

A metabotróp glutaminsav receptor 5 negatív allosztérikus modulátorainak kutatása

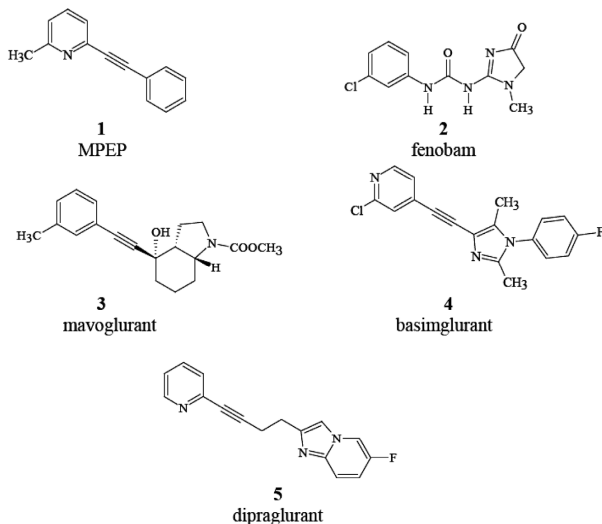
DOMÁNY György,* GALAMBOS János és GÁL Krisztina

Richter Gedeon Nyrt., Kutatási igazgatóság, Gyömrői út 19-21, 1103 Budapest, Magyarország

1. Bevezetés

A glutaminsav az emlősök központi idegrendszerében izgó neurotranszmitterként játszik fontos szerepet. Kötődik a neuronokhoz, és bizonyos sejtfelszíni receptorokat aktivál. Ezek a receptorok a receptor-fehérjék szerkezeti jellemzői alapján két nagy csoportba sorolhatók, az ionotróp és a metabotróp glutaminsav receptorok közé. A metabotróp glutaminsav receptorok (mGluR) családja nyolc G-fehérjéhez kötött receptorból áll, amelyek három csoportba sorolhatók aminosav szekvencia homológiájuk, az effektorhoz való kapcsolódásuk és farmakológiájuk alapján. Az első csoportba tartozik a mGluR1 és az mGluR5 receptor, amelyek pozitívan kapcsolnak a foszfolipáz C-hez,

a második csoportot alkotó mGluR2 és mGluR3, illetve a harmadik csoportba sorolható mGluR4, mGluR6, mGluR7 és mGluR8 receptorok negatívan kapcsolnak az adenilát cikláshoz.¹ Nagy mennyiségű preklinikai adatot publikáltak mGluR5 „knock-out” egerekről és mGluR5 antagonisták hatásáról, amelyek arra utalnak, hogy az mGluR5 receptor fontos terápiás célpont lehet számos központi idegrendszeri betegség és tünet esetén, mint például a szorongás,² a fájdalom,³ a depresszió,⁴ az epilepszia,⁵ a neurodegeneráció,⁶ a Parkinson kór⁷ és a kokain függőség.⁸ Jelentős kielégítetlen orvosi igény van új szorongásgátlók iránt, amelyek gyorsan enyhítik a tüneteket, és nincsenek (benzodiazepin-szerű) mellékhatásaik.



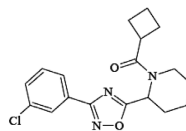
1. Ábra. mGluR5 negatív allosztérikus modulátorok.

A közelmúlt felfedezései ugyancsak azt sugallják, hogy a mGluR5 receptorra ható anyagoknak fontos szerepük lehet a szorongás oldásában. Az irodalom szerint az mGluR5 receptor első szelektív negatív allosztérikus modulátorának (NAM), az MPEP jelű anyagnak (1), széles és potens anxiolitikum-szerű hatása van a szorongás rácsáló modelljeiben.⁹ A hatás kialakulása gyors, és szemben a benzodiazepinekkel, nem észlelhető szedáció vagy pszichotomimetikus hatás.¹⁰ Még a metabotróp glutaminsav receptor altípusok klónoztatása előtt kipróbálták a nem-

benzodiazepin szerkezetű, szorongásgátló hatású fenobamot (2) kettős vak, placebo kontrollált klinikai vizsgálatban, ahol is a benzodiazepinekhez hasonló hatékonyságot mutatott.¹¹ A Roche kutatói pedig 2005-ben kimutatták, hogy a MPEP-hez hasonlóan a fenobam is negatív allosztérikus modulátora az mGluR5-nek,¹² és ezzel klinikai bizonyítékot szolgáltatott arra, hogy a mGluR5 működésének módosításával a szorongás kezelhető. Ezt követően számos gyógyszergyár indított el mGluR5 NAM kutatásokat.¹³ Többek között a mavoglurant (3), a basimglurant (4) és a dipraglurant (5) került kettős vagy hármas fázisú klinikai vizsgálatokra.¹⁴

* e-mail: gy.domany@richter.hu

Amikor elindítottuk saját mGluR5 negatív allosztérikus modulátor programunkat a vállalati molekulatár nagy áteresztőképességű szűrésével (HTS) kerestünk új kémiai kiindulási pontokat (hit). Több ígéretes szerkezet közül négy vegyületcsalád – oxadiazolok/tetrazolok, karbamoi-oximok, tienopiridinek és 3-ariszulfonil-kinolinok – alaposabb vizsgálatát határoztuk el. A kémiai kiindulási pontokból vezérmolekulákat (lead) fejlesztettünk ki (hit-to-lead), majd ezeket optimalizáltuk. A 3-ariszulfonilkinolinok esetében a vezérmolekula optimalizálása klinikai kandidatest eredményezett.



