10-2		CH_3	654.4	653.67	5.469 (6)
10-3		CH_2CH_3	668.4	667.70	5.223 (6)
10-4		CH_3	640.4	639.64	4.958 (6)

실시예 11

3-[(1-R-1,2,3,4-테트라히드로이소퀴놀린)메틸]-5-(2-플루오로-3-([4-히드록시카르보닐]-1-부톡시)페닐)-1-[2-플루오로-6-(트리플루오로메틸)벤질]-6-메틸-피리미딘-2,4(1H,3H)-디온



단계 11A: 5-(2-플루오로-3-메톡시페닐)-1-[2-플루오로-6-(트리플루오로메틸)벤질]-6-메틸-3-[N-(벤질옥시카르보닐)-1(R)-1,2,3,4-테트라히드로이소퀴놀린)메틸]-피리미딘-2,4(1H,3H)-디온 11a의 제조

디옥산/물 (18/2 ㎖) 중의 화합물 9a (0.66 g, 1.0 mmol)에 2-플루오로-3-메톡시페닐보론산 (0.34 g, 2.0 mmol) 및 Na_2CO_3 (0.64 g, 6.0 mmol)를 첨가하였다. 혼합물을 15분 동안 질소로 탈산소화시키고, 테트라키스(트리페닐포스핀)팔라듐 (O) (0.12 g, 0.1 mmol)을 첨가하고, 반응 혼합물을 16시간 동안 90℃에서 가열하였다. 반응 혼합물을 증발시키고, EtOAc와 H_2O 사이에 분배시켰다. 유기층을 염수로 세척하고, Na_2SO_4 상에서 건조시키고, 농축하고, 에틸 아세테이트/헥산 2/3 내지 1/1을 사용하여 실리카겔 상에서 칼럼 크로마토그래피시켜 정제하여 화합물 11a를 수득하였다 (0.57 g, 81%). MS (CI) *m/z* 705.9 (MH^+).

단계 11B: 5-(2-플루오로-3-히드록시페닐)-1-[2-플루오로-6-(트리플루오로메틸)벤질]-6-메틸-3-[1(R)-1,2,3,4-테트라히드로이소퀴놀린)메틸]-피리미딘-2,4(1H,3H)-디온 11b의 제조

-78℃에서 무수 디클로로메탄 (15 ㎖) 중의 화합물 11a (1.51 g, 2.14 mmol)에 BBr_3 (디클로로메탄 중의 1 M, 10.7 ㎖, 10.7 mmol)를 첨가하였다. 혼합물을 온도를 서서히 실온으로 상승시키면서 16시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 질소에 의해 퍼지하여 증발시켰다. MeOH를 첨가하고, 다시 질소를 사용하여 증발시켰다. 잔류물을 디클로로메탄 (5 ㎖)에 녹이고, 헥산 (100 ㎖)을 첨가하였다. 생성된 황색 고체를 여과하여 헥산으로 세척하고 건조시켜 조화합물 11b를 수득하였다. MS (CI) *m/z* 558.0 (MH^+).

단계 11C: 5-(2-플루오로-3-히드록시페닐)-1-[2-플루오로-6-(트리플루오로메틸)벤질]-6-메틸-3-[N-(tert-부틸옥시카르보닐)-1(R)-1,2,3,4-테트라히드로이소퀴놀린)메틸]-피리미딘-2,4(1H,3H)-디온 11c의 제조

디클로로메탄 (15 ㎖) 중의 화합물 11b에 pH > 8이 될 때까지 Et_3N (약 1.2 ㎖)을 첨가한 다음에 Boc_2O (0.37 g, 1.7 mmol)를 첨가하였다. 혼합물을 12시간 동안 교반하고, 증발시키고 EtOAc와 H_2O 사이에 분배시켰다. 유기층을 염수로 세척하고, Na_2SO_4 상에서 건조시키고, 농축시키고 에틸 아세테이트/헥산 2/3 내지 1/1을 사용하여 실리카겔 상에서 칼럼 크로마토그래피시켜 정제하여 화합물 11c를 수득하였다 (1.2 g, 85%). MS (CI) *m/z* 558.0 (MH^+-Boc).

