



CSA825469

Organización y
Digitalización CSA Ltda



Industria y Comercio
SUPERINTENDENCIA

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO
INVENTARIO

PCT

DELEGATURA DE PROPIEDAD INDUSTRIAL

DIVISIÓN DE NUEVAS CREACIONES

08-47159

SOLICITUD DE PATENTE DE
INVENCION

TITULO INHIBIDORES DE LA ACTIVIDAD Akt

SOLICITANTE: SMITHKLINE BEECHAM CORPORATION

DIRECCIÓN: One Franklin Plaza, P.O Box 7929, Philadelphia, PA 19101
E.U.A.

AGK 31/541

APODERADO: CARLOS R. OLARTE

BOGOTÁ 09 de Mayo de 2008

P2008/000083

55



No. 08-047159-00000-0000

Fecha: 2008-05-09 18:51:42
Ira. 11 PATENTE/III
Act. 411 PRESENTACION

Dep. 2020 NUECREACION
Eva. 378 FASENACIONAL
Folios: 165

PETITORIO - FORMULARIO ÚNICO DE SOLICITUD

PATENTE PCT

ENTRADA EN FASE NACIONAL

P2008/000083

SOLICITUD DE:

1

☒

Patente de Invención.

☐

Patente de Modelo de Utilidad.

☒

Capítulo I.

☐

Capítulo II.

2

SOLICITANTE
(71)

Nombre: SMITHKLINE BEECHAM

CORPORATION

Dirección: One Franklin Plaza PO Box 7929

Philadelphia, Pennsylvania 19101 E.U.A.

Nacionalidad o Domicilio: ESTADOUNIDENSE

Lugar de Constitución: Estados Unidos de América.

Teléfono: _____

Fax: _____

E-mail: _____

IDENTIFICACIÓN

C.C.

☐

NIT

☐

C.E.

☐

Otro

☐

Cual _____

Número _____

REPRESENTANTE
O APODERADO

Nombre: CARLOS R. OLARTE

Dirección: World Trade Center Torre A,

Calle 100 No. 8A-37 Piso 10

Teléfono: 601-7700 **Fax:** 601-7799

E-mail: office@olarteraisbeck.com

IDENTIFICACIÓN

C.C.

☒

NIT

☐

C.E.

☐

Otro

☐

Cual _____

Número 79782747Bta

TP 74.295

INVENTOR (ES)
(72)

Nombre: VER PAGINA ADJUNTA

Dirección: VER PAGINA ADJUNTA

Nacionalidad o Domicilio: VER PAGINA ADJUNTA

5

PCT (86)

Solicitud Internacional No. PCT/US2006/043513

Fecha

Noviembre 9, 2006

Publicación Internacional No. WO 2007/058850

Fecha

Mayo 24, 2007

6

Título (54) INHIBIDORES DE LA ACTIVIDAD Akt

Clasificación Internacional (51) A61K 31/541

Prioridad

SI

☒

NO

☐

(33) País de Origen

US

US

US

(32) Fecha

Noviembre 10, 2005

Febrero 10, 2006

Septiembre 26, 2006

(31) Número de Solicitud

60/735,320

60/772,289

60/826,928

9

Compr bante de pago No. 08-36,160

Fecha

Mayo 8, de 2008

10

ANEXOS

☒

Comprobante de pago de la tasa de presentación de la solicitud.

☐

Documento que acredita la existencia y representación legal cuando el solicitante sea persona jurídica.

☒

Poderes, si fuere el caso. Adjunto copia simple. Ver Exp. No. 06-007.246

☐

Documento de cesión del inventor al solicitante o a su causante.

☐

Declaraciones.

☒

Copia de la solicitud internacional. (Resumen, descripción, reivindicaciones, dibujos).

☒

Traducción de la solicitud internacional al castellano. (Resumen, descripción, reivindicaciones, dibujos).

☐

Copia del examen preliminar internacional efectuado por la Autoridad Internacional de Examen Preliminar (IPEA).

☐

Traducción del examen preliminar internacional efectuado por la IPEA.

☐

De ser el caso, copia del contrato de acceso.

☐

De ser el caso, documento que acredite la licencia o autorización de uso de conocimientos tradicionales de las comunidades indígenas.