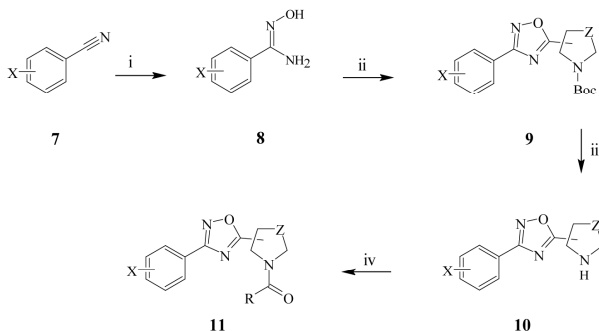
6
mGluR5 pK_i: 6.69

2. Ábra. Az első HTS találat.

2. Oxadiazolok és tetrazolok¹⁵

A nagy áteresztőképességű szűrés során bukkantunk a 6 jelű vegyületre, melynek kötődése a patkány mGlu5 receptor allosztérikus (MPEP) kötőhelyéhez (K_i)¹⁶ ígéretes volt. Elhatároztuk, hogy megvizsgáljuk az aromás gyűrű

szubsztituens-mintázatának, a központi heterociklusnak, a telített heterociklusnak és a telített heterociklus nitrogénjén levő acil csoportnak a szerepét a hatékonyság változásában. Az 1. Reakciósémán látható módon előállítottunk 656 analógot majd megmértük affinitásukat a mGlu5 receptorhoz. A leghatékonyabb oxadiazolokat az 1. Táblázatban soroltuk fel.



ahol X = 3-Cl, 3-CH₃, 3-CN, 3-CH₃O, 3-CF₃, 3,4-di-CH₃, 3,4-di-CH₃O, Z = -CH₂-, -CH₂-CH₂-, -S-

Reagensek és reakciókörülmények: i: hidroxilamin hidroklorid, K₂CO₃, MeOH, szobahőmérséklet, 3 óra, 90%; ii: N-Boc-pipecolin, vagy N-Boc-nipecotinsav, vagy N-Boc-prolin, vagy N-Boc-tioprolin, klorhangyasav-izobutil-észter, N-metil-morfolin, DMF, 0 °C, 30 perc, majd tetrabutilammónium-fluorid, 0 °C, 3 óra, 60%; iii: HCl, EtOAc, szobahőfok, 3 óra, 50-70%; iv: RCOOH, EDC, TEA, CH₂Cl₂, szobahőfok, 20 óra, párhuzamos szintézis.

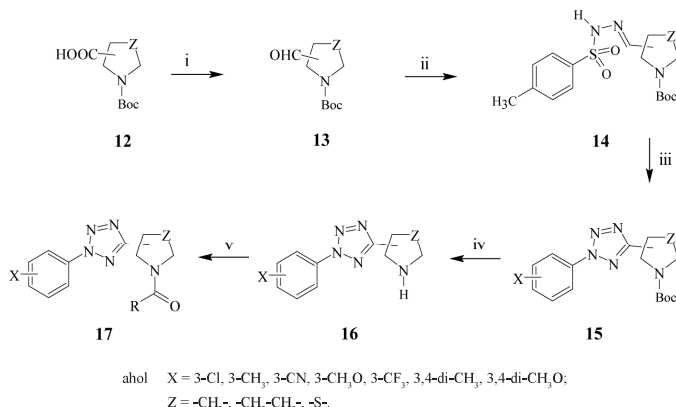
1. Reakcióséma. Az oxadiazol molekulatár előállítása.

1. Táblázat. A leghatékonyabb oxadiazolok

	X		R	pK _i
11a	3-Cl	4-tiazolidinil		7,08
11b	3-Cl	2-pirrolidinil		6,91
11c	3-Me	2-piperidinil		6,90
11d	3-Me	2-pirrolidinil		6,84
11e	3-MeO	2-piperidinil		6,74

Mivel az előzetes vizsgálatok arra utaltak, hogy központi heterociklusként a tetrazol hatékonyabb anyagokat szolgáltat, mint a fentebb tárgyalt oxadiazolok, egy 619 tagú,

központi tetrazolt tartalmazó és megfelelő tisztaságú (>85%) molekula-könyvtárt állítottunk elő a 2. Reakcióséma szerint.



Reagensok és reakciókörülmények: i: a, N,O-dimetilhidroxilamin hidroklorid, DIPEA, DCC, DMAP, 0 °C, 30 perc, majd szobahőmérséklet, 3 óra, 85%; b, LAH, THF, 0 °C, 10 perc, 90%; ii: p-toluolszulfonsavhidrazid, etanol, 25 °C, 30 perc, 90%; iii: külön elkészített arildiazonium-klorid vizes oldata, NaOH, vizes etanol, 0 °C, 30 perc, majd 25 °C, 1 óra, 60%; iv: sósavas etilacetát, szobahőfok, 3 óra, 80-90%; RCOOH, EDC, TEA, CH_2Cl_2 , szobahőfok, 20 óra, párhuzamos szintézis.

2. Reakcióséma. A tetrazol molekulátár előállítás.

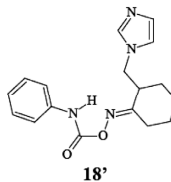
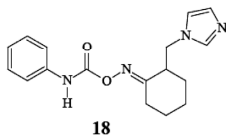
2. Táblázat. A leghatékonyabb tetrazolok

	X		R	pK _i
17a	3-Cl	2-piperidinil		7,31
17b	3-Me	2-piperidinil		7,14
17c	3-Cl	2-piperidinil		7,11
17d	3-Cl	2-piperidinil		7,06
17e	3-Cl	2-pirrolidinil		7,05

A nagyszámú analógot eredményező szintetikus kampány új ismereteket eredményezett a kémiai szerkezet és a biológiai hatás (SAR) összefüggésekről, de nem sikerült sem a vezérmolekulák hatását jelentősen meghaladni, sem az anyagok metabolikus stabilitását elfogadható szintre emelni. Ezért az ebben a körben végzett munkát lezártuk és figyelmünket a második HTS találat, a **18** jelű anyag felé fordítottuk.

3. Karbamoiloximok¹⁷

A HTS kampány során azonosított következő ígéretes anyag a **18** jelű E-karbamoiloxim volt. Egy másik ábrázolásmóddal (**18'**), melynek létjogosultságát a potenciálisan kialakuló hidrogén hid valószínűsíti, **18** meglepő hasonlóságot mutatott az előzőekben tárgyalt **6**-tal, ezért a szerkezet/hatás összefüggések vizsgálata során előnyben részesítettük az oxadiazolok/tetrazolok optimalizálásakor hasznosnak talált helyettesítőket.

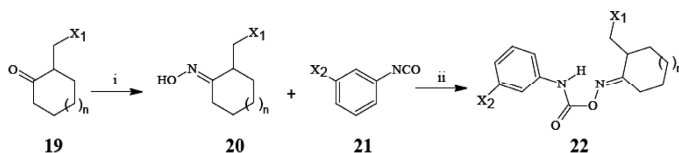


rmGluR5 pK_i: 6,98

3. Ábra. A második HTS találat.

Az új karbamoiloximokat a 3. Ábrán látható reakciósema szerint szintetizáltuk. A kiindulási ketonokat (**19**) vagy egy aliciklusos keton és egy telített N-heterociklus Mannich

reakciójával, vagy egy aliciklusos keton és egy (hetero) aromás aldehid kondenzációjával, és az azt követő katalitikus redukciójával állítottuk elő.



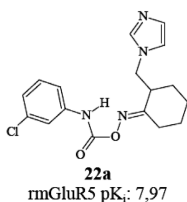
ahol X₁ = aromás karbo- vagy heterociklus;

X₂ = alkil, alkoxi, halogén stb.

n = 0 vagy 1

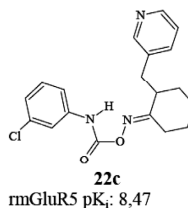
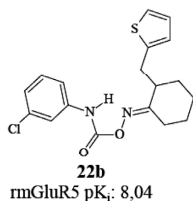
Reagensek és reakciókörülmények: i: hidroxilamin hidroklorid, NaOAc, MeOH, viz, 45 °C, 2-8 óra, majd a Z és E izomerek elválasztása, 50-80%; ii: CH₂Cl₂, szobahőmérséklet, 6-24 óra, 40-70 %.

3. Reakciósema. Karbamoiloximok előállítás.



A karbamoiloxim rész és a ciklohexán gyűrű módosítása általában kevésbé hatékony anyagokhoz vezetett. Az aromás gyűrű helyettesítése a hármas pozícióban – a oxadiazol/tetrazol sorhoz hasonlóan – javította az affinitást (**22a**). **22a** esetében megvizsgáltuk, hogy melyik enantiomer hordozza a hatást, és azt találtuk, hogy (+)-**22a** a hatás hordozója (rmGluR5 pK_i: 8,05), míg (-)-**22a** gyakorlatilag hatástalan. További hatásjavulást értünk el ha az imidazol gyűrűt más heterociklusokkal helyettesítettük (**22b**, **22c**).

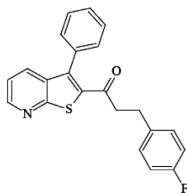
4. Ábra: A 22a képlete.



5. Ábra. A leghatékonyabb karbamoiloximok.

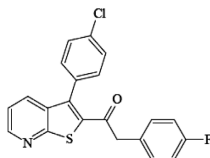
Míg **18** szerkezetének alkalmas változtatásával sikerült az anyagok hatékonyságát jelentősen növelni, metabolikus labilitásukon, és egyes esetekben CYP450 enzim gátló hatásukon nem tudtunk javítani. Így ezt a kemotípust is félretettük, és a következő HTS találat, a **23** jelű tienopiridin szerkezetének szisztematikus módosításába fogtunk.

4. Tieno[2,3-*b*]piridinek^{18, 19}



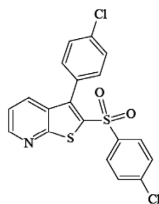
23
rmGluR5 pK_i: 6,46

6. Ábra. A harmadik HTS találat.

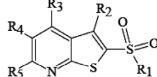


24
rmGluR5 pK_i: 7,08

7. Ábra. A -COCH₃- csoport és a -SO₂- csoport bioisztériája.



26a
rmGluR5 pK_i: 7,91

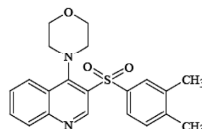


26

8. Ábra. Az új vezérmolekula.

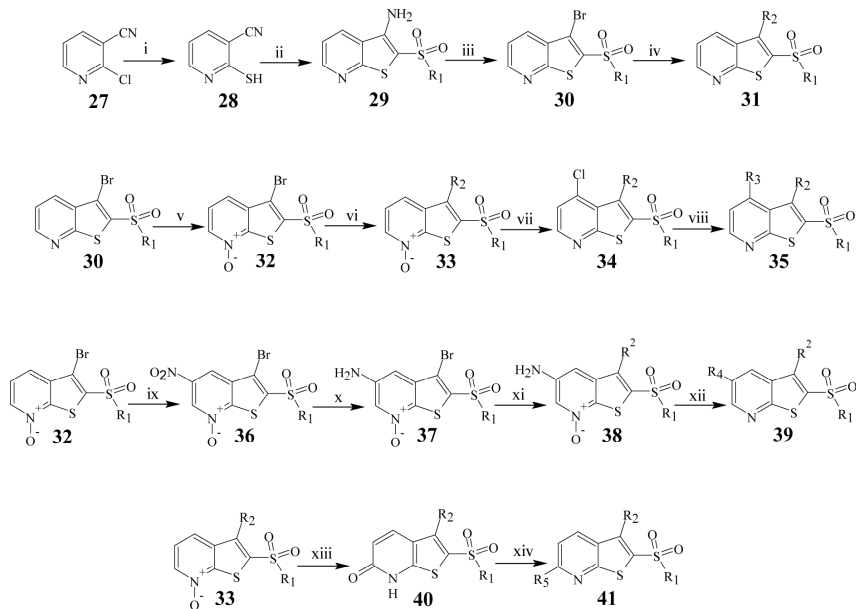
A tienopiridinek reprezentatív képviselőjének, **23**-nak azonban a mérsékelt, de biztató hatásadatai mellett több előnytelen tulajdonsága is volt, mint például a magas lipofilitás, a gyenge oldhatóság és a rossz metabolikus stabilitás. Modellvegyületek előállításával és tulajdonságaik mérésével megállapítottuk, hogy a hatáshoz feltétlenül szükség van a tienopiridin piridin gyűrűjére, a tienopiridin 3-as fenil csoportjára, és 2-es szénatomhoz kapcsolódó keto csoportra. **23** alkalmas kémiai módosításai során a hatékonyságot sikerült javítanunk (például **24**), de a metabolikus stabilitás továbbra is elfogadhatatlanul alacsony maradt. A probléma megoldásához az ötletet egy következő HTS találat, a **25** jelű anyag adta.

Feltételeztük, hogy tienopiridin (**24**) és a kinolin (**25**) gyűrűrendszer egymás bioisztérjei lehetnek, és a **24** jelű anyag kettes pozíciójában levő csoport helyettesíthető a **25** jelű anyag hármass pozíciójában levő csoporttal a hatás csökkenése nélkül. Az eredmény a **26a** jelű származék lett.



25
rmGluR5 pK_i: 7,17

Ez az anyag volt az addig előállított leghatékonyabb tienopiridin származék, amelynek bár számos hátrányos fizikokémiai tulajdonsága volt, érdemesnek látszott a további optimalizálásra. Mivel a Vogel tesztben – a szorongás egy preklinikai in vivo modeljében²⁰ – 40 mg/kg dózisban szignifikáns hatást mutatott, a továbbiakban ezt tekintettük vezérmolekulánknak, és programot dolgoztunk ki az optimális R₁ – R₅ helyettesítő mintázat azonosítására a **26** általános képlettel jellemezhető vegyületek körében. A 4. Reakciósémán látható négy szintézisút vezetett a **26** általános képletű anyagok különböző képviselőinek megfelelő **31**, **35**, **39** és **41** általános képlettel jellemezhető új tieno[2,3-*b*]piridin származékokhoz.



ahol R_1 : alkalmasan helyettesített aril, hetaril, alkil,

R_2 : alkalmasan helyettesített aril, hetaril,

R_3 : F, OH, OMe, NH_2 , NMe_2

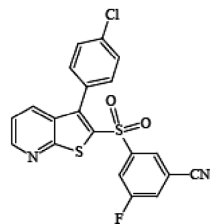
R_4 : F, Cl, NH_2 , $NH-SO_2-Me$

R_5 : F, Cl, OH, OMe, NH_2 , NMe_2

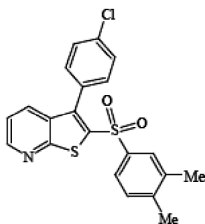
Reagensek és reakciókörülmények: **i**: tiokarbamid, 50% víz/50% EtOH, reflux, 4 óra, 90%; **ii**: $Cl-CH_2-SO_2-R_1$, NaOMe, DMF, 70-100 °C, 1-2 óra, 60-80%; **iii**: $CuBr_2$, *t*-Bu nitrit, MeCN, 60-80 °C, 1-2 óra, 50-70%; **iv**: $R_2-B(OH)_2$, Na_2CO_3 , 40-50% toluol/50-60% EtOH, $Pd(PPh_3)_4$, 70-110 °C, 1-2 óra, 50-70%; **v**: 3-klór-perbenzoesav, $CHCl_3$, 0-25 °C, 1-3 nap, 80-90%; **vi**: $POCl_3$, DMF, 60 °C, 3 óra, 30-50%; **vii**: ha $R_6 = F$: KF, DMF, 140 °C, 2 nap, 20-30%; ha $R_6 = OMe$: NaOMe, MeOH, reflux, 4 óra, 50-70%; ha $R_6 = OH$: NaOAc, ecetsav, 100 °C, 2 nap, 30-40%; ha $R_6 = NH_2$: NaN_3 , 105 °C, 5 óra, aztán $NaBH_4$, MeOH, szobahőfok, 1 nap, 50-60%; ha $R_6 = NMe_2$: $HNMe_2$, DMF, 250 °C, mikrohullámú reaktor, 10 perc, 20-30%; **viii**: vizes HNO_3 , ecetsav, 100-130 °C, 2-6 óra, 10-30%; **ix**: $SnCl_4$, etilacetát, 70 °C, 2-4 óra, 70-80%; **x**: ha $R_4 = F$ vagy Cl : $NaNO_2$, c-HCl, 0-5 °C, 1 óra, majd $NaBF_4$, 60 °C, 1 óra, vagy $Cu(I)Cl$, 60 °C, 1 óra, 20-40%; ha $R_4 = NH-SO_2-Me$: $MeSO_2Cl$, piridin, reflux, 3 óra, 60-70%; **xi**: $(CF_3CO)_2O$, DMF, szobahőmérséklet, 1-2 óra, 60-80%; **xii**: ha $R_5 = Cl$: $POCl_3$, DMF, 90-100 °C, 2-3 óra, 70-80%; ha $R_5 = F$: $POCl_3$, DMF, 90-100 °C, 2-3 óra, 70-80%; aztán KF, DMSO, 140 °C, 1-2 óra, 60-80%; ha $R_5 = OMe$: MeI, Ag_2CO_3 , CH_2Cl_2 , szobahőmérséklet, 1 nap, 40-60%; ha $R_5 = NH_2$ vagy NMe_2 : $(CF_3CO)_2O$, piridin, CH_2Cl_2 , 0-5 °C, 1 óra, aztán NH_3 vagy $HNMe_2$, metanol, 0-25 °C, 2 óra, 40-80%.

4. Reakcióséma. A 26 általános képlettel jellemezhető tienopiridinek előállítása.

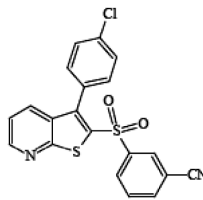
A különféle helyettesítő mintázatú tienopiridinek közül a leghatékonyabbnak a következők bizonyultak:



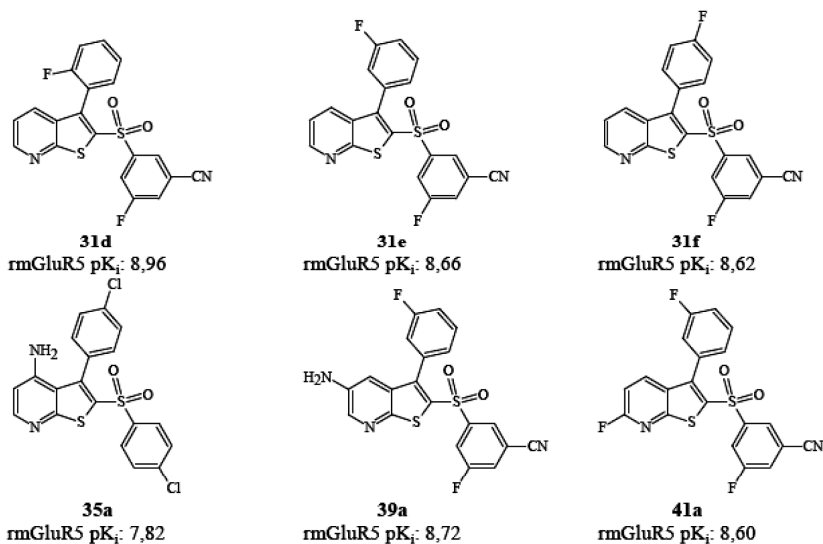
rmGluR5 pK_i: 8,70



rmGluR5 pK_i: 8,48



rmGluR5 pK_i: 8,39



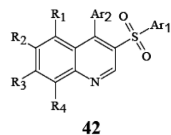
9. Ábra. A leghatékonyabb tienopiridinek.

A **26** általános képletű vegyületcsalád optimalizálásával számos in vitro igen hatékony és elfogadható metabolikus stabilitású anyagot állítottunk elő. Ezek közül például a **39a** már 3 mg/kg dózisban szignifikáns hatást mutatott a Vogel tesztben.

5. 3-Arilszulfonil-kinolinok²¹

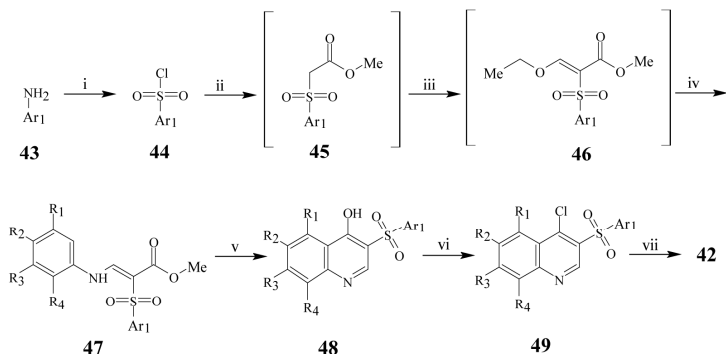
Az előző fejezetben bemutattuk, hogy a **25** jelű anyag arilszulfonil csoportjának beépítése a tienopiridin váz alkalmas szénatomjára egy in vitro és in vivo is hatékony vegyületcsaládhoz nyitotta meg az utat. Ebből a HTS találatból kiindulva azonban egy másik érdekes vegyületcsalád, a 3-arilszulfonil-kinolinok kifejlesztése is lehetővé vált. A tieno[2,3-*b*]piridinek mintájára a 4-es

pozícióban levő morfolint (szubsztituált) fenil csoporttal helyettesítve új, hatékony anyagokat nyertünk, amelyeknek a metabolikus stabilitása is megfelelőnek bizonyult az esetek nagy részében.



10. Ábra. A 3-arilszulfonil-4-aril-kinolin molekula-könyvtár általános képlete.

Egy 164 tagú molekula-könyvtár készült a **42** általános képlettel jellemezhető 3-arilszulfonil-4-aril-kinolinokból az 5. Reakciósema szerint.

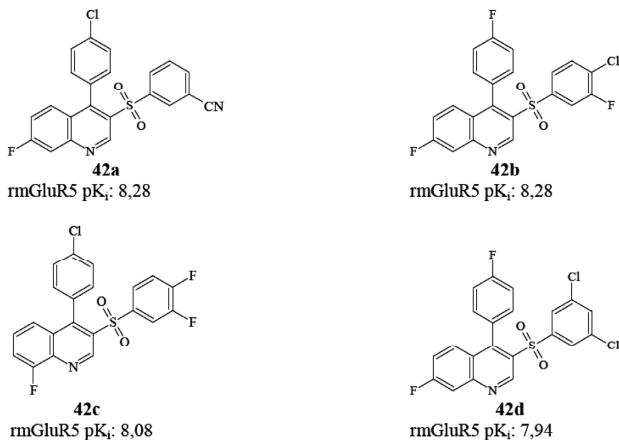


ahol Ar_1 és Ar_2 helyettesített fenil csoport,

R_1, R_2, R_3, R_4 = hidrogén, halogén, alkil, alkoxi, ciano stb.

Reagensok és reakciókörülmények: i: (a) $NaNO_2$, HCl, víz, 0-5 °C, 1 óra, (b) $SOCl_2$, Cu(I)Cl, HCl, víz, 0-5 °C, 2 óra, 80% (két lépés); ii: (a) Na_2SO_3 , $NaHCO_3$, víz, 70-72 °C, 1.5 óra, (b) $BrCH_2COOCH_3$, TBAB, víz, 70-72 °C, 1 óra; iii: $(CH_3CO)_2O$, $CH(OC_2H_5)_3$, 124-126 °C, 4.5 óra; iv: helyettesített anilin, TEA, 67-69 °C, 1.5 óra, 30% (négy lépés); v: $(C_2H_5)_3O$, reflux, 2.5 óra, 95%; vi: $POCl_3$, DIPEA, MeCN, 76-78 °C, 5 óra, 85%; $Ar_1B(OH)_2$, $Pd(PPh_3)_4$, Na_2CO_3 , 1,2-dimetoxietán, víz, 68-70, 2-4 óra, 65-90%.

5. Reakcióséma. A **42** általános képletrel jellemezhető 3-arilszulfonil-4-aryl-kinolinok előállítása.



11. Ábra. A leghatékonyabb 3-arilszulfonil-kinolinok.

A **42** általános képletrel jellemezhető vegyülettár négy legígéretesebb képviselője a **42a-42d** jelű származékok voltak. A fenti 3-arilszulfonil-4-aryl-kinolin származékok közül az in vivo leghatékonyabbnak **42a** bizonyult, mely már 1 mg/kg dózisban szignifikáns hatást mutatott a Vogel tesztben.

42a-t RGH-618 néven preklinikai fejlesztésre választottuk ki. Ez az anyag a sikeres preklinikai jellemzés után két fázis I-es dupla vak, randomizált, placebo kontrollált klinikai vizsgálatnak volt tárgya Európában és az Amerikai Egyesült Államokban. Ezek a vizsgálatok meghatározták a maximálisan tolerált dózist, és a farmakokinetikát emberben, valamint bizonyították a szer biztonságosságát, ezáltal megnyitva az utat a fázis kettes humán vizsgálatok felé.

5. Összefoglalás

A vállalati molekulatár nagy áteresztőképességű szűrésével négy anyagot találtunk, amelyek alkalmas kémiai kiindulási pontoknak tűntek új mGluR5 negatív allosztérikus modulátorok kutatásához. Ez a négy anyag szerkezete feltűnően különbözött a versenytársak jellemzően acetilén kötésttartalmazó molekuláitól. Avezérmolekulaoptimalizálás során az oxazolo[tetrazolo], a karbamoiloximok és a tienopyridinek esetén sikerült a hatékonyságot emelni, de a legjobb anyagok gyógyszerterülete is sok kívánnivalót hagyott maga után. A 3-arilszulfonil-4-arylkinolinok között azonban találtunk hatékony, metabolikusan stabil és jól

felszívódó, in vivo is igen aktív anyagokat. Ezek közül a legalkalmasabbnak a **42a** jelű anyag bizonyult, amely RGH-618 számon preklinikai fejlesztésre került. Ezt követően két fázis I-es humán vizsgálatban sikerült igazolni, hogy az anyag további, immár beteg embereken végzendő fázis II-es vizsgálatokra alkalmas.

Ezt a közleményt a következő munkatársainkkal együtt írt öt idézett cikkünk anyagából állítottuk össze:

Béni Zoltán, Bielik Attila, Bobok Amrita Ágnes, Farkas Sándor, Fónagy Katalin, Greiner István, Gyertyán István, Háda Viktor, Horváth Attila, Keserű György Miklós, Kiss Béla, Kolok Sándor, Kóti János, Kurkó Dalma, Magdó Ildikó, Mikó-Bakk Mónika Laura, Molnár László, Nagy József, Nógrádi Katalin, Nyéki Olga, Sághy Katalin, Szakács Zoltán, Szombathegyi Zsolt, Vastag Mónika, Wágner Gábor, Wéber Csaba

Domány György, Galambos János és Gál Krisztina

Hivatkozások

- (a) Schoepp, D. D.; Conn, P. J. *Trends Pharmacol. Sci.* **1993**, 14, 13; (b) Schoepp, D. D. *Neurochem. Int.* **1994**, 24, 439; (c) Pin, J. P.; Duvoisin, R. *Neuropharmacology* **1995**, 34, 1; (d) Bordi, F.; Ugolini, A. *Prog. Neurobiol.* **1999**, 59, 55.
- Spooren, W. P.; Vassout, A.; Neijt, H. C.; Kuhn, R.; Gasparini, F.; Roux, S.; Porsolt, R. D.; Gentsch, C. J. *Pharmacol. Exp. Ther.* **2000**, 295, 1267.

3. Walker, K.; Reeve, A.; Bowes, M.; Winter, J.; Wotherspoon, G.; Davis, A.; Schmid, P.; Gasparini, F.; Kuhn, R.; Urban, L. *Neuropharmacology* **2001**, *40*, 10.
4. Tatarczyn'ska, E.; Klodzin'ska, E.; Chojnacka-Wójcik, E.; Palucha, A.; Gasparini, F.; Kuhn, R.; Pilc, A. *Br. J. Pharmacol.* **2001**, *132*, 1423.
5. Chapman, A. G.; Nanan, K.; Williams, M.; Meldrum, B. S. *Neuropharmacology* **2000**, *39*, 1567.
6. (a) Bruno, V.; Ksiazek, I.; Battaglia, G.; Lukic, S.; Leonhardt, T.; Sauer, D.; Gasparini, F.; Kuhn, R.; Nicoletti, F.; Flor, P. J. *Neuropharmacology* **2000**, *39*, 2223; (b) Movsesyan, V. A.; O'Leary, D. M.; Fan, L.; Bao, W.; Mullins, P. G.; Knoblach, S. M.; Faden, A. I. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **2001**, *296*, 41.
7. Ossowska, K.; Konieczny, J.; Wolfarth, S.; Wieron'ska, J.; Pilc, A. *Neuropharmacology* **2001**, *41*, 413.
8. Chiamulera, C.; Epping-Jordan, M. P.; Zocchi, A.; Marcon, C.; Cottiny, C.; Tacconi, S.; Corsi, M.; Orzi, F.; Conquet, F. *Nat. Neurosci.* **2001**, *4*, 873.
9. Allgeier, H.; Auberson, Y.; Biollaz, M.; Cosford, N. D.; Gasparini, F.; Heckendorf, R.; Johnson, E. C.; Kuhn, R.; Varney, M. A.; Velicelebi, G. *WO 9902497*, **2007**.
10. O'Brien, J. A.; Lemaire, W.; Wittmann, M.; Jacobson, M. A.; Ha, S. N.; Wisnoski, D. D.; Lindsley, C. W.; Schaffhauser, H. J.; Rowe, B.; Sur, C.; Duggan, M. E.; Pettibone, D. J.; Conn, P. J.; Williams, D. L., Jr. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **2004**, *309*, 568.
11. Pecknold, J. C.; McClure, D. J.; Appeltauer, L.; Wrzesinski, L.; Allan, T. J. *Clin. Psychopharmacol.* **1982**, *2*, 129.
12. Porter, R. H.; Jaeschke, G.; Spooen, W.; Ballard, T. M.; Büttelmann, B.; Kolczewski, S.; Peters, J. U.; Prinssen, E.; Wichmann, J.; Vieira, E.; Mühlemann, A.; Gatti, S.; Mutel, V.; Malherbe, P. J. *Pharmacol. Exp. Ther.* **2005**, *315*, 711.
13. Jaeschke, G.; Wettstein, J. G.; Nordquist, R. E.; Spooen, W. *Expert Opin. Ther. Patents* **2008**, *18*, 123.
14. Thomson Reuters Cortellis™, www.cortellis.com.
15. Wágner, G.; Weber, Cs.; Nyéki, O.; Nógrádi, K.; Bielik, A.; Molnár, L.; Bobok, A.; Horváth, A.; Kiss, B.; Kolok, S.; Nagy, J.; Kurkó, D.; Gál, K.; Greiner, I.; Szombathelyi, Zs.; Keszérű, Gy. M.; Domány, Gy. *Bioorg. Med. Chem. Letters* **2010**, *20*, 3737.
16. Gasparini, F.; Andres, H.; Flor, P. J.; Heinrich, M.; Inderbitzin, W.; Lingenhöhl, K.; Müller, H.; Munk, V. C.; Omilusk, K.; Stierlin, C.; Stoehr, N.; Vranesic, I.; Kuhn, R. *Bioorg. Med. Chem. Letters* **2002**, *12*, 407.
17. Galambos, J.; Wágner, G.; Nógrádi, K.; Bielik, A.; Molnár, L.; Bobok, A.; Horváth, A.; Kiss, B.; Kolok, S.; Nagy, J.; Kurkó, D.; Bakk, M. L.; Vastag, M.; Sághy, K.; Gyertyán, I.; Gál, K.; Greiner, I.; Szombathelyi, Zs.; Keszérű, Gy. M.; Domány, Gy. *Bioorg. Med. Chem. Letters* **2010**, *20*, 4371.
18. Nógrádi, K.; Wágner, G.; Domány, Gy.; Bobok, A.; Magdó, I.; Kiss, B.; Kolok, S.; Fónagy, K.; Gyertyán, I.; Háda, V.; Kóti, J.; Gál, K.; Farkas, S.; Keszérű, Gy. M.; Greiner, I.; Szombathelyi, Zs. *Bioorg. Med. Chem. Letters* **2014**, *24*, 3845.
19. Nógrádi, K.; Wágner, G.; Domány, Gy.; Bobok, A.; Magdó, I.; Kolok, S.; Mikó-Bakk, M. L.; Vastag, M.; Sághy, K.; Gyertyán, I.; Kóti, J.; Gál, K.; Farkas, S.; Keszérű, Gy. M.; Greiner, I.; Szombathelyi, Zs. *Bioorg. Med. Chem. Letters* **2015**, *25*, 1724.
20. Vogel, J. R.; Beer, B.; Clody, D. E. *Psychopharmacology* **1971**, *100*, 138.
21. Galambos, J.; Domány, Gy.; Nógrádi, K.; Wágner, G.; Keszérű, Gy. M.; Bobok, A.; Kolok, S.; Mikó-Bakk, M. L.; Vastag, M.; Sághy, K.; Kóti, J.; Szakács, Z.; Béni, Z.; Gál, K.; Szombathelyi, Zs.; Greiner, I. *Bioorg. Med. Chem. Letters* **2016**, *26*, 1249.

Search for negative allosteric modulators of metabotropic glutamate receptor 5

There is a growing body of evidence that negative allosteric modulators of mGluR5 may be important tools in the therapy of several disorders of the central nervous system, like anxiety, pain, depression, epilepsy, neurodegeneration, Parkinson's disease or cocaine abuse. In the past years several compounds (the „glurants”) discovered in different pharmaceutical research units reached high levels of the drug development.

The search for NAMs of mGluR5 in Richter started with a high throughput screening of the corporate compound library that resulted in promising hits in the oxadiazole/tetrazole, carbamoyloxime, thieno[2,3-b]pyridine, and 3-arylsulfonyl quinoline compound families.

After having identified compound **6**, an oxadiazole hit, a 656 membered oxadiazole compound library was designed, prepared and tested. The most potent representatives of this series showed moderate affinity (K_i about 100 nanomolar) towards allosteric binding site of the mGluR5 receptor. The replacement of the oxadiazole core by tetrazole resulted in more potent compounds, so another compound library with 619 tetrazole derivatives was prepared and tested. Several representatives of this series (e.g. **17a-17e**) had lower than 100 nanomolar K_i . Because of the suboptimal metabolic stability of the above compounds the further development have been terminated.

Then our attention turned to the next HTS hit, the carbamoyloxime **18**. Suitable substitution on the aromatic and the saturated carbocyclic rings lead to really potent compounds with nanomolar K_i , although the metabolic instability still remained a serious problem.

Continuing the exploration of the potential of the next HTS hit, compound **23** with thieno[2,3-b]pyridine ring system, we hoped, that the metabolic instability problem could be solved while retaining the activity of the compounds. The breakthrough happened when the side chain of **23** was substituted with an arylsulfonyl moiety. The resulting **26a** showed activity in a preclinical in vivo model of anxiety, in the Vogel test, at 40 mg/kg oral dose. Systematic optimisation of this structure resulted in several potent analogues (e.g. **31a-31f**, **35a**, **39a** and **41a**) with nanomolar affinity. Some of these thienopyridine derivatives showed significant activity in the Vogel test at 3 mg/kg oral dose. The most interesting compounds, however, were identified in the 3-arylsulfonyl compound family.

The substitution of the morpholine ring for substituted aryl groups in another HTS hit, compound **25**, resulted in a series of potent derivatives with acceptable metabolic stability like compound **42a-42d**, what is more, **42a** showed significant in vivo activity at already 1 mg/kg dose in the Vogel test. The results of a diverse set of pharmacological, pharmacokinetic and toxicological studies suggested that the best compound of this series (**42a**) has the potential to fulfil a therapeutic need in the treatment of anxiety and potentially other CNS disorders with a satisfactory safety profile. It was selected for preclinical and later clinical development with the name of RGH-618.

Safety, tolerability and pharmacokinetics of RGH-618 was investigated after single and multiple doses in healthy subjects in two double blind, randomized, placebo controlled Phase I trials in EU and US. These Phase I studies established the maximum tolerated dose and safety and pharmacokinetics of RGH-618 enabling continuation of the development into Phase II human proof-of-concept studies.