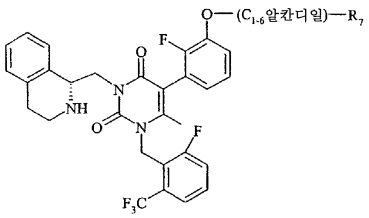
단계 11D: 3-[N-(tert-부틸옥시카르보닐)-1(R)-1,2,3,4-테트라히드로이소퀴놀린)메틸]-5-(2-플루오로-3-([4-히드록시카르보닐]-1-부톡시)페닐)-1-[2-플루오로-6-(트리플루오로메틸)벤질]-6-메틸-피리미딘-2,4(1H,3H)-디온 11-1의 제조

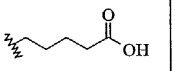
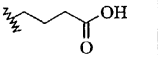
DMF (1 ㎖) 중의 화합물 11c (0.17 g, 0.26 mmol)에 메틸 5-브로모발레레이트 (0.044 ㎖, 0.31 mmol) 및 K_2CO_3 (0.18, 1.3 mmol)를 첨가하였다. 혼합물을 80℃에서 가열하고, 5시간 동안 격렬하게 교반하였다. 그 후, NaOH (0.1 g, 2.6 mmol) 및 MeOH/H_2O (1:1, 4 ㎖)를 첨가하고, 1시간 동안 80℃에서 가열하였다. 반응 혼합물을 증발시키고 EtOAc와 1 N HCl (수성상을 pH 3으로 만듦) 사이에 분배시켰다. 유기층을 염수로 세척하고, Na_2SO_4 상에서 건조시키고 농축시키고, 에틸 아세테이트/헥산 3/1을 사용하여 실리카겔 상에서 칼럼 크로마토그래피시켜 정제하여 화합물 11d를 수득하였다 (0.15 g, 77%). MS (CI) *m/z* 658.0 (MH^+-Boc).

단계 11E: 3-[(1-R-1,2,3,4-테트라히드로이소퀴놀린)메틸]-5-(2-플루오로-3-([4-히드록시카르보닐]-1-부톡시)페닐)-1-[2-플루오로-6-(트리플루오로메틸)벤질]-6-메틸-피리미딘-2,4(1H,3H)-디온의 제조

DCM (2 ㎖) 중의 화합물 11d (0.15 g, 0.2 mmol)의 용액에 TFA (0.4 ㎖, 5.2 mmol)를 첨가하고, 혼합물을 RT에서 1.5 시간 동안 교반하였다. 농축시킨 후, 잔류물을 EtOAc에 녹이고 포화 수성 $NaHCO_3$를 첨가하였다. 유기층을 분리하여 염수로 세척하고, Na_2SO_4 상에서 건조시키고 농축시켜 화합물 11-1을 수득하였다 (0.11 g, 84%). MS (CI) *m/z* 658.0 (MH^+).

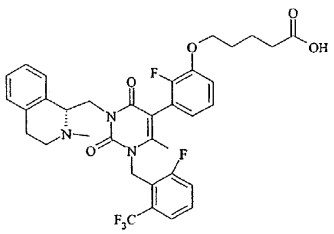
다음의 화합물들을 상기한 방법에 따라 제조하였다.



번호	-(C_{1-6}알칸디일)-R_7 R_7	질량	분자량	t_R (방법)
11-1		657.9	657.63	5.490 (6)
11-2		644.2	643.61	5.923 (6)

실시예 12

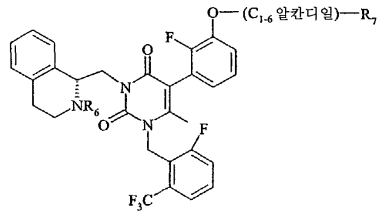
3-[(N-메틸-1-R-1,2,3,4-테트라히드로이소퀴놀린)메틸]-5-(2-플루오로-3-([4-히드록시카르보닐]-1-부톡시)페닐)-1-[2-플루오로-6-(트리플루오로메틸)벤질]-6-메틸-피리미딘-2,4(1H,3H)-디온