☐

De ser el caso, certificado de depósito del material biológico.

☐

Arte final 12 x 12.

☐

De ser el caso, información sobre otras solicitudes de patente o títulos obtenidos en el extranjero por el mismo titular o su causante, relacionadas parcial o totalmente con la invención de esta solicitud.

☐

De ser el caso, modificaciones efectuadas a la solicitud internacional.

☒

Otros. Búsqueda Internacional

11

FIGURA CARACTERÍSTICA:

12

Solicito la concesión de la patente,

NOMBRE: CARLOS R. OLARTE

FIRMA:

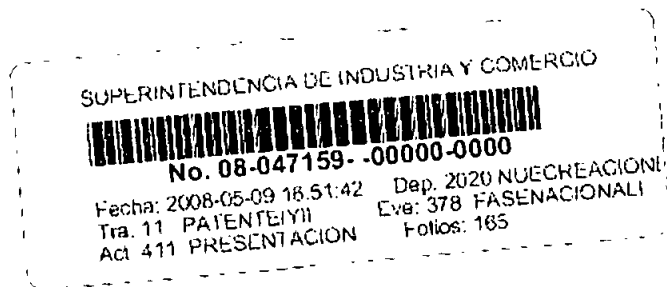
C.C. 79.782.747 Btá. T.P. 74.295

3

LISTA DE INVENTORES

PCT/US2006/043513

1. **DIRK A. HEERDING,**
1250 South Collegeville
Road, Collegeville, PA 19426
Estados Unidos de América
Nacionalidad: Holandesa
2. **TAMMY J. CLARK,**
1139 Corey Drive, Blair,
NV 68008
Estados Unidos
Nacionalidad: Estadounidense
3. **JACK DALE LEBER,**
1250 South Collegeville
Road, Collegeville, PA 19426
Estados Unidos de América
Nacionalidad: Estadounidense
4. **IGOR SANOFOV,**
1250 South Collegeville
Road, Collegeville, PA 19426
Estados Unidos de América
Nacionalidad: Estadounidense



SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

NIT : 800176089-2

RECIBO OFICIAL DE CAJA : 08 - 36,160
FECHA : MAYO 8 DE 2008

***** CONSIGNACION *****

DEPOSITANTE	TIPO PAGO	BANCO	CUENTA	No. PAGO	FECHA PGO	Vr. PAGO
OLARTE RAISBEK	CONSIGNACION	BANCO DE BOGOTA	062754387	316562	07/05/2008	6,888,000.00

***** CONCEPTO *****

CANT.	RENTISTICO	CONCEPTO	TOTAL CONCEPTO
1	50005-01-01 SOLICITUDES	1 TRAMITES DE SOL. DE PATENTE DE IN	501,000.00
		TOTAL :	\$ 501,000.00

SON: QUINIENTOS UN MIL PESOS

RESPONSABLE : _____

RECIBO DE CAJA APLICADO AL EXPEDIENTE No. _____

9

Traducción oficial del Inglés por Marlén Neira Castro, resolución 2117 del
Ministerio de Justicia de Colombia

APOSTILLA EN PODER DE REPRESENTACIÓN DE
SMITHKLINE BEECHAM CORPORATION

PODER DE REPRESENTACION

Bilingüe inglés- español otorgado en Brentford, Middlesex, Inglaterra el 13 de agosto de 2003 y firmado por Peter John Giddings, Apoderado y Funcionario autorizado.

Certificado de Notario De Pinna en español certificando que Peter John Giddings es apoderado de Smithkline Beecham Corporation, firmado por James Kerr Milligan.

APOSTILLA

(Convención de la Haya del 5 de octubre de 1961)

1. País: Reino Unido de Gran Bretaña e Irlanda del Norte
- Este documento Público
2. ha sido firmado por James Kerr Milligan
3. Quien ejerce funciones de Notario público
4. Lleva el sello del Notario público

CERTIFICADO

5. En Londres
 6. El 14 agosto 2003
 7. Por el Secretario de Estado Principal de su Majestad para Asuntos exteriores y de la Mancomunidad
 8. No. G229470
 9. Gran Sello de la Oficina de Asuntos exteriores y de la Mancomunidad
 10. Firma legible de J. Garbrah- Por el Secretario de Estado
-

Si el documento se usa en un país que no pertenece a la Convención de la Haya del 5 de octubre de 1961 debe pasar por la sección consular de la Misión que representa el país.

Es traducción fiel del inglés, con copia archivo para confrontación. Bogotá 21 agosto-03.

Marlen Neira
Marlen Neira C

MARLEN NEIRA CASTRO
Traductor e Intérprete Oficial
Inglés - Español - Inglés
Resolución No. 2117 del 7 Oct 1987

Yo, el infrascrito, JAMES KERR MILLIGAN, Notario Público de la Ciudad de Londres, Inglaterra, por la Autoridad Real debidamente admitido y juramentado,

CERTIFICO:

QUE es auténtica la firma "P. Giddings" suscrita al pie del adjunto Poder, por ser del puño y letra del Señor Don PETER JOHN GIDDINGS, cuya identidad me consta, Apoderado de la corporación denominada "SMITHKLINE BEECHAM CORPORATION", corporación legalmente constituida y existente de acuerdo con las leyes del Estado de Pensilvania, Estados Unidos de América, con domicilio social en 1, Franklin Plaza, Philadelphia, Pensilvania 19101, Estados Unidos de América;

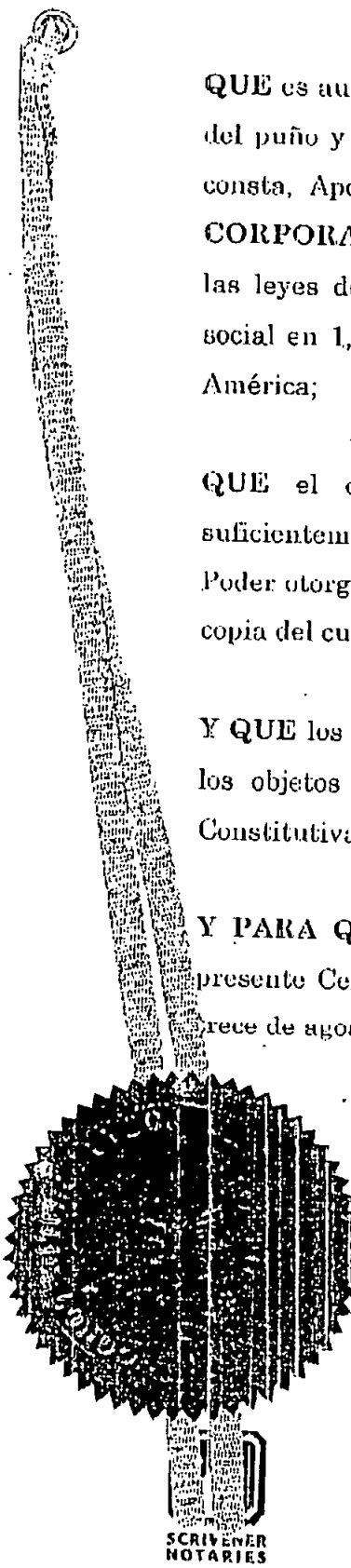
QUE el citado Señor Don PETER JOHN GIDDINGS está debida y suficientemente autorizado para firmar documentos de esta clase, en virtud del Poder otorgado en su favor por la referida Sociedad fechado el 11 de julio de 2002, copia del cual he tenido a la vista.

Y QUE los objetos para los cuales se otorgó dicho Poder se encuentran dentro de los objetos o actividades de la citada Sociedad, de acuerdo con la Escritura Constitutiva y los Estatutos Sociales, los cuales he tenido a la vista.

Y PARA QUE CONSTE donde y como convenga y fuere necesario expido el presente Certificado que firmo y sello en dicha Ciudad de Londres, el día de hoy trece de agosto del año dos mil tres.

[Handwritten signature]

JAMES KERR MILLIGAN
Notario Público de Londres, Inglaterra



9

APOSTILLE
(Hague Convention of 5 October 1961 / Convention de La Haye du 5 octobre 1961)
UNITED KINGDOM OF GREAT BRITAIN AND NORTHERN IRELAND

1. Country: United Kingdom of Great Britain and Northern Ireland
Pays: Royaume-Uni de Grande-Bretagne et d'Irlande du Nord
This public document / Le présent acte public
2. Has been signed by James Kerr Milligan
a été signé par
3. Acting in the capacity of Notary Public
agissant en qualité de
4. Bears the seal/stamp of The Said Notary Public
est revêtu du sceau/timbre de
5. at London/Londres
6. the/le 14 August 2003
Certified/Attesté
7. by Her Majesty's Principal Secretary of State for Foreign and Commonwealth Affairs /
par le Secrétaire d'Etat Principal de Sa Majesté aux Affaires Etrangères et du Commonwealth.
8. Number/sous No G229470
9. Stamp:
timbre:
10. Signature: J. Garbrah



For the Secretary of State / Pour le Secrétaire d'Etat

If this document is to be used in a country which is not party to the Hague Convention of 5 October 1961,
it should be presented to the consular section of the mission representing that country.

OLARTE RAISBECK

OLARTE RAISBECK & FRIERI, LTDA.
LEGAL & PROFESSIONAL SERVICES

WORLD TRADE CENTER - TORRE C
CALLE 100 NO. 8A-55 PISO 10
BOGOTA, COLOMBIA
TELEPHONE: +57-1 638-0200
Fax: +57-1 638-0201

www.olarteraisbeck.com

Power of Attorney

The undersigned,

domiciled in

One Franklin Plaza, P O Box 7929, Philadelphia, PA 19101, United States of America
by means of these presents hereby grants to **Carlos R. Olarte, J. Ian Raisbeck and Ana María Frieri** full and sufficient Power of Attorney to file, prosecute, obtain, defend and enforce any and all of the company's Patents, Utility Models and Industrial Designs in the Republic of Colombia, to which end it empowers them to take all steps necessary before any administrative or judicial authority of any class for the objects stated, to file petitions, appeals, replies and oppositions, pay taxes and annuities, request testimonies, receive documents and securities, abandon applications and collect refunds. Sufficient power is hereby granted to receive notifications on behalf of the Company, to confer powers on those who are to represent the company judicially and extrajudicially, to answer in court in the matter of all claims and demands that may be presented in connection with the objects stated, giving them likewise power to substitute these presents and revoke such substitutions.

SmithKline Beecham Corporation

El suscrito,

domiciliado en

One Franklin Plaza, P O Box 7929, Philadelphia, PA 19101, United States of America
por medio del presente otorga a **Carlos R. Olarte, J. Ian Raisbeck y Ana María Frieri** poder especial, amplio y suficiente para presentar, tramitar, obtener, defender y hacer respetar todas y cualquiera de Patentes, Modelos de Utilidad y Diseños Industriales de la compañía en la República de Colombia, a cuyo efecto los faculta para dar todos los pasos necesarios ante cualquier autoridad administrativa o judicial de cualquier jerarquía para cumplir con lo encomendado, elevar solicitudes, apelaciones, respuestas y oposiciones, pagar impuestos y anualidades, solicitar testimonios, recibir documentos y valores, desistir y percibir. Se concede poder bastante para recibir notificaciones a nombre de la compañía, otorgar poderes a quienes vayan a representar a la compañía judicial y extrajudicialmente, responder en juicio a todas las reclamaciones o demandas que por motivo de lo encomendado se presentaren, dándoles asimismo facultad para sustituir el presente y revocar dichas sustituciones.

Signature/Firma:


Peter John GIDDINGS is Attorney and Authorised Official



Date/Fecha: 13 August 2003

City/Country/Ciudad, País: Brentford, Middlesex, England

a



PCT

1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15 16 17 18 19 20 21 22 23 24 25 26 27 28 29 30 31 32 33 34 35 36 37 38 39 40 41 42 43 44 45 46 47 48 49 50 51 52 53 54 55 56 57 58 59 60 61 62 63 64 65 66 67 68 69 70 71 72 73 74 75 76 77 78 79 80 81 82 83 84 85 86 87 88 89 90 91 92 93 94 95 96 97 98 99 100 101 102 103 104 105 106 107 108 109 110 111 112 113 114 115 116 117 118 119 120 121 122 123 124 125 126 127 128 129 130 131 132 133 134 135 136 137 138 139 140 141 142 143 144 145 146 147 148 149 150 151 152 153 154 155 156 157 158 159 160 161 162 163 164 165 166 167 168 169 170 171 172 173 174 175 176 177 178 179 180 181 182 183 184 185 186 187 188 189 190 191 192 193 194 195 196 197 198 199 200 201 202 203 204 205 206 207 208 209 210 211 212 213 214 215 216 217 218 219 220 221 222 223 224 225 226 227 228 229 230 231 232 233 234 235 236 237 238 239 240 241 242 243 244 245 246 247 248 249 250 251 252 253 254 255 256 257 258 259 260 261 262 263 264 265 266 267 268 269 270 271 272 273 274 275 276 277 278 279 280 281 282 283 284 285 286 287 288 289 290 291 292 293 294 295 296 297 298 299 300 301 302 303 304 305 306 307 308 309 310 311 312 313 314 315 316 317 318 319 320 321 322 323 324 325 326 327 328 329 330 331 332 333 334 335 336 337 338 339 340 341 342 343 344 345 346 347 348 349 350 351 352 353 354 355 356 357 358 359 360 361 362 363 364 365 366 367 368 369 370 371 372 373 374 375 376 377 378 379 380 381 382 383 384 385 386 387 388 389 390 391 392 393 394 395 396 397 398 399 400 401 402 403 404 405 406 407 408 409 410 411 412 413 414 415 416 417 418 419 420 421 422 423 424 425 426 427 428 429 430 431 432 433 434 435 436 437 438 439 440 441 442 443 444 445 446 447 448 449 450 451 452 453 454 455 456 457 458 459 460 461 462 463 464 465 466 467 468 469 470 471 472 473 474 475 476 477 478 479 480 481 482 483 484 485 486 487 488 489 490 491 492 493 494 495 496 497 498 499 500 501 502 503 504 505 506 507 508 509 510 511 512 513 514 515 516 517 518 519 520 521 522 523 524 525 526 527 528 529 530 531 532 533 534 535 536 537 538 539 540 541 542 543 544 545 546 547 548 549 550 551 552 553 554 555 556 557 558 559 560 561 562 563 564 565 566 567 568 569 570 571 572 573 574 575 576 577 578 579 580 581 582 583 584 585 586 587 588 589 590 591 592 593 594 595 596 597 598 599 600 601 602 603 604 605 606 607 608 609 610 611 612 613 614 615 616 617 618 619 620 621 622 623 624 625 626 627 628 629 630 631 632 633 634 635 636 637 638 639 640 641 642 643 644 645 646 647 648 649 650 651 652 653 654 655 656 657 658 659 660 661 662 663 664 665 666 667 668 669 670 671 672 673 674 675 676 677 678 679 680 681 682 683 684 685 686 687 688 689 690 691 692 693 694 695 696 697 698 699 700 701 702 703 704 705 706 707 708 709 710 711 712 713 714 715 716 717 718 719 720 721 722 723 724 725 726 727 728 729 730 731 732 733 734 735 736 737 738 739 740 741 742 743 744 745 746 747 748 749 750 751 752 753 754 755 756 757 758 759 760 761 762 763 764 765 766 767 768 769 770 771 772 773 774 775 776 777 778 779 780 781 782 783 784 785 786 787 788 789 790 791 792 793 794 795 796 797 798 799 800 801 802 803 804 805 806 807 808 809 810 811 812 813 814 815 816 817 818 819 820 821 822 823 824 825 826 827 828 829 830 831 832 833 834 835 836 837 838 839 840 841 842 843 844 845 846 847 848 849 850 851 852 853 854 855 856 857 858 859 860 861 862 863 864 865 866 867 868 869 870 871 872 873 874 875 876 877 878 879 880 881 882 883 884 885 886 887 888 889 890 891 892 893 894 895 896 897 898 899 900 901 902 903 904 905 906 907 908 909 910 911 912 913 914 915 916 917 918 919 920 921 922 923 924 925 926 927 928 929 930 931 932 933 934 935 936 937 938 939 940 941 942 943 944 945 946 947 948 949 950 951 952 953 954 955 956 957 958 959 960 961 962 963 964 965 966 967 968 969 970 971 972 973 974 975 976 977 978 979 980 981 982 983 984 985 986 987 988 989 990 991 992 993 994 995 996 997 998 999 1000 1001 1002 1003 1004 1005 1006 1007 1008 1009 1010 1011 1012 1013 1014 1015 1016 1017 1018 1019 1020 1021 1022 1023 1024 1025 1026 1027 1028 1029 1030 1031 1032 1033 1034 1035 1036 1037 1038 1039 1040 1

(74) Agents: DUSTMAN, Wayne, J. et al.; GLAXOSMITHKLINE, CORPORATE INTELLECTUAL PROPERTY, UJW2220, 709 SWEDLAND ROAD, P.O. BOX 1539, King Of Prussia, PA 19406-0939 (US).

(81) Designated States (unless otherwise indicated, for every kind of national protection available): AE, AG, AI, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GR, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KM, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LV, LY, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PG, PH, PL, PT, RO, RS, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, SV, SY, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.

(84) **Designated States** (unless otherwise indicated, for every kind of regional protection available): ARIPO (BW, GI, GM, KE, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), Eurasian (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), European (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, NL, PL, PT, RO, SE, SI, SK, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

Published:
— *without international search report and to be republished upon receipt of that report*

For two-letter codes and other abbreviations, refer to the "Guidance Notes on Codes and Abbreviations" appearing at the beginning of each regular issue of the PCT Gazette.

[illegible]

(57) **Abstract:** Invented are novel 1 H-imidazo[4,5-c]pyridin-2-yl compounds, the use of such compounds as inhibitors of protein kinase B activity and in the treatment of cancer and arthritis.

WFO 2007/058850 A2

10

INHIBITORS OF Akt ACTIVITY

FIELD OF THE INVENTION

This invention relates to novel 1H-imidazo[4,5-c]pyridin-2-yl compounds, the use of such compounds as inhibitors of protein kinase B (hereinafter PKB/Akt, PKB or Akt) activity and in the treatment of cancer and arthritis.

BACKGROUND OF THE INVENTION

The present invention relates to 1H-imidazo[4,5-c]pyridin-2-yl containing compounds that are inhibitors of the activity of one or more of the isoforms of the serine/threonine kinase, Akt (also known as protein kinase B). The present invention also relates to pharmaceutical compositions comprising such compounds and methods of using the instant compounds in the treatment of cancer and arthritis (Liu et al. Current Opin. Pharmacology 3:317-22 (2003)).

Apoptosis (programmed cell death) plays essential roles in embryonic development and pathogenesis of various diseases, such as degenerative neuronal diseases, cardiovascular diseases and cancer. Recent work has led to the identification of various pro- and anti-apoptotic gene products that are involved in the regulation or execution of programmed cell death. Expression of anti-apoptotic genes, such as Bcl2 or Bcl-x_L, inhibits apoptotic cell death induced by various stimuli. On the other hand, expression of pro-apoptotic genes, such as Bax or Bad, leads to programmed cell death (Adams et al. *Science*, 281:1322-1326 (1998)). The execution of programmed cell death is mediated by caspase -1 related proteinases, including caspase-3, caspase- 7, caspase-8 and caspase-9 etc (Thornberry et al. *Science*, 281:1312-1316 (1998)).

The phosphatidylinositol 3'-OH kinase (PI3K)/Akt/PKB pathway appears important for regulating cell survival/cell death (Kulik et al. *Mol.Cell.Biol.* 17:1595-1606 (1997); Franke et al, *Cell*, 88:435-437 (1997); Kauffmann-Zeh et al. *Nature* 385:544-548 (1997) Hemmings *Science*, 275:628-630 (1997); Dudek et al., *Science*, 275:661-665 (1997)). Survival factors, such as platelet derived growth factor (PDGF), nerve growth factor (NGF) and insulin-like growth factor-1 (IGF-I), promote cell survival under various conditions by inducing the activity of PI3K (Kulik et al. 1997, Hemmings 1997). Activated PI3K leads to the production of phosphatidylinositol (3,4,5)-triphosphate (PtdIns (3,4,5)-P3), which in turn binds to, and promotes the activation of, the serine/ threonine kinase Akt, which contains a pleckstrin homology (PH)-domain (Franke et al *Cell*, 81:727-736 (1995); Hemmings

Science, 277:534 (1997); Downward, *Curr. Opin. Cell Biol.* 10:262-267 (1998), Alessi et al., *EMBO J.* 15: 6541-6551 (1996)). Specific inhibitors of PI3K or dominant negative Akt/PKB mutants abolish survival-promoting activities of these growth factors or cytokines. It has been previously disclosed that inhibitors of PI3K (LY294002 or wortmannin) blocked the activation of Akt/PKB by upstream kinases. In addition, introduction of constitutively active PI3K or Akt/PKB mutants promotes cell survival under conditions in which cells normally undergo apoptotic cell death (Kulik et al. 1997, Dudek et al. 1997).

Analysis of Akt levels in human tumors showed that Akt2 is overexpressed in a significant number of ovarian (J. Q. Cheung et al. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 89:9267-9271 (1992)) and pancreatic cancers (J. Q. Cheung et al. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 93:3636-3641 (1996)). Similarly, Akt3 was found to be overexpressed in breast and prostate cancer cell lines (Nakatani et al. *J. Biol. Chem.* 274:21528-21532 (1999)). It was demonstrated that Akt-2 was over-expressed in 12% of ovarian carcinomas and that amplification of Akt was especially frequent in 50% of undifferentiated tumors, suggestion that Akt may also be associated with tumor aggressiveness (Bellacosa, et al., *Int. J. Cancer*, 64, pp. 280-285, 1995). Increased Akt1 kinase activity has been reported in breast, ovarian and prostate cancers (Sun et al. *Am. J. Pathol.* 159: 431-7 (2001)).

The tumor suppressor PTEN, a protein and lipid phosphatase that specifically removes the 3' phosphate of PtdIns(3,4,5)-P3, is a negative regulator of the PI3K/Akt pathway (Li et al. *Science* 275:1943-1947 (1997), Stambolic et al. *Cell* 95:29-39 (1998), Sun et al. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 96:6199-6204 (1999)). Germline mutations of PTEN are responsible for human cancer syndromes such as Cowden disease (Llaw et al. *Nature Genetics* 16:64-67 (1997)). PTEN is deleted in a large percentage of human tumors and tumor cell lines without functional PTEN show elevated levels of activated Akt (Li et al. supra, Guldberg et al. *Cancer Research* 57:3660-3663 (1997), Risinger et al. *Cancer Research* 57:4736-4738 (1997)).

These observations demonstrate that the PI3K/Akt pathway plays important roles for regulating cell survival or apoptosis in tumorigenesis.

Three members of the Akt/PKB subfamily of second-messenger regulated serine/threonine protein kinases have been identified and termed Akt1/ PKB α , Akt2/PKB β , and Akt3/PKB γ respectively. The isoforms are homologous, particularly in regions encoding the catalytic domains. Akt/PKBs are activated by phosphorylation events occurring in response to PI3K signaling. PI3K phosphorylates membrane inositol phospholipids, generating the second

12

messengers phosphatidyl- inositol 3,4,5-trisphosphate and phosphatidylinositol 3,4-bisphosphate, which have been shown to bind to the PH domain of Akt/PKB. The current model of Akt/PKB activation proposes recruitment of the enzyme to the membrane by 3'-phosphorylated phosphoinositides, where phosphorylation of the regulatory sites of Akt/PKB by the upstream kinases occurs (B.A. Hemmings, *Science* 275:628-630 (1997); B.A. Hemmings, *Science* 276:534 (1997); J. Downward, *Science* 279:673-674 (1998)).

Phosphorylation of Akt1/PKB α occurs on two regulatory sites, Thr³⁰⁸ in the catalytic domain activation loop and on Ser⁴⁷³ near the carboxy terminus (D. R. Alessi *et al.* *EMBO J.* 15:6541-6551 (1996) and R. Meier *et al.* *J. Biol. Chem.* 272:30491-30497 (1997)). Equivalent regulatory phosphorylation sites occur in Akt2/PKB β and Akt3/PKB γ . The upstream kinase, which phosphorylates Akt/PKB at the activation loop site has been cloned and termed 3'-phosphoinositide dependent protein kinase 1 (PDK1). PDK1 phosphorylates not only Akt/PKB, but also p70 ribosomal S6 kinase, p90RSK, