

MODULADORES DEL RECEPTOR NMDA HETEROAROMÁTICO Y USOS DE LOS MISMOS

SOLICITUDES RELACIONADAS

Esta solicitud reclama el beneficio de prioridad para la Solicitud Provisional de Estados Unidos No. 62/714.100 presentada el 3 de agosto de 2018, cuyo contenido completo se incorpora aquí como referencia.

ANTECEDENTES DE LA INVENCION

Las enfermedades del sistema nervioso son colectivamente la principal causa de discapacidad humana, medida por la carga global de la enfermedad. Incluso las principales enfermedades del sistema nervioso para las que los tratamientos han sido aprobados por las autoridades sanitarias, que incluyen las enfermedades psiquiátricas tal como la esquizofrenia, las enfermedades neurológicas tal como la enfermedad de Alzheimer, y los trastornos del desarrollo neurológico, tal como el déficit de atención y el trastorno de hiperactividad, se manejan mal porque los tratamientos aprobados tienen una eficacia limitada y efectos secundarios graves, que dejan una carga significativa de necesidad médica insatisfecha. Además, hay muchos trastornos del sistema nervioso importantes y raros para los cuales no se han aprobado tratamientos, tal como los trastornos del desarrollo neurológico del espectro del autismo, y muchos trastornos de la discapacidad intelectual, y que por lo tanto están asociados con una necesidad médica no satisfecha severa.

El subtipo N-metil-D-aspartato-(NMDA) de los receptores de canales iónicos activados por ligando es una familia diversa de receptores de glutamato ampliamente aceptados para mediar en la transmisión sináptica, mecanismos clave de plasticidad sináptica y conectividad de red neuronal dinámica requerida para el desarrollo y función del sistema nervioso normal.

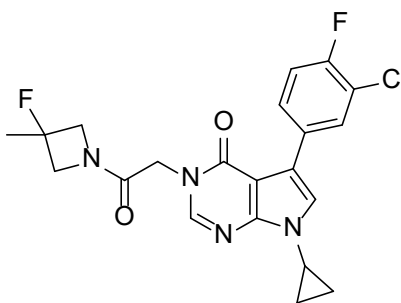
El receptor de NMDA está compuesto por cuatro subunidades de proteínas, dos subunidades de GluN1 y dos subunidades de GluN2. La subunidad GluN1 se deriva de un solo gen (GRIN1), se expresa de forma ubicua a través de todo el sistema nervioso y es común a todos los receptores NMDA. Cuatro subunidades GluN2 diferentes, GluN2A-D, se derivan de genes separados (GRIN2A-D) que se expresan diferencialmente en diferentes regiones del sistema nervioso y por distintas poblaciones de neuronas dentro de una región particular. También se identificó una subunidad GluN3, pero su función se entiende menos. Además, las neuronas

individuales pueden expresar más de una subunidad GluN2 y los receptores de NMDA individuales expresados por tales neuronas pueden contener dos de las mismas subunidades GluN2 (por ejemplo, subunidades 2GluN2B) o dos subunidades diferentes (una subunidad GluN2A y una GluN2B). Además, todas las subunidades del receptor de NMDA se expresan como diversas variantes de empalme de ARNm. Por lo tanto, los receptores de NMDA del sistema nervioso nativo son muy diversos en su composición.

El estudio de la base molecular de la función del receptor de NMDA sigue siendo un área de importancia. Como el glutamato es el principal neurotransmisor excitador, la disfunción de la neurotransmisión de glutamato y los mecanismos dependientes del receptor de NMDA de la transmisión sináptica, la plasticidad y la conectividad de la red neuronal están ampliamente implicadas en las enfermedades del sistema nervioso. En consecuencia, los compuestos que son capaces de modular los receptores de NMDA pueden ser útiles para el tratamiento de trastornos y enfermedades del sistema nervioso, por ejemplo, esquizofrenia, enfermedad de Alzheimer, trastorno por déficit de atención e hiperactividad y autismo.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LA INVENCION

Aquí se proporciona el Compuesto 1, 5-(3-cloro-4-fluorofenil)-7-ciclopropil-3-(2-(3-fluoro-3-metilazetidin-1-il)-2-oxoetil)-3,7-dihidro-4H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-ona, que tiene la siguiente estructura:



El Compuesto 1 es un análogo de pirrolopirimidinona heterocíclica que modula los receptores de NMDA (por ejemplo, modulación alostérica positiva de los receptores de NMDA) y puede usarse para tratar trastornos psiquiátricos, neurológicos y del desarrollo neurológico, así como enfermedades del sistema nervioso.

Los moduladores del receptor de NMDA heterocíclico se han descrito previamente, por ejemplo, en WO 2017/100591. En WO 2017/100591, se describe un amplio intervalo de núcleos heterocíclicos que incluyen pirrolopirazinonas, tienopiridinonas, imidazopirazinonas, pirrolopiridinonas y pirrolopirimidinonas. La potencia de los compuestos en WO 2017/100591 se evaluó en función de la capacidad

de los compuestos para revertir la supresión de la respuesta de Ca^{2+} mediada por Ro 25-6981, un antagonista potente y selectivo de los receptores de glutamato de NMDA que contienen la subunidad NR2B, y ácido 5,7-diclorocinurénico (DCKA), un antagonista del receptor de NMDA selectivo que actúa en el sitio de la glicina del complejo del receptor de NMDA. La potencia en el ensayo Ro 25-6981/DCKA se cuantificó por % de respuesta recuperada (como se muestra, por ejemplo, en el cuadro 49 de WO 2017/100591) y/o por % de potenciación máxima medida. De los veintidós análogos más potentes ejemplificados en WO 2017/100591 en el ensayo Ro 25-6981/DCKA y clasificados por % de respuesta recuperada, ninguno demostró ser análogo de pirrolopirimidinona.

Existen cuarenta y ocho pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-onas ejemplificadas en WO 2017/100591. Este núcleo de pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-ona es idéntico al núcleo heterocíclico del Compuesto 1. La pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-ona más potente ejemplificada se basa en el % de respuesta recuperada en el ensayo Ro 25-6981/DCKA ejemplificado en WO 2017/100591 fue el Ejemplo 174 (91 % de respuesta recuperada). Véase, por ejemplo, el cuadro 49 de WO 2017/100591. Sin embargo, como se muestra en el cuadro 1 a continuación, el Compuesto 1 es aproximadamente tres veces más potente que el Ejemplo 174 en el ensayo de potenciación NR2B PAM de ovocito. Otra pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-ona ejemplificada en WO 2017/100591 es el Ejemplo 181. Se determinó que este compuesto es la pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-ona ejemplificada más potente basado en la potenciación máxima medida (%) en el ensayo Ro 25-6981/DCKA. Véase el cuadro 1 a continuación para ver una comparación de los Ejemplos 174 y 181 en estas dos lecturas de potencia de este ensayo Ro 25-6981/DCKA. De manera similar a los resultados con el Ejemplo 174, se encontró de nuevo que el Compuesto 1 era más potente (aproximadamente 2,5 veces) en el ensayo de potenciación de NR2B PAM de ovocito descrito. En conjunto, estos resultados evidencian la ventaja de la potencia clínica del Compuesto 1 sobre otros andamios basados en pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-ona.

En términos de análogos estructuralmente relacionados, WO 2017/100591 describe un isómero constitucional del Compuesto 1 (es decir, el Ejemplo 436) así como una variante de nitrógeno (es decir, el Ejemplo 285). A pesar de estas similitudes estructurales, se encontró que el Compuesto 1 posee una solubilidad acuosa superior, estabilidad microsomal, y/o propiedades farmacocinéticas en comparación con estos dos compuestos. El cuadro 2, por ejemplo, muestra que el Compuesto 1 tiene aproximadamente un aumento de 10 veces en la solubilidad

acuosa sobre el Ejemplo 436, el isómero constitucional del Compuesto 1. Se encontró que el Compuesto 1 tiene una excelente permeabilidad celular (32×10^{-6} cm/s para $A \rightarrow B$ y $B \rightarrow A$) y no es un sustrato para el eflujo en células MDCK transfectadas con MDR1 (relación de eflujo = 0,99). Véase el cuadro 3. El cuadro 4 muestra que el Compuesto 1 demuestra una estabilidad microsomal hepática de rata significativamente mejorada en comparación con el Ejemplo 285 ($t_{1/2} > 120$ min versus 37,8 min, respectivamente) y también demuestra un aclaramiento *in vivo* significativamente mejorado en ratas versus el Ejemplo 285 (aclaramiento IV = 7,4 ml/min/kg versus 22,2 ml/min/kg) y varios otros análogos ejemplificados en WO 2017/100591.

Los datos anteriores establecen numerosas ventajas clínicas del Compuesto 1, proporcionando así una solución para encontrar moduladores de NMDA alternativos que tengan, por ejemplo, potencia mejorada, solubilidad mejorada, estabilidad microsomal favorable y aclaramiento *in vivo*, y excelente permeabilidad celular.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LOS DIBUJOS

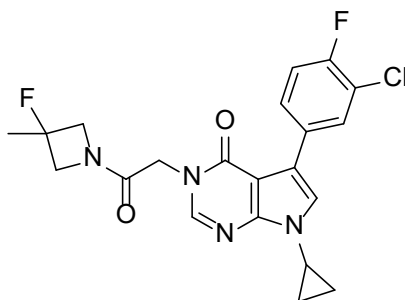
La figura 1 ilustra el efecto de mejora cognitiva del Compuesto oral 1 (0,3, 1,0 y 3,0 mg/kg) contra el deterioro cognitivo inducido por la fenciclidina-(PCP) en la prueba de Reconocimiento de Objetos Nuevos (NOR) de rata.

La figura 2 ilustra los resultados del Compuesto 1 en un modelo de eficacia de negatividad de desajuste.

DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCION

1. Compuestos

Aquí se proporciona un compuesto que tiene la siguiente estructura:



o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

2. Definiciones

Como se usa aquí los términos "sujeto" y "paciente" se pueden usar indistintamente, y significa un mamífero que necesita tratamiento, por ejemplo, animales de compañía (por ejemplo, perros, gatos y similares), animales de granja (por ejemplo, vacas, cerdos, caballos, ovejas, cabras y similares) y animales de

laboratorio (por ejemplo, ratas, ratones, conejillos de indias y similares). Típicamente, el sujeto es un ser humano que necesita tratamiento.

Se incluyen las sales farmacéuticamente aceptables, así como las formas neutras de los compuestos descritos aquí. Para su uso en medicinas, las sales de los compuestos se refieren a "sales farmacéuticamente aceptables" no tóxicas. Las formas de sales farmacéuticamente aceptables incluyen sales ácidas/aniónicas o básicas/catiónicas farmacéuticamente aceptables. Las sales básicas/catiónicas farmacéuticamente aceptables incluyen las sales de sodio, potasio, calcio, magnesio, dietanolamina, n-metil-D-glucamina, L-lisina, L-arginina, amonio, etanolamina, piperazina y trietanolamina. Las sales ácidas/aniónicas farmacéuticamente aceptables incluyen, por ejemplo, el acetato, bencenosulfonato, benzoato, bicarbonato, bitartrato, carbonato, citrato, diclorhidrato, gluconato, glutamato, glicililarsanilato, hexilresorcinato, bromhidrato, clorhidrato, malato, maleato, malonato, mesilato, nitrato, estearato, succinato, sulfato, tartrato y tosilato.

El término "portador farmacéuticamente aceptable" se refiere a un portador, adyuvante o vehículo no tóxico que no destruye la actividad farmacológica del compuesto con el que se formula. Los portadores, adyuvantes o vehículos farmacéuticamente aceptables que se pueden usar en las composiciones descritas aquí incluyen, pero no se limitan a, intercambiadores de iones, alúmina, estearato de aluminio, lecitina, proteínas séricas, tal como albúmina sérica humana, sustancias de tampón tal como fosfatos, glicina, ácido sórbico, sorbato de potasio, mezclas de glicéridos parciales de ácidos grasos vegetales saturados, agua, sales o electrolitos, tales como sulfato de protamina, fosfato hidrógeno de disodio, fosfato de hidrógeno de potasio, cloruro de sodio, sales de zinc, sílice coloidal, trisilicato de magnesio, polivinilpirrolidona, sustancias basadas en celulosa, polietilenglicol, carboximetilcelulosa de sodio, poliacrilatos, ceras, polímeros de bloque de polietilen-polioxipropileno, polietilenglicol y grasa de lana.

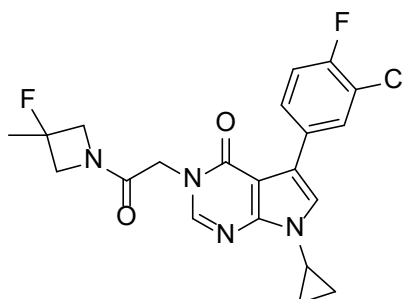
"Farmacéuticamente aceptable" significa entidades moleculares y composiciones que no producen una reacción adversa, alérgica u otra reacción adversa cuando se administra a un animal, o un ser humano, según corresponda.

Los términos "tratamiento", "tratar" y "que trata" se refieren a revertir, aliviar, reducir la probabilidad de desarrollar o inhibir el progreso de una enfermedad o trastorno, o uno o más de sus síntomas, como se describe aquí. En algunas modalidades, el tratamiento puede administrarse después de que se hayan desarrollado uno o más síntomas, es decir, tratamiento terapéutico. En otras

modalidades, el tratamiento puede administrarse en ausencia de síntomas. Por ejemplo, el tratamiento puede administrarse a un individuo susceptible antes del inicio de los síntomas (por ejemplo, en vista de una historia de síntomas y/o en vista de factores genéticos u otros factores de susceptibilidad), es decir, tratamiento profiláctico. El tratamiento también puede continuarse después de que los síntomas se hayan resuelto, por ejemplo, para prevenir o retrasar su recurrencia.

El término "cantidad efectiva" o "cantidad terapéuticamente efectiva" incluye una cantidad de un compuesto descrito aquí que provocará una respuesta médica o biológica de un sujeto, por ejemplo, una dosificación de entre 0,01-100 mg/kg de peso corporal/día.

"Compuesto 1" y "5-(3-cloro-4-fluorofenil)-7-ciclopropil-3-(2-(3-fluoro-3-metilazetidin-1-il)-2-oxoetil)-3,7-dihidro-4H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-ona" se usan de manera intercambiable y cada uno se refiere al compuesto que tiene la siguiente fórmula:



"PAM" se refiere a "modulador alostérico positivo".

3. Usos, formulación y administración

En un aspecto, el Compuesto 1, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo y las composiciones descritas aquí son útiles para tratar enfermedades y/o trastornos asociados con la actividad de los receptores de NMDA. Tales enfermedades y/o trastornos incluyen, por ejemplo, trastornos psiquiátricos, neurológicos y del desarrollo neurológico, así como enfermedades del sistema nervioso.

En otro aspecto, el Compuesto 1 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo y las composiciones descritas aquí son útiles para modular la actividad del receptor de NMDA.

En otro aspecto, el Compuesto 1 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo y las composiciones descritas aquí son útiles para tratar la esquizofrenia, la enfermedad de Alzheimer, el déficit de atención y la hiperactividad, el autismo y otras condiciones asociadas con el sistema nervioso.

En otro aspecto, el Compuesto 1 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo y las composiciones descritas aquí son útiles para tratar la esquizofrenia, que incluyen los síntomas positivos, negativos y cognitivos. La esquizofrenia es un trastorno mental debilitante que abarca tres dominios de síntomas: positivo (psicosis, alucinación, delirios), negativo (abstinencia) y cognitivo (reducción global de la capacidad cognitiva). Los síntomas positivos de la esquizofrenia generalmente surgen temprano en la edad adulta y se tratan con medicaciones antipsicóticas. Sin embargo, los déficits cognitivos son graves, surgen en la etapa prodrómica del adolescente, son resistentes a la terapia antipsicótica y son la causa principal de discapacidad de por vida medida por la función global deteriorada (incapacidad para vivir independientemente, desempleo, etc.). La hipofunción del receptor de NMDA es la hipótesis principal de la causa de la esquizofrenia. Esta hipótesis está respaldada por evidencia clínica sustancial que incluye farmacología clínica, electrofisiología, imagenología, cognición, neurociencia computacional, estudios neuroanatómicos y genética. En particular, varias líneas de evidencia implican la hipofunción de los receptores de NMDA en la esquizofrenia. Véase Frank S. Menniti, Craig W. Lindsley, P. Jeffrey Conn, Jayvardhan Pandit, Panayiotis Zagouras, and Robert A. Volkmann, *Allosteric Modulators for the Treatment of Schizophrenia: Targeting Glutamatergic Networks*. *Curr Top Med Chem*. 2013; 13(1): 26–54.

En otro aspecto, el Compuesto 1 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo y las composiciones descritas aquí son útiles para mejorar la función cognitiva y global, y/o prevenir el inicio de esquizofrenia, por ejemplo, en personas con riesgo de desarrollar esquizofrenia.

En otro aspecto, el Compuesto 1 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo y las composiciones descritas aquí son útiles para tratar déficits cognitivos y emocionales y otros síntomas asociados con trastornos psiquiátricos ejemplares que incluyen trastorno depresivo mayor, y que incluyen, pero no se limitan a, aquellos que padecen trastorno esquizoafectivo, trastorno bipolar, trastorno obsesivo-compulsivo, trastorno disfóbico, trastorno distímico, depresión psicótica, trastorno de estrés postraumático y otros trastornos de ansiedad. Por ejemplo, aquí se proporcionan métodos para tratar el trastorno por déficit de atención, ADHD (trastorno por déficit de atención con hiperactividad), esquizofrenia, ansiedad, mejora de la adicción a opiáceos, nicotina y/o etanol (por ejemplo, método para tratar dicha adicción o mejorar los efectos secundarios de la separación de tal adicción), lesión de la médula espinal, retinopatía diabética, lesión cerebral traumática y/o síndrome de estrés postraumático

en un paciente que lo necesite, que incluye administrar el Compuesto 1, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, o una composición del mismo.

En otro aspecto, el Compuesto 1 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo y las composiciones descritas aquí son útiles para tratar déficits cognitivos y emocionales y otros síntomas resultantes de enfermedades neurológicas, que incluyen pero no se limitan a un paciente que sufre un deterioro cognitivo leve o cualquier forma de demencia, enfermedad de Alzheimer, enfermedad de Parkinson, enfermedad de Huntington, esclerosis lateral amiotrófica, esclerosis múltiple y trastornos convulsivos.

En otro aspecto, el Compuesto 1 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo y las composiciones descritas aquí son útiles para tratar la disfunción causada por trastornos del desarrollo neurológico, por ejemplo, desarrollo cerebral anormal, que incluye, pero no se limita a Síndrome de Rett, trastorno por déficit de atención e hiperactividad, autismo y trastornos del espectro autista tal como el síndrome de Phelan-McDermid, y otras formas de discapacidad intelectual tal como síndrome de X frágil, esclerosis tuberosa, síndrome de Smith-Lemli-Opitz, síndrome de Down y epilepsias infantiles o trastornos del espectro de epilepsia/afasia tal como la epilepsia parcial benigna de Infancia con Picos Centro Temporales (BECTS) o Síndrome de Landau-Kleffner (LKS). También se proporciona un método para tratar pacientes que padecen una función cerebral anormal como resultado de infecciones del sistema nervioso central, exposición a agentes tóxicos u otros xenobióticos o toxinas naturales, y/o trastornos autoinmunes que incluyen, pero no se limitan a, encefalitis del receptor anti-NMDA.

En otro aspecto, el Compuesto 1 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo y las composiciones descritas aquí son útiles para tratar sujetos que tienen hipofunción del receptor de NMDA.

Se proporciona aquí un método para tratar a un sujeto que tiene una enfermedad, trastorno o condición descrita aquí que comprende administrar al sujeto una cantidad terapéuticamente efectiva del Compuesto 1, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, o una composición del mismo.

También se proporciona el uso del Compuesto 1, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, o una composición del mismo, para la fabricación de un medicamento para tratar una enfermedad, trastorno o condición descrita aquí.

También se proporciona el Compuesto 1, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, o una composición del mismo, para uso en el tratamiento de una enfermedad, trastorno o condición descrita aquí.

En un aspecto, se proporcionan composiciones farmacéuticamente aceptables que comprenden el Compuesto 1; y un portador farmacéuticamente aceptable. Estas composiciones pueden usarse para tratar una o más de las enfermedades, trastornos y condiciones descritas anteriormente.

Las composiciones descritas pueden administrarse por vía oral, parenteral, mediante pulverización por inhalación, tópica, rectal, nasal, bucal, vaginal o a través de un reservorio implantado. El término "parenteral" como se usa aquí incluye técnicas de inyección o infusión subcutánea, intravenosa, intramuscular, intraarticular, intra-sinovial, intraesternal, intratecal, intrahepática, intralesional e intracraneal. Las formas de dosificación líquidas, las preparaciones inyectables, las formas de dispersión sólida y las formas de dosificación para administración tópica o transdérmica de un compuesto se incluyen aquí.

La cantidad de Compuesto 1 que puede combinarse con materiales portadores para producir una composición en una única forma de dosificación variará dependiendo del paciente a tratarse y del modo particular de administración. En algunas modalidades, las composiciones proporcionadas pueden formularse de modo que una dosificación de entre 0,01-100 mg/kg de peso corporal/día del compuesto proporcionado, tal como por ejemplo, 0,1-100 mg/kg de peso corporal/día, se puede administrar a un paciente que recibe estas composiciones.

También debe entenderse que una dosificación específica y un régimen de tratamiento para un paciente en particular dependerán de una variedad de factores, que incluyen edad, peso corporal, salud general, sexo, dieta, tiempo de administración, velocidad de excreción, combinación de fármacos, el juicio del médico tratante y la gravedad de la enfermedad en particular que se está tratando. La cantidad de un compuesto proporcionado en la composición también dependerá del compuesto particular en la composición.

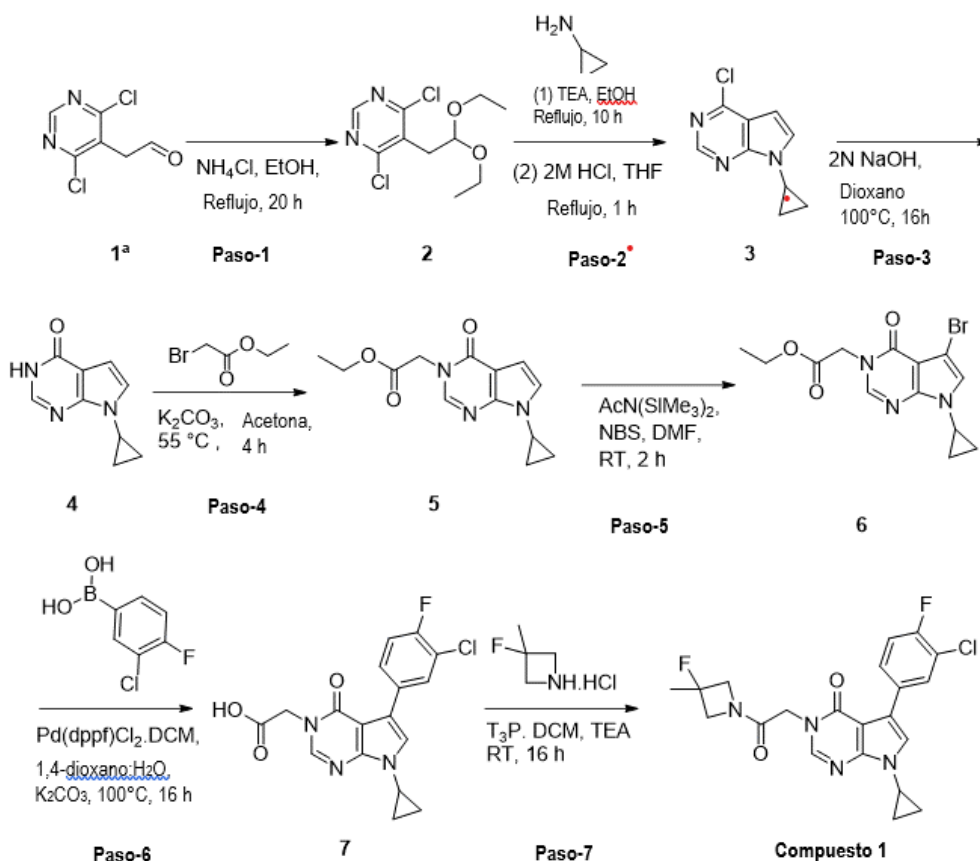
Las terapias de combinación que usan una cantidad terapéuticamente efectiva de Compuesto 1, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, y una cantidad efectiva de uno o más agentes farmacéuticamente activos adicionales también se incluyen aquí. En un aspecto, por ejemplo, se proporciona el uso del Compuesto 1, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, y una cantidad efectiva de uno o más antipsicóticos atípicos para tratar un trastorno o enfermedad descrita aquí. Los antipsicóticos atípicos incluyen, por ejemplo, lurasidona, quetiapina, olanzapina, asenapina, risperidona, ziprasidona, clozapina, mel perona, cariprazina, aripiprazol, pimavanserina, ITI-007, RP506 y remoxiprida.

EJEMPLIFICACIÓN

Los ejemplos representativos que siguen están destinados a ayudar a ilustrar la presente descripción, y no pretenden, ni debe considerarse, que limitan el alcance de la invención.

EJEMPLO 1

Preparación de 5-(3-cloro-4-fluorofenil)-7-ciclopropil-3-(2-(3-fluoro-3-metilazetidin-1-il)-2-oxoetil)-3,7-dihidro-4H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-ona (Compuesto 1)



Paso 1: Preparación de 4,6-dicloro-5-(2,2-dietoxietil) pirimidina (2):

A una solución de 2-(4,6-dicloropirimidin-5-il)acetaldehído (1,5 g, 26,17 mmol) en etanol (250 ml), se agregó cloruro de amonio (2,11 g, 39,52 mmol) y la mezcla de reacción se sometió a reflujo durante 20 h. La mezcla de reacción se concentró; el residuo se diluyó con agua (50 ml) y se extrajo con acetato de etilo (2 x 100 ml). La capa orgánica combinada se secó sobre sulfato de sodio anhidro, se filtró y se concentró para proporcionar el compuesto del título 4,6-dicloro-5-(2,2-

dietoxietil)pirimidina (**2**, 6,9 g, crudo) como un aceite incoloro. Calculado (M+H): 265,04; Encontrado (M+H): 265.

Paso 2: Preparación de 4-cloro-7-ciclopropil-7H-pirrolo[2,3-d]pirimidina (3**):**

A una solución de 4,6-dicloro-5-(2,2-dietoxietil)pirimidina (**2**, 6,9 g, 26,02 mmol) y trietilamina (3,63 ml, 26,02 mmol) en etanol (150 ml), ciclopropilamina (2 ml, 28,62 mmol) se añadió y la mezcla de reacción se calentó a reflujo durante 10 h. La mezcla de reacción se evaporó al vacío; el residuo se diluyó con agua (100 ml) y se extrajo con acetato de etilo (2 x 200 ml). La capa orgánica combinada se secó sobre sulfato de sodio anhidro, se filtró y se concentró. El residuo se disolvió en tetrahidrofurano (150 ml), se añadió ácido clorhídrico 2 M (75 ml) y la mezcla de reacción se calentó a reflujo durante 1 h. La mezcla de reacción se concentró, el residuo se disolvió en agua (100 ml), se basificó a pH 10 con solución de hidróxido de sodio y se extrajo con acetato de etilo (2 x 200 ml). La capa orgánica combinada se secó sobre sulfato de sodio anhidro, se filtró y se concentró para proporcionar el compuesto del título 4-cloro-7-ciclopropil-7H-pirrolo[2,3-d]pirimidina (**3**, 5 g, crudo) como semi-sólido parduzco. Calculado (M+H): 194,04; Encontrado (M+H): 194.

Paso 3: Preparación de 7-ciclopropil-3,7-dihidro-4H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-ona (4**):**

Una solución de 4-cloro-7-ciclopropil-7H-pirrolo[2,3-d]pirimidina (**3**, 19 g, 98,44 mmol) en dioxano (400 ml) y una solución de hidróxido de sodio 2N (400 ml) se calentó a 100 °C durante 16 h. La mezcla de reacción se concentró para eliminar el dioxano. El residuo acuoso se diluyó con agua (~200 ml) y se acidificó a pH ~4-6 usando una solución de ácido clorhídrico 1,5N. El sólido precipitado se filtró, se lavó con hexano y se secó bajo succión para proporcionar el compuesto del título 7-ciclopropil-3,7-dihidro-4H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-ona (**4**, 14,93 g, 87 % de rendimiento) como un sólido parduzco. Calculado (M+H): 176,07; Encontrado (M+H): 176.

Paso 4: Preparación de 2-(7-ciclopropil-4-oxo-4,7-dihidro-3H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-3-il)acetato de etilo (5**):**

A una solución de 7-ciclopropil-3,7-dihidro-4H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-ona (**4**, 2,7 g, 15,41 mmol) en acetona (60 ml) se añadieron 2-bromoacetato de etilo (5,1 g, 30,8 mmol) y carbonato de potasio (6,2 g, 46,2 mmol) a temperatura ambiente y la mezcla de reacción se agitó a 55°C durante 4 h. La mezcla de reacción se enfrió a temperatura ambiente y se filtró. El sólido se lavó con acetato de etilo (100 ml) y el filtrado combinado se evaporó para obtener el producto crudo, que se purificó por

cromatografía en columna de gel de sílice usando acetato de etilo al 40 % en hexano para proporcionar el compuesto del título 2-(7-ciclopropil-4-oxo-4,7-dihidro-3H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-3-il)acetato de etilo (**5**, 3,5 g, 87 % de rendimiento) como un sólido blanquecino. Calculado (M+H): 262,11; Encontrado (M+H): 262.

Paso 5: Preparación de 2-(5-bromo-7-ciclopropil-4-oxo-4,7-dihidro-3H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-3-il)acetato de etilo (6**):**

A una solución agitada de 2-(7-ciclopropil-4-oxo-4,7-dihidro-3H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-3-il)acetato de etilo (**5**, 3 g, 11,4 mmol) en N,N-dimetilformamida (200 ml), N,O-(bis-trimetilsilil)acetamida (5,1 g, 25 mmol) y N-bromosuccinimida (2,02 g, 11,4 mmol) se añadió y la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 2 h. La mezcla de reacción se templó con agua fría (400 ml) y se extrajo con acetato de etilo (2 x 200 ml). La capa orgánica combinada se secó sobre sulfato de sodio anhidro, se filtró y se concentró. El producto crudo se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice usando acetato de etilo al 35 % en hexano para proporcionar el compuesto del título 2-(5-bromo-7-ciclopropil-4-oxo-4,7-dihidro-3H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-3-il)acetato de etilo (**6**, 2,1 g, 54 % de rendimiento) como un sólido blanquecino. Calculado (M+H): 340,02; Encontrado (M+H): 340.

Paso 6: Preparación de ácido 2-(5-(3-cloro-4-fluorofenil)-7-ciclopropil-4-oxo-4,7-dihidro-3H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-3-il)acético (7**):**

A una solución de 2-(5-bromo-7-ciclopropil-4-oxo-4,7-dihidro-3H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-3-il)acetato de etilo (**6**, 7,5 g, 22,04 mmol) y ácido (3-cloro-4-fluorofenil)borónico (5,76 g, 33,07 mmol) en una mezcla de 1,4-dioxano:agua (250 ml, 4:1), carbonato de potasio (9,15 g, 66,14 mmol) se añadió. La mezcla de reacción se purgó con argón durante 20 min. Luego se añadió [1,1'-bis(difenilfosfino)ferroceno]dicloropaladio (II), complejo con diclorometano (0,9 g, 1,10 mmol) y la mezcla de reacción se agitó a 100°C durante 16 h. La mezcla de reacción se filtró a través de lecho de celite, el filtrado se diluyó con agua (100 ml) y se lavó con acetato de etilo (2 x 200 ml). La capa orgánica se desechó. La capa acuosa se acidificó con ácido clorhídrico 1,5 N, el sólido precipitado se filtró y se secó con succión para proporcionar el compuesto del título ácido 2-(5-(3-cloro-4-fluorofenil)-7-ciclopropil-4-oxo-4,7-dihidro-3H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-3-il)acético (**7**, 6 g, crudo) como un sólido blanquecino. Calculado (M+H): 362,06; Encontrado (M+H): 362,1.

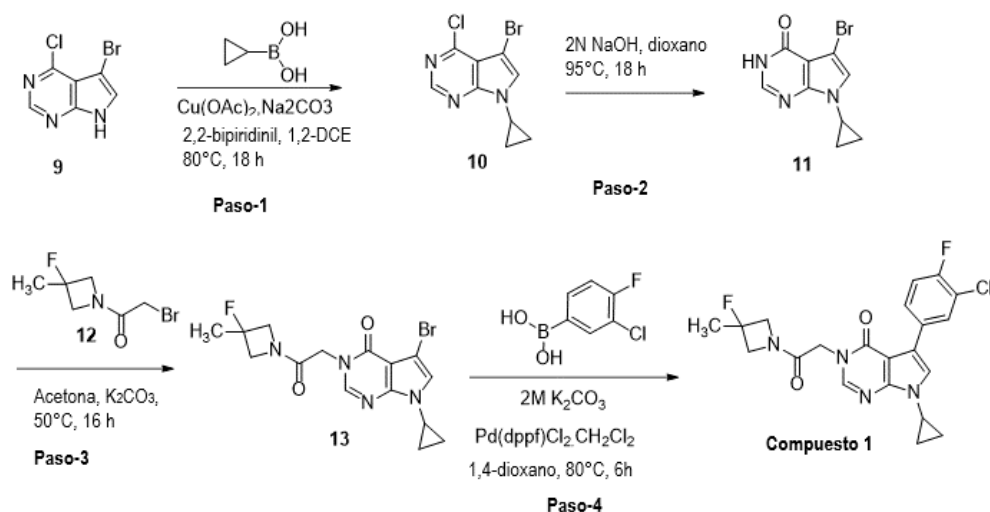
Paso 7: Preparación de 5-(3-cloro-4-fluorofenil)-7-ciclopropil-3-(2-(3-fluoro-3-metilazetidín-1-il)-2-oxoetil)-3,7-dihidro-4H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-ona:

A una solución agitada de ácido 2-(5-(3-cloro-4-fluorofenil)-7-ciclopropil-4-oxo-

4,7-dihidro-3H-pirrol[2,3-d]pirimidin-3-il)acético (7, 1,8 g, 4,9 mmol) en diclorometano (70 ml) se añadió trietilamina (1,36 mL, 9,9 mmol) y clorhidrato de 3-fluoro-3-metilazetidina (1,24 g, 9,9 mmol) a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se agitó durante 10 minutos, luego se añadió solución de anhídrido de propilfosfónico (T₃P) (6,33 ml, 9,9 mmol, 50 % en acetato de etilo) a 0 °C y la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 16 h. La mezcla de reacción se diluyó con agua (50 ml) y se extrajo con diclorometano (3 x 70 ml). La capa orgánica combinada se secó sobre sulfato de sodio anhidro, se filtró y se evaporó para obtener el producto crudo, que se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice usando metanol al 4 % en diclorometano para proporcionar el compuesto del título 5-(3-cloro-4-fluorofenil)-7-ciclopropil-3-(2-(3-fluoro-3-metilazetidín-1-il)-2-oxoetil)-3,7-dihidro-4H-pirrol[2,3-d]pirimidin-4-ona (**Compuesto 1**, 1,1 g, 51 % de rendimiento) como un sólido blanco. Calculado (M+H): 433,12; Encontrado (M+H): 433,1, ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ (ppm): 8,26 (d, *J* = 6 Hz, 1H), 8,15 (s, 1H), 7,93-7,91 (m, 1H), 7,58 (s, 1H), 7,35 (t, *J* = 8,8 Hz, 1H), 4,67 (s, 2H), 4,45-4,32 (m, 2H), 4,05-3,97 (m, 2H), 3,64-3,59 (m, 1H), 1,61 (d, *J* = 22 Hz, 3H), 1,10-1,00 (m, 4H). Pureza HPLC: 99,28 %.

EJEMPLO 2

Preparación alternativa de 5-(3-cloro-4-fluorofenil)-7-ciclopropil-3-(2-(3-fluoro-3-metilazetidín-1-il)-2-oxoetil)-3,7-dihidro-4H-pirrol[2,3-d]pirimidin-4-ona (**Compuesto 1**)



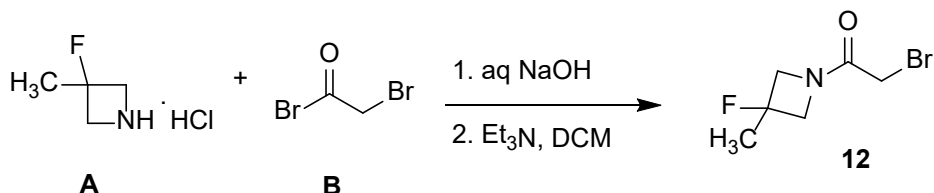
Paso 1: Preparación de 5-bromo-4-cloro-7-ciclopropil-7H-pirrolo[2,3-d]pirimidina **10:**

A una solución de 5-bromo-4-cloro-7H-pirrolo[2,3-d]pirimidina **9** (10,0 g, 43,10 mmol) en 1,2-dicloroetano (100,0 ml) se le añadió ácido ciclopropilborónico (7,41 g, 86,20 mmol), carbonato de sodio (10,0 g, 86,20 mmol) y 2,2'-bipiridilo (6,70 g, 43,53 mmol). Luego se purgó oxígeno en la mezcla de reacción durante 30 minutos y se añadió acetato de cobre (8,21 g, 45,25 mmol). La suspensión se agitó a 80 °C durante 18 h y, una vez completada la mezcla de reacción se templó con ácido clorhídrico 1N a temperatura ambiente (hasta pH = 1,0). La solución se extrajo con diclorometano (4 x 100 ml) y la capa orgánica combinada se secó sobre sulfato de sodio anhidro. La solución se concentró y el residuo se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice (usando acetato de etilo al 10 % en hexano) para proporcionar el compuesto del título 5-bromo-4-cloro-7-ciclopropil-7H-pirrolo[2,3-d]pirimidina **10** como un sólido blanquecino. Rendimiento: 8,00 g, 68,4 %. MS (ESI): m/z 271,94 [M+1]⁺.

Paso 2: Síntesis de 5-bromo-7-ciclopropil-3,7-dihidro-4H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-ona (11**)**

Una solución de 5-bromo-4-cloro-7-ciclopropil-7H-pirrolo[2,3-d]pirimidina **10** (8,00 g, 29,52 mmol) en dioxano (40,00 ml) y una solución de hidróxido de sodio 2N (40,00 ml) se calentó a 95 °C durante 18 horas. Después de completarse, la mezcla de reacción se concentró para eliminar el dioxano. El residuo acuoso se diluyó con agua (alrededor de 50 ml) y se acidificó a un pH de alrededor de 3 usando una solución de ácido clorhídrico 1N. El sólido precipitado se filtró, se lavó con hexano y se secó con succión para proporcionar el compuesto del título 5-bromo-7-ciclopropil-3,7-dihidro-4H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-ona **11** como sólido blanquecino. Rendimiento: 5,80 g, 77,70 %. MS (ESI) m/z 254,05 [M+1]⁺.

Síntesis del intermedio 2-bromo-1-(3-fluoro-3-metilazetidín-1-il)etan-1-ona (12**)**



A una solución agitada del compuesto A (44,0 g, 352 mmol) en DCM (400 ml) se le añadió NaOH (solución 1,0 M, 14,0 g, 352 mmol) y se agitó la solución bifásica a temperatura ambiente durante 30 minutos. La solución se separó y la fase acuosa se extrajo con DCM (50 ml). La capa orgánica combinada se secó sobre Na₂SO₄ anhidro

y se llevó a un RBF. La solución se enfrió a $-10\text{ }^{\circ}\text{C}$ y luego se añadió lentamente bromuro de bromoacetilo **B** (106,5 ml, 528 mmol) (para mantener la temperatura interna a $-5\text{ }^{\circ}\text{C}$) y se agitó a la misma temperatura durante 2 h. Después de completarse, la mezcla de reacción se templó con una solución fría de NaHCO_3 saturada y se separaron ambas capas. La capa orgánica se secó sobre Na_2SO_4 anhidro y se concentró bajo presión reducida. El residuo aceitoso se filtró rápidamente a través de la columna de gel de sílice (20-30 % de EtOAc en hexanos) para proporcionar 2-bromo-1-(3-fluoro-3-metilazetidin-1-il)etan-1-ona **12** como un aceite marrón claro. Rendimiento: 53,0 g (73 %). MS (ESI) m/z 209,98 $[\text{M}+1]^+$.

Paso 3: Síntesis de 5-bromo-7-ciclopropil-3-(2-(3-fluoro-3-metilazetidin-1-il)-2-oxoetil)-3,7-dihidro-4H-pirrólo[2,3-d]pirimidin-4-ona 13

A una solución de 5-bromo-7-ciclopropil-3-(2-(3-fluoro-3-metilazetidin-1-il)-2-oxoetil)-3,7-dihidro-4H-pirrólo[2,3-d]pirimidin-4-ona **11** (11,0 g, 43 mmol) en acetona (110 ml) se agregaron 2-bromo-1-(3-fluoro-3-metilazetidin-1-il) etan-1-ona **12** (10,9 g, 52 mmol) y K_2CO_3 (11,8 g, 86 mmol) a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se agitó a 60°C durante 16 h. Una vez completada, la mezcla de reacción se enfrió a temperatura ambiente, se filtró a través de Celite® y se lavó con acetona (500 ml). El filtrado combinado se evaporó para obtener el producto crudo, que se purificó mediante lavado exhaustivo con éter dietílico para proporcionar el compuesto del título 5-bromo-7-ciclopropil-3-(2-(3-fluoro-3-metilazetidin-1-il)-2-oxoetil)-3,7-dihidro-4H-pirrólo[2,3-d]pirimidin-4-ona **13** como un sólido marrón claro. Rendimiento: 14,9 g (89,7%). MS (ESI) m/z 294,23 $[\text{M}+1]^+$.

Paso 4: Síntesis de 5-(3-cloro-4-fluorofenil)-7-ciclopropil-3-(2-(3-fluoro-3-metilazetidin-1-il)-2-oxoetil)-3,7-dihidro-4H-pirrólo[2,3-d]pirimidin-4-ona (Compuesto 1)

A una solución de 5-bromo-7-ciclopropil-3-(2-(3-fluoro-3-metilazetidin-1-il)-2-oxoetil)-3,7-dihidro-4H-pirrólo[2,3-d]pirimidin-4-ona **13** (0,5 g, 1,3 mmol) en 1,4-dioxano (4,0 mL) se agregaron ácido (3-cloro-4-fluorofenil)borónico (0,22 g, 1,3 mmol) y K_2CO_3 (0,36 g, 2,6 mmol, solución 2 M). La mezcla de reacción se desgasificó primero con argón durante 10 minutos y luego se añadió $\text{PdCl}_2(\text{dppf})\text{DCM}$ (0,047 g, 0,065 mmol) bajo argón. La mezcla de reacción se agitó a 80°C durante 6 h. Una vez completada, la mezcla de reacción se enfrió a temperatura ambiente, se filtró y se lavó con DCM (30 ml). El filtrado combinado se evaporó para obtener el producto crudo, que se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice (metanol al 5-6 % en DCM) y se lavó con THF para proporcionar el compuesto del título 5-(3-cloro-4-

fluorofenilo)-7-ciclopropil-3-(2-(3-fluoro-3-metilazetidin-1-il)-2-oxoetil)-3,7-dihidro-4H-pirrol[2,3-d]pirimidin-4-ona (Compuesto 1) como un sólido gris claro. Rendimiento: 0,170 g (30 %). MS (ESI) m/z 433,23 [M+1]⁺.

Ensayos biológicos

Como se muestra por los datos presentados a continuación, el Compuesto 1 es un potente modulador alostérico positivo en todos los subtipos NMDA NR2A, NR2B, NR2C y NR2D.

Actividad de 2EVC NR2A PAM de ovocito

En la prueba de pinza de voltaje de 2 electrodos (2EVC) de ovocitos que expresan hNR2A y activados con glutamato 7 μ M y glicina 13 μ M, la potenciación de la corriente (100 % de potenciación es equivalente a la duplicación de la corriente inducida por glutamato/glicina) y la potencia del Compuesto 1 se midió. EC₅₀ se refiere a la concentración de un compuesto que da una respuesta media máxima.

Ovocito 2EVC NR2A PAM: EC ₅₀ promedio (nM)	Ovocito 2EVC NR2A PAM: Potenciación % Max promedio (%)	Ovocito 2EVC NR2A PAM: Concentración requerida para duplicación de corriente (nM)
439	350	220

Actividad de 2EVC NR2C PAM de ovocito

Descripción: en la prueba de pinza de voltaje de 2 electrodos (2EVC) de ovocitos que expresan hNR2C y se activan con glutamato 10 μ M y glicina 10 μ M, la potenciación de la corriente (potenciación del 100 % es equivalente a la duplicación de la corriente inducida por glutamato/glicina) y se midió la potencia del Compuesto 1. EC₅₀ se refiere a la concentración de un compuesto que da una respuesta media máxima.

Ovocito 2EVC NR2C PAM: EC ₅₀ promedio(nM)	Ovocito 2EVC NR2C PAM: Potenciación % Max Promedio (%)	Ovocito 2EVC NR2C PAM: Concentración Requerida para duplicación de corriente (nM)
1203	1800	120

Actividad de 2EVC NR2D PAM de ovocito

Descripción: en la prueba de pinza de voltaje de 2 electrodos (2EVC) de ovocitos que expresan hNR2D y activados con glutamato 10 μ M y glicina 10 μ M, la potenciación de la corriente (potenciación del 100 % es equivalente a la duplicación de la corriente inducida por glutamato/glicina) y se midió la potencia del Compuesto 1. EC₅₀ se refiere a la concentración de un compuesto que da una respuesta media máxima.

Ovocito 2EVC NR2D PAM: EC ₅₀ promedio (nM)	Ovocito 2EVC NR2D PAM: Potenciación % Max promedio (%)	Ovocito 2EVC NR2D PAM: Concentración Requerida para duplicación de corriente (nM)
1887	1700	165

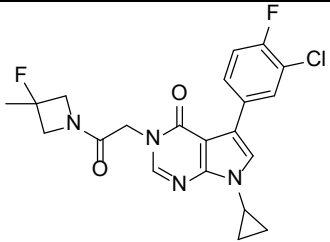
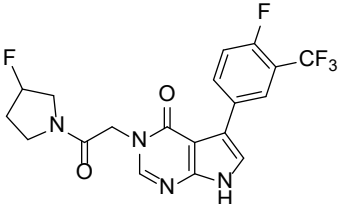
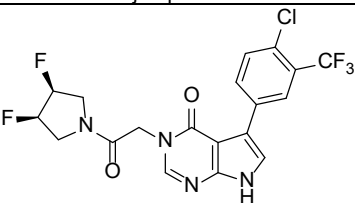
Actividad de 2EVC NR2B PAM de ovocito

En la prueba de pinza de voltaje de 2 electrodos (2EVC) de ovocitos que expresan hNR2B y activados con glutamato 5 μ M y glicina 3 μ M, la potenciación de la corriente (potenciación del 100 % es equivalente a la duplicación la corriente inducida por glutamato/glicina) y la potencia del compuesto 1 se midió. EC₅₀ se refiere a la concentración de un compuesto que da una respuesta media máxima.

Ovocito 2EVC NR2B PAM: EC ₅₀ promedio (nM)	Ovocito 2EVC NR2B PAM: Potenciación % Max promedio (%)	Ovocito 2EVC NR2B PAM: Concentración Requerida para duplicación de corriente (nM)
446	478	160

Como se muestra en el cuadro 1 a continuación, el Compuesto 1 se comparó con el Ejemplo 174 (el compuesto ejemplificado más potente probado en el ensayo Ro 25-6981/DCKA cuantificado por el % de respuesta recuperada) y el Ejemplo 181 (el compuesto ejemplificado más potente probado en el ensayo Ro 25-6981/DCKA cuantificado por el % de potenciación máxima medida). Como se muestra en el cuadro, el Compuesto 1 es aproximadamente tres veces y 2,5 veces más potente en el ensayo de potenciación de NR2B PAM de ovocito que el Ejemplo 174 y el Ejemplo 181, respectivamente. Esta mejora es ventajosa porque, una mayor potencia en el ensayo de potenciación de NR2B PAM de ovocito es, en un aspecto anticipada para proporcionar un beneficio terapéutico mejorado en seres humanos.

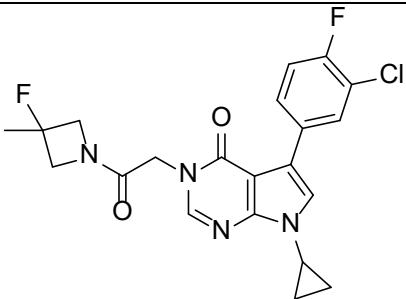
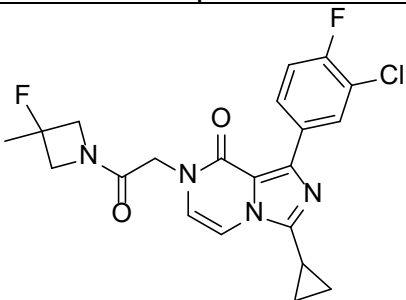
CUADRO 1

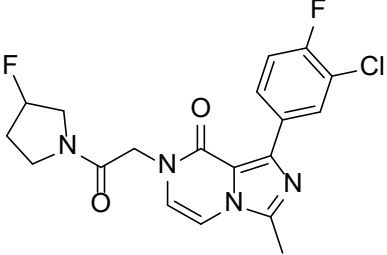
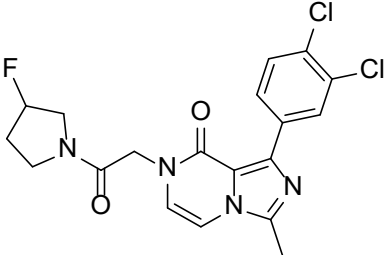
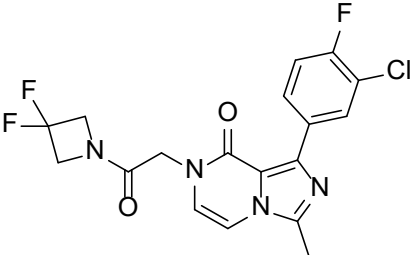
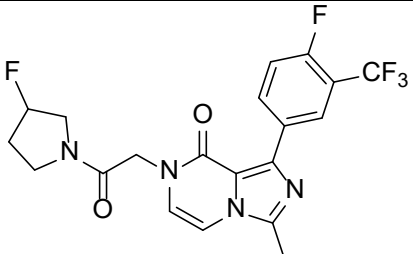
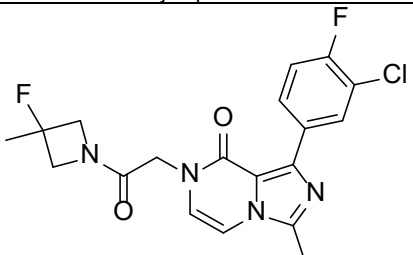
 Compuesto 1	446	No determinado	No determinado
Ejemplo comparador de WO 2017/100591			
 Ejemplo 174	1.500	124	91 %
 Ejemplo 181	1.190	129	69 %

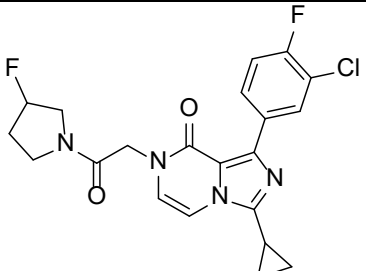
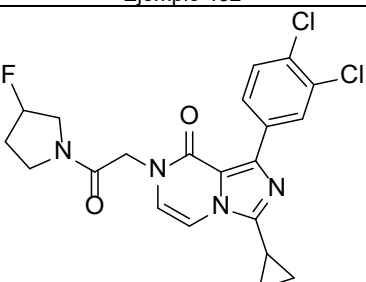
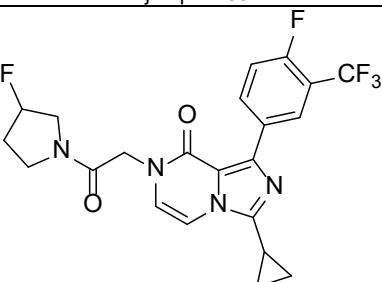
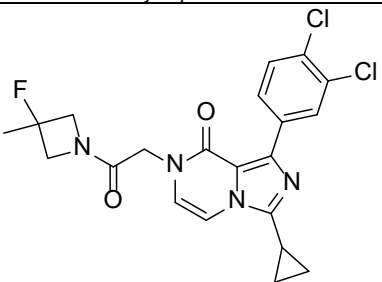
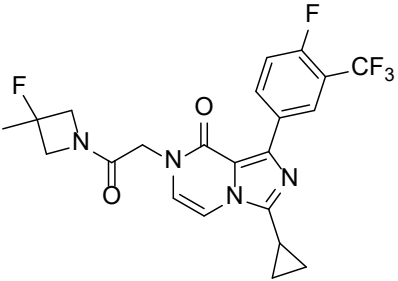
Determinaciones de solubilidad

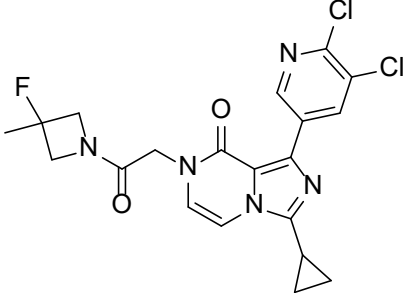
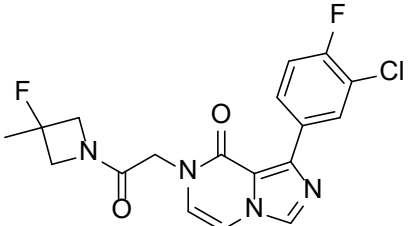
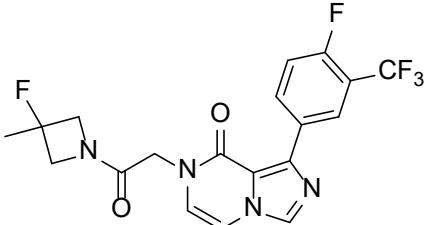
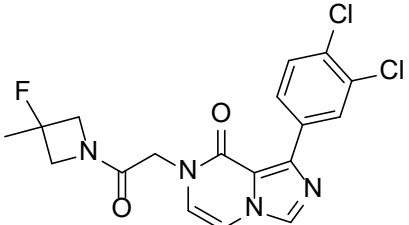
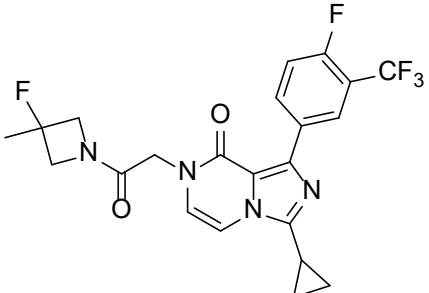
La solubilidad del Compuesto 1 se investigó y comparó con el Ejemplo 436 de WO 2017/100591, un isómero constitucional (núcleo de imidazopirazinona) del Compuesto 1 que demostró una potencia (100 % de respuesta recuperada) en el ensayo Ro 25-6981/DCKA. La solubilidad acuosa del compuesto de prueba se determinó en solución salina tamponada con fosfato, pH 7,4, medida por el método de matraz de agitación. En este ensayo, la solución madre de DMSO del compuesto de prueba se añadió al tampón seguido de equilibrio (agitación), filtración y determinación de la cantidad soluble por HPLC-UV. Como se muestra en el cuadro, se encontró que el Compuesto 1 tiene un aumento aproximado de 10 veces en la solubilidad acuosa (29 uM contra 3 uM) sobre el isómero constitucional del Ejemplo 436. Otros comparadores de imidazopirazinona de WO 2017/100591 se proporcionan como referencia. Todos los análogos comparadores están activos y los datos de potencia están disponibles en WO 2017/100591. Esta mejora es ventajosa porque la solubilidad acuosa mejorada, en un aspecto, es anticipada para proporcionar un rendimiento mejorado *in vivo* en humanos.

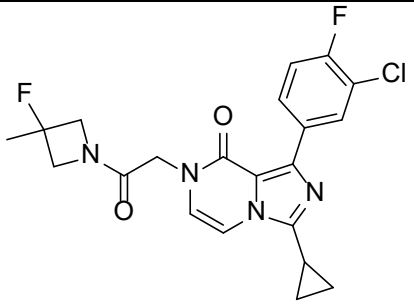
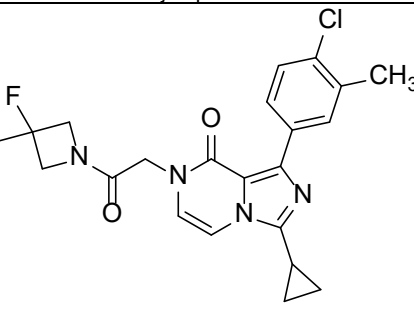
CUADRO 2

	Solubilidad acuosa (uM)
 Compuesto 1	29
Comparador clave de WO 2017/100591	
 Ejemplo 436	3
Comparadores adicionales de WO 2017/100591	

 Ejemplo 432	16
 Ejemplo 429	26
 Ejemplo 430	43
 Ejemplo 427	7
 Ejemplo 426	20

 Ejemplo 432	4
 Ejemplo 433	30
 Ejemplo 434	5
 Ejemplo 435	14
 Ejemplo 434	2

 Ejemplo 437	7
 Ejemplo 445	14
 Ejemplo 446	9
 Ejemplo 447	69
 Ejemplo 438	2

 Ejemplo 441	3
 Ejemplo 443	91

Determinaciones de permeabilidad y eflujo

Los sistemas de monocapa consisten en una capa celular apretada que crece sobre un soporte poroso para separar dos compartimientos de fluido. Son ampliamente consideradas como las herramientas *in vitro* más sofisticadas para el modelado de rendimiento mediano a alto de barreras farmacocinéticas importantes, tal como el epitelio intestinal, la barrera hematoencefálica, etc. (J Pharm Sci. 2012 Apr; 101(4): 1337–1354). Dos sistemas que se aplican ampliamente en estudios de monocapa son la línea celular de carcinoma de colon humano Caco-2 y las células MDCKII y LLC-PK1 transfectadas con MDR1. En los ensayos de monocapa, se mide el flujo de un compuesto a través de la monocapa de células. El flujo unidireccional del compuesto de interés se determina aplicándolo al lado apical o al basolateral de la capa celular y monitoreando la redistribución resuelta en el tiempo entre los dos compartimientos. La relación de transporte vectorial (a menudo denominada relación de eflujo) se determina mediante la aplicación de mediciones bidireccionales [apical-a-basolateral (A-B) y basolateral-a-apical (B-A)]. En general, una relación superior a 2 o inferior a 0,5 indica la contribución de un proceso de transporte activo al flujo neto de un compuesto. En ausencia de tales procesos de transporte, esta relación es de aproximadamente 1.

CUADRO 3

Permeabilidad A-B MDCK	Permeabilidad B-A MDCK	Relación de eflujo
(10 ⁻⁶ cm/seg)	(10 ⁻⁶ cm/seg)	
32,3	32,1	0,99

Como se muestra en el cuadro 3, el Compuesto 1 penetra bien las membranas y no está sujeto a eflujo en el ensayo de eflujo de MDCK.

Determinaciones de estabilidad de microsomas humanos y de ratas

El hígado es el sitio más importante del metabolismo de los fármacos en el cuerpo. Aproximadamente el 60 % de los compuestos comercializados se eliminan mediante el metabolismo hepático mediado por CYP (McGinnity, D. F.; Soars, M. G.; Urbanowicz, R. A. and Riley, R. J.; Drug Metab. Disp. 32, 1247, (2004)). Los microsomas hepáticos son fracciones subcelulares que contienen enzimas metabolizadoras de fármacos unidas a la membrana. Los microsomas se pueden usar para determinar el aclaramiento intrínseco *in vitro* de un compuesto. El uso de microsomas específicos de especies se puede utilizar para permitir una comprensión de las diferencias entre especies.

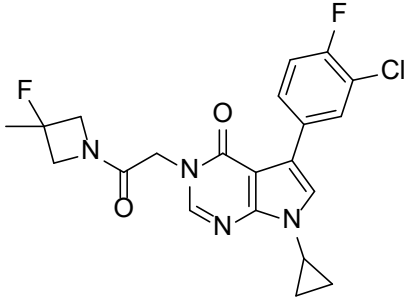
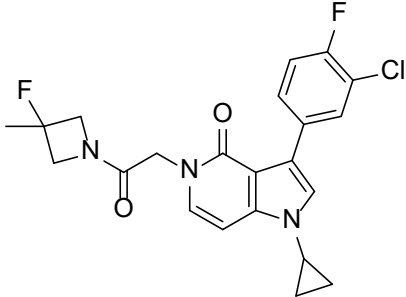
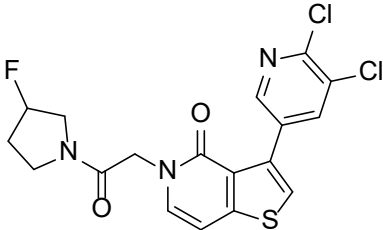
% HLM Metabolizado después de 30 min	HLM t _½ (Min)	HLM mCL _{int} (μL/min/mg)	% RLM Metabolizado después de 30 min	RLM t _½ (Min)	RLM mCL _{int} (μL/min/mg)
34,3	50,8	27,3	1,83	>120	<5

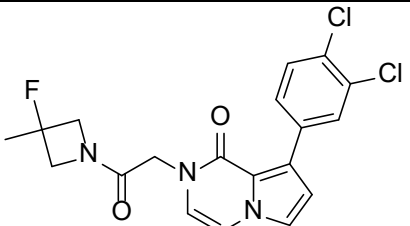
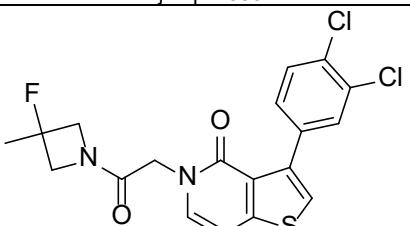
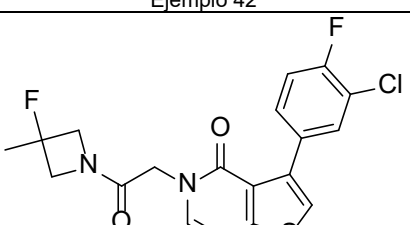
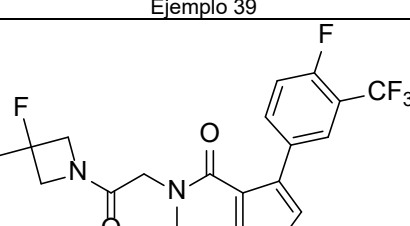
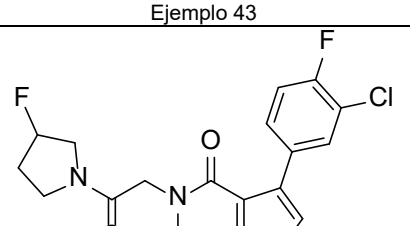
Como se muestra, el compuesto 1 demuestra una buena estabilidad en los microsomas hepáticos humanos (HLM) y una excelente estabilidad en los microsomas hepáticos de rata (RLM).

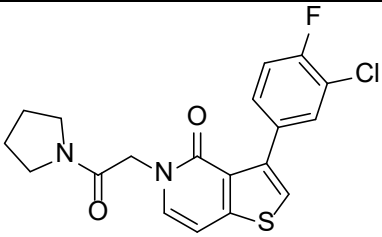
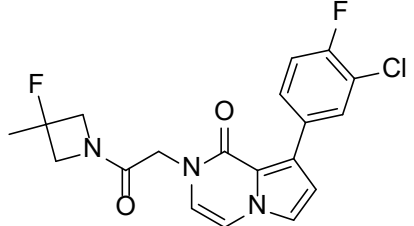
Aclaramiento *in vivo*

El compuesto 1 también mostró una estabilidad microsomal *in vitro* mejorada y un aclaramiento *in vivo* en el estudio farmacocinético IV de rata. Como se muestra a continuación, el aclaramiento *in vivo* del Compuesto 1 es significativamente menor que el de las PAM de NMDA relacionadas estructuralmente ejemplificadas en WO 2017/100591 para las cuales se dispone de datos de aclaramiento de IV de rata. De particular interés es el Ejemplo 285, un análogo de pirrolopiridinona que demostró una excelente potencia en el ensayo Ro 25-6981/DCKA y es excepcionalmente estructuralmente similar al Compuesto 1. También se proporcionan datos de estabilidad microsomal de la rata. Estas mejoras en el aclaramiento *in vitro* e *in vivo* son ventajosas porque el aclaramiento reducido, en un aspecto, es anticipado para proporcionar un mejor rendimiento *in vivo* en humanos.

CUADRO 4

	Ovocito 2EVC NR2B PAM: EC ₅₀ (nM)	Estabilidad de microsoma hepático de rata (RLM) t _{1/2} (min)	Aclaramiento In vivo (mL/min/kg)
 Compuesto 1	446	>120	7,4
Comparador clave de WO 2017/100591			
 Ejemplo 285	200	37,8	22,2
Comparadores adicionales de WO 2017/100591			
 Ejemplo 12	5630	200	19,4

 Ejemplo 396	589	75,0	23,4
 Ejemplo 42	463	36,0	26,9
 Ejemplo 39	726	42	27,8
 Ejemplo 43	441	60,8	29,4
 Ejemplo 9	3530	37,8	35,5

 Ejemplo 3	7010	47,2	43,6
 Ejemplo 397	1210	37,3	46,2

Farmacología

A. Reconocimiento de objetos novedosos

El efecto de mejora cognitiva del Compuesto oral 1 (0,3, 1,0 y 3,0 mg/kg) se probó contra el deterioro cognitivo inducido por la fenciclidina (PCP) en la prueba de Reconocimiento de Objeto Novedoso (NOR) de ratas. Este protocolo experimental prueba la reversión de los déficits de memoria de reconocimiento de objetos causados por la administración crónica del antagonista del receptor NMDA, PCP.

Las ratas se trataron dos veces al día durante 7 días con vehículo salino (grupo de control) o PCP (5 mg/kg, intraperitoneal). Después de un período de lavado de 14 días sin tratamiento, las ratas se probaron en el paradigma NOR. Brevemente, las pruebas implican dos sesiones (T1 y T2), cada una de 3 minutos de duración, con 1 hora de diferencia. El vehículo o el Compuesto 1 se administraron antes del ensayo T1. En T1, las ratas se colocan en una arena de prueba con dos objetos idénticos y se les permite explorar libremente mientras se registra su tiempo dedicado a explorar cada objeto. En T2, las ratas se devuelven a la arena de prueba donde uno de los objetos permanece igual y el otro ha sido reemplazado por un objeto nuevo. El tiempo dedicado a explorar el objeto nuevo versus el tiempo dedicado a explorar el objeto familiar se registra y compara con los tiempos de exploración del objeto T1.

En comparación con el control de solución salina, los animales tratados con PCP mostraron una reducción significativa en el tiempo dedicado a explorar el nuevo objeto, lo que confirma un déficit inducido por PCP en NOR. Como se muestra por los datos en la figura 1, la administración del Compuesto 1 (0,3 y 1,0 mg/kg, oral) revirtió significativamente este déficit, como lo demuestra el tiempo de exploración de objetos nuevos incrementado en comparación con las ratas tratadas con PCP. La dosis de 1

mg/kg del Compuesto 1 revirtió completamente el déficit inducido por PCP, ya que el tiempo de exploración a estas dosis no fue significativamente diferente del de los animales de control con solución salina.

B. Modelo de eficacia de negatividad no coincidente

Los biomarcadores patofisiológicos de la hipofunción del receptor de NMDA en la esquizofrenia incluyen mediciones de EEG de eventos de procesamiento auditivo temprano, tales como "Negatividad no coincidente", un potencial relacionado con el evento EEG (ERP) que mide la detección de novedad auditiva pre-atención. La MMN es una medida traducible de la detección de la novedad auditiva en ratas y humanos, y se correlaciona con la función cognitiva y global en pacientes con esquizofrenia. Los antagonistas del receptor de NMDA PCP, MK-801 y la ketamina provocan déficits agudos en MMN en ratas (los tres antagonistas de NMDAr) y sujetos humanos (ketamina).

A las ratas implantadas con electrodos EEG frontales se les presentaron diferentes estímulos de audio que comprenden un protocolo "flip-flop" ("biestable") auditivo extraño. Brevemente, se suministraron 1.000 tonos estándar de 6,0 kHz con una probabilidad del 90 %, y 100 tonos desviados de 8,0kHz se suministraron con una probabilidad del 10 % en orden pseudoaleatorio (la secuencia de flip), y luego esta secuencia se repitió con el tono de 8 kHz como el estándar, y el tono de 6 kHz como el desviado (la secuencia de flop). MMN se calcula como una diferencia de potencial obtenida al restar la respuesta de tono estándar promedio de 8 kHz (flop) de la respuesta de tono de desviación promedio de 8 kHz (flip) en cada punto de tiempo de 1 ms durante las épocas de registro de EEG desde 50 ms antes de 150 ms después la aparición de estos tonos auditivos de 50 ms.

En un diseño cruzado de 4 vías, las ratas se dosificaron con vehículo o Compuesto 1 (60 mg/kg) dos veces, con 4 horas de diferencia. Las ratas fueron luego dosificadas con control salino o MK-801 (0,2 mg/kg, IP) inmediatamente antes de las sesiones de prueba. Las sesiones de prueba consistieron en tres bloques biestables de 20 minutos. Como se muestra en la figura 2, la administración del vehículo más MK-801 perjudicó significativamente la MMN en comparación con la administración del vehículo más solución salina. Además, la administración del Compuesto 1 (60 mg/kg BID) evitó el deterioro de MMN por MK-801, de tal manera que el MMN registrado después del Compuesto 1 más MK-801 ya no era diferente del MMN registrado después del vehículo y la solución salina, y fue significativamente mayor en comparación con MMN registrado después de la administración del vehículo y MK-

801.

Aunque hemos descrito una serie de modalidades de esta invención, es evidente que nuestros ejemplos básicos pueden alterarse para proporcionar otras modalidades que utilicen los compuestos y métodos de esta invención. Por lo tanto, se apreciará que el alcance de esta invención se definirá por las reivindicaciones adjuntas más que por las modalidades específicas que se han representado a modo de ejemplo.

El contenido de todas las referencias (que incluyen las referencias bibliográficas, las patentes emitidas, las solicitudes de patentes publicadas y las solicitudes de patentes copendientes) citadas a lo largo de esta solicitud se incorporan aquí expresamente en su totalidad por referencia. A menos que se defina lo contrario, todos los términos técnicos y científicos usados aquí tienen el significado comúnmente conocido para alguien con experiencia ordinaria en la técnica.