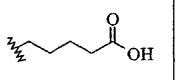
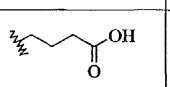
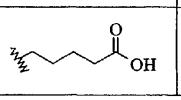


단계 12A: 3-[(N-메틸-1-R-1,2,3,4-테트라히드로이소퀴놀린)메틸]-5-(2-플루오로-3-([4-히드록시카르보닐]-1-부톡시)페닐)-1-[2-플루오로-6-(트리플루오로메틸)벤질]-6-메틸-피리미딘-2,4(1H,3H)-디온 12-1의 제조

THF 중의 화합물 11-1 (15 ㎎, 0.023 mmol) 및 포름알데히드 (물 중의 7.5 M 용액, 6 ㎕, 0.045 mmol)의 용액을 실온에서 5분 동안 교반하였다. 보란 피리딘 착물 (8 M; 12 ㎕)을 첨가하고 1시간 동안 교반하였다. 농축시킨 후에, 잔류물을 정제용 LCMS에 의해서 정제하여 화합물 12-1을 수득하였다. MS (CI) *m/z* 672.0 (MH^+).

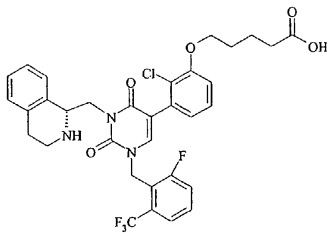
다음의 화합물들을 상기한 방법에 따라 제조하였다.



번호	-(C_{1-6}알칸디일)-R_7	R_6	질량	분자량	t_R (방법)
12-1		CH_3	672.0	671.66	5.672 (6)
12-2		CH_3	658.2	657.63	5.924 (6)
12-3		CH_2CH_3	686.0	685.69	5.207 (6)

실시예 13

3-[(1-R-1,2,3,4-테트라히드로이소퀴놀린)메틸]-5-(2-클로로-3-([4-히드록시카르보닐]-1-부톡시)페닐)-1-[2-플루오로-6-(트리플루오로메틸)벤질]-피리미딘-2,4(1H,3H)-디온



단계 13A: N-벤질옥시카르보닐-1-히드록시메틸-D-1,2,3,4-테트라히드로-이소퀴놀린 13a의 제조

THF (10 ㎖) 중의 N-벤질옥시카르보닐-D-1,2,3,4-테트라히드로-이소퀴놀린-1-카르복실산 (3.11 g, 10 mmol, 시판되는 D-1,2,3,4-테트라히드로-이소퀴놀린-1-카르복실산 및 O-벤질옥시카르보닐-N-히드록시숙신이미드로부터 제조됨)에 5분에 걸쳐서 BH_3 (THF 중의 1 M 용액; 30 ㎖, 30 mmol)를 첨가하고, 반응 혼합물을 3시간 동안 교반하였다. MeOH (90 ㎖) 중의 아세트산 (9 ㎖)을 첨가하고, 혼합물을 30분 동안 교반하였다. 용매를 증발시키고, 잔류물을 EtOAc에 녹여 포화 수성 $NaHCO_3$ (90 ㎖, 수성상 pH 7 내지 8) 및 염수로 세척하였다. 유기층을 Na_2SO_4 상에서 건조시키고, 농축시켜 화합물 13a를 수득하였다 (2.97 g, 100%). MS (CI) *m/z* 253.9 (MH^+-CO_2), 297.9 (MH^+); t_R= 2.695분 (방법 4).

단계 13B: N-벤질옥시카르보닐-1-(메탄설포닐옥시메틸)-D-1,2,3,4-테트라히드로-이소퀴놀린 13b의 제조

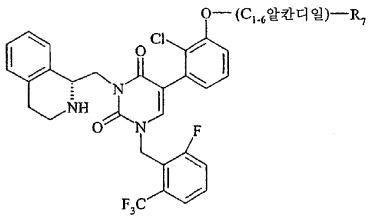
디클로로메탄 (69 ㎖) 중의 화합물 13a (6.15 g, 20.7 mmol)의 용액에 Et_3N (3.17 ㎖, 22.8 mmol)을 첨가하고, 이어서 메탄설포닐 클로라이드 (1.76 ㎖, 22.8 mmol)를 첨가하였다. 반응물을 실온에서 밤새 교반하고, 증발시키고, EtOAc와 H_2O 사이에 분배시켰다. 유기층을 염수로 세척하고, Na_2SO_4 상에서 건조시키고 농축시켜 화합물 13b를 수득하였다 (7.8 g, 100%). MS (CI) *m/z* 376.0 (MH^+); t_R= 2.666분 (방법 4).

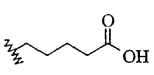
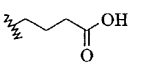
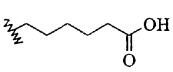
단계 13C: 3-[(1-R-1,2,3,4-테트라히드로이소퀴놀린)메틸]-5-(2-클로로-3-메톡시페닐)-1-[2-플루오로-6-(트리플루오로메틸)벤질]-피리미딘-2,4(1H,3H)-디온 13c의 제조

단계 3G의 방법에 따라서 N-벤질옥시카르보닐-1-(메탄설포닐옥시메틸)-D-1,2,3,4-테트라히드로-이소퀴놀린 13b (6.57 g, 17.52 mmol) 및 5-(2-클로로-3-메톡시페닐)-1-[2-플루오로-6-(트리플루오로메틸)벤질]피리미딘-2,4 (1H,3H)-디온 3f (5.14 g, 12 mmol)는 3-[(1-R-1,2,3,4-테트라히드로이소퀴놀린)메틸]-5-(2-클로로-3-메톡시페닐)-1-[2-플루오로-6-(트리플루오로메틸)벤질]-피리미딘-2,4(1H,3H)-디온 13c를 형성시켰다 (5.73 g, 68%). MS (CI) *m/z* 708.0, 710.0 (MH^+).

단계 13D: 3-[(1-R-1,2,3,4-테트라히드로이소퀴놀린)메틸]-5-(2-클로로-3-([4-히드록시카르보닐]-1-부톡시)페닐)-1-[2-플루오로-6-(트리플루오로메틸)벤질]-피리미딘-2,4(1H,3H)-디온 13-1의 제조

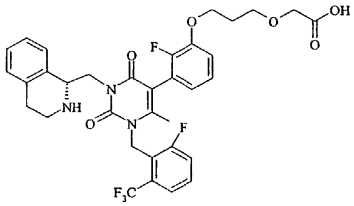
단계 7A 내지 7C에 개략적으로 기술된 방법에 따라, 출발 물질로서 3-[(1-R-1,2,3,4-테트라히드로이소퀴놀린)메틸]-5-(2-클로로-3-메톡시페닐)-1-[2-플루오로-6-(트리플루오로메틸)벤질]-피리미딘-2,4(1H,3H)-디온 13c를 사용하여 다음의 화합물들을 합성하였다.



번호	-(C_{1-6}알칸디일)-R_7	질량	분자량	t_R (방법)
13-1		660.4	660.06	5.376 (6)
13-2		646.1	646.03	22.43 (5)
13-3		674.1	674.09	22.52 (5)

실시예 14

3-[(1-R-1,2,3,4-테트라히드로이소퀴놀린)메틸]-5-(2-플루오로-3-([히드록시카르보닐]메톡시-1-프로폭시)페닐)-1-[2-플루오로-6-(트리플루오로메틸)벤질]-6-메틸-피리미딘-2,4(1H,3H)-디온

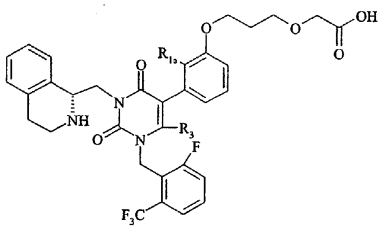


단계 14A: 3-[(1-R-1,2,3,4-테트라히드로이소퀴놀린)메틸]-5-(2-플루오로-3-([3-히드록시-1-프로폭시)페닐)-1-[2-플루오로-6-(트리플루오로메틸)벤질]-6-메틸-피리미딘-2,4(1H,3H)-디온 14a의 제조

DMF (1 ㎖) 중의 화합물 11c (170 ㎎, 0.26 mmol)에 브로모프로판올 (43 ㎎, 0.31 mmol) 및 K_2CO_3 (180 ㎎, 1.30 mmol)를 첨가하였다. 혼합물을 80℃에서 밤새 가열하였다. 반응 혼합물을 증발시키고, EtOAc와 H_2O 사이에 분배시켰다. 유기층을 염수로 세척하고, Na_2SO_4 상에서 건조시키고, 에틸 아세테이트/헥산 3/2를 사용하여 정제용 TLC 플레이트 상에서 정제하여 화합물 14a를 수득하였다 (0.13 g, 70%). MS (CI) *m/z* 616.0 (MH^+-Boc).

단계 14B: 3-[(1-R-1,2,3,4-테트라히드로이소퀴놀린)메틸]-5-(2-플루오로-3-([tert-부틸옥시카르보닐]메톡시-1-프로폭시)페닐)-1-[2-플루오로-6-(트리플루오로메틸)벤질]-6-메틸-피리미딘-2,4(1H,3H)-디온 14b의 제조

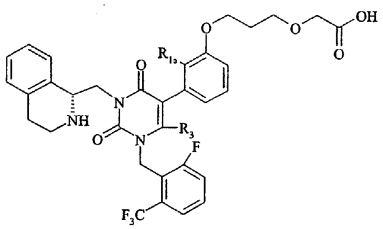
톨루엔 (1 ㎖) 중의 화합물 14a (130 ㎎, 0.18 mmol)에 tert-부틸 브로모아세테이트 (0.04 ㎖, 0.27 mmol), 테트라부틸암모늄 히드로젠술페이트 (3 ㎎, 0.009 mmol) 및 분말상 NaOH (32 ㎎, 0.81 mmol)를 첨가하였다. 혼합물을 실온에서 24시간 동안 격렬하게 교반하고, EtOAc와 H_2O 사이에 분배시켰다. 유기층을 염수로 세척하고, Na_2SO_4 상에서 건조시키고 농축시켜 조화합물 14b를 수득하였다. MS (CI) *m/z* 674.0 (MH^+-Boc-tBu), 730.1 (MH^+-Boc).



단계 14C: 3-[(1-R-1,2,3,4-테트라히드로이소퀴놀린)메틸]-5-(2-플루오로-3-([히드록시카르보닐]메톡시-1-프로폭시)페닐)-1-[2-플루오로-6-(트리플루오로메틸)벤질]-6-메틸-피리미딘-2,4(1H,3H)-디온 14-1의 제조

디클로로메탄 (3 ㎖) 중의 화합물 14b를 실온에서 밤새 TFA (0.36 ㎖, 4.67 mmol)로 처리하고, 농축시키고, DCM 중의 10% MeOH를 사용하여 정제용 TLC 플레이트 상에서 정제하여 화합물 14-1을 수득하였다 (60 ㎎, 2단계에 걸쳐서 49%). MS (CI) *m/z* 674.0 (MH^+).

다음의 화합물들을 상기의 방법에 따라서 제조하였다.



번호	R_{1a}	R_3	질량	분자량	t_R (방법)
14-1	F	CH_3	674.0	673.63	6.033 (6)
14-2	Cl	H	676.1	676.06	22.40 (5)

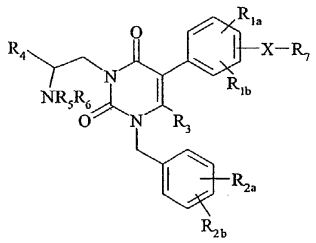
본 명세서에서는 본 발명의 특정한 실시양태를 설명을 목적으로 기술하였지만, 본 발명의 의의 및 범주를 벗어나지 않으면서 다양한 변형이 이루어질 수 있다는 것은 인식될 수 있을 것이다. 따라서, 본 발명은 첨부된 특허청구범위에 의한 것을 제외하고는 제한되지 않는다.

(57) 청구의 범위

청구항 1.

하기 화학식 I의 구조를 갖는 화합물, 또는 그의 입체이성질체, 프로드럭 또는 제약학적으로 허용되는 염:

<화학식 I>



상기 식에서,

R_{1a} 및 R_{1b}는 동일하거나 상이하며, 독립적으로 수소, 할로겐, C_{1-4} 알킬, 또는 알콕시이고;

R_{2a} 및 R_{2b}는 동일하거나 상이하며, 독립적으로 수소, 할로겐, 트리플루오로메틸, 시아노 또는 $-SO_2CH_3$이고;

R_3는 수소 또는 메틸이고;

R_4는 페닐 또는 C_{3-7} 알킬이고;

R_5 및 R_6는 동일하거나 상이하며, 독립적으로 수소 또는 C_{1-4} 알킬이거나;

R_5 및 이에 부착된 질소와 R_4 및 이에 부착된 탄소는 함께 취해져 1,2,3,4-테트라히드로이소퀴놀린 또는 2,3-디히드로-1H-이소인돌을 형성하고;

R_7은 -COOH 또는 산 동배체이고;

X는 -O-(C_{1-6} 알칸디일) 또는 -O-(C_{1-6} 알칸디일)-O-(C_{1-6} 알칸디일)이며, 여기에 각각의 (C_{1-6} 알칸디일)은 1 내지 3개의 C_{1-4} 알킬기로 임의로 치환된다.

청구항 2.

제1항에 있어서, R_{1a}가 할로겐인 화합물.

청구항 3.

제2항에 있어서, R_{1a}가 플루오로 또는 클로로인 화합물.

청구항 4.

제1항에 있어서, R_{1a}가 수소인 화합물.

청구항 5.

제1항에 있어서, R_{2a}가 할로겐인 화합물.

청구항 6.

제1항에 있어서, R_{2b}가 트리플루오로메틸, 할로겐 또는 $-SO_2CH_3$인 화합물.

청구항 7.

제1항에 있어서, R_3이 수소인 화합물.

청구항 8.

제1항에 있어서, R_3이 메틸인 화합물.

청구항 9.

제1항에 있어서, R_4가 페닐인 화합물.

청구항 10.

제1항에 있어서, R_4가 C_{3-7} 알킬인 화합물.

청구항 11.

제10항에 있어서, C_{3-7} 알킬이 시클로펜틸 또는 시클로헥실인 화합물.

청구항 12.

제1항에 있어서, R_5가 H 또는 메틸인 화합물.

청구항 13.

제1항에 있어서, R_7이 -COOH인 화합물.

청구항 14.

제1항에 있어서, R_7이 산 동배체인 화합물.

청구항 15.

제1항에 있어서, X가 직쇄 C_{1-6} 알칸디일인 화합물.

청구항 16.

제15항에 있어서, 직쇄 C_{1-6} 알칸디일이 $-CH_2CH_2CH_2-$인 화합물.

청구항 17.

제15항에 있어서, 직쇄 C_{1-6} 알칸디일이 $-CH_2CH_2CH_2CH_2-$인 화합물.

청구항 18.

제15항에 있어서, 직쇄 C_{1-6} 알칸디일이 $-CH_2CH_2CH_2CH_2CH_2-$인 화합물.

청구항 19.

제1항에 있어서, X가 분지형 C_{1-6} 알칸디일인 화합물.

청구항 20.

제1항에 있어서, 3-[2(R)-아미노-2-페닐에틸]-5-(2-플루오로-3-([4-히드록시카르보닐]-1-부톡시)페닐)-1-[2-플루오로-6-(트리플루오로메틸)벤질]-6-메틸-피리미딘-2,4(1H,3H)-디온, 3-[2(R)-아미노-2-페닐에틸]-5-(3-([5-히드록시카르보닐]-1-펜톡시)페닐)-1-[2-플루오로-6-클로로벤질]-6-메틸-피리미딘-2,4(1H,3H)-디온, 3-[2(R)-아미노-2-페닐에틸]-5-(3-([5-히드록시카르보닐]-1-펜톡시)페닐)-1-[2-플루오로-6-(트리플루오로메틸)벤질]-6-메틸-피리미딘-2,4(1H,3H)-디온, 3-[2(R)-메틸아미노-2-페닐에틸]-5-(2-플루오로-3-([4-히드록시카르보닐]-1-부톡시)페닐)-1-[2-플루오로-6-(트리플루오로메틸)벤질]-6-메틸-피리미딘-2,4(1H,3H)-디온, 3-[(1-R-1,2,3,4-테트라히드로이소퀴놀린)메틸]-5-(3-([5-히드록시카르보닐]-1-펜톡시)페닐)-1-[2-플루오로-6-(트리플루오로메틸)벤질]-6-메틸-피리미딘-2,4(1H,3H)-디온, 3-[(1-R-1,2,3,4-테트라히드로이소퀴놀린)메틸]-5-(2-플루오로-3-([4-히드록시카르보닐]-1-부톡시)페닐)-1-[2-플루오로-6-(트리플루오로메틸)벤질]-6-메틸-피리미딘-2,4(1H,3H)-디온, 3-[(1-R-1,2,3,4-테트라히드로이소퀴놀린)메틸]-5-(2-플루오로-3-([3-히드록시카르보닐]-1-프로폭시)페닐)-1-[2-플루오로-6-(트리플루오로메틸)벤질]-6-메틸-피리미딘-2,4(1H,3H)-디온, 3-[(1-R-1,2,3,4-테트라히드로이소퀴놀린)메틸]-5-(2-클로로-3-([4-히드록시카르보닐]-1-부톡시)페닐)-1-[2-플루오로-6-(트리플루오로메틸)벤질]-피리미딘-2,4(1H,3H)-디온 또는 3-[(1-R-1,2,3,4-테트라히드로이소퀴놀린)메틸]-5-(2-클로로-3-([5-히드록시카르보닐]-1-펜톡시)페닐)-1-[2-플루오로-6-(트리플루오로메틸)벤질]-피리미딘-2,4(1H,3H)-디온인 화합물.

청구항 21.

제1항의 화합물 및 제약학적으로 허용되는 담체 또는 희석제를 포함하는 제약 조성물.

청구항 22.

제1항의 화합물의 유효량을 대상체에게 투여하는 것을 포함하는, 고나도트로핀-방출 호르몬의 길항이 필요한 대상체에서의 고나도트로핀-방출 호르몬의 길항 방법.

청구항 23.

제21항의 제약 조성물의 유효량을 대상체에게 투여하는 것을 포함하는, 성-호르몬 관련된 상태의 치료가 필요한 대상체에서의 성-호르몬 관련된 상태의 치료 방법.

청구항 24.

제23항에 있어서, 성-호르몬 관련된 상태가 암, 양성 전립선 비대증 또는 자궁근종인 방법.

청구항 25.

제24항에 있어서, 암이 전립선암, 자궁암, 유방암 또는 뇌하수체 생식선자극세포 선종인 방법.

청구항 26.

제25항에 있어서, 암이 전립선암인 방법.

청구항 27.

제23항에 있어서, 성-호르몬 관련된 상태가 자궁내막증, 다낭성 난소질환, 자궁 유섬유종 또는 성조숙증인 방법.

청구항 28.

제27항에 있어서, 성-호르몬 관련된 상태가 자궁내막증인 방법.

청구항 29.

제23항에 있어서, 성-호르몬 관련된 상태가 자궁 유섬유종인 방법.

청구항 30.

제21항의 제약 조성물의 유효량을 대상체에게 투여하는 것을 포함하는, 불임증의 치료가 필요한 대상체에서의 불임증의 치료 방법.

청구항 31.

제21항의 제약 조성물의 유효량을 대상체에게 투여하는 것을 포함하는, 홍반성 루푸스, 과민성 대장증후군, 월경전 증후군, 다모증, 저신장 또는 수면 장애의 치료가 필요한 대상체에서의 상기 질환의 치료 방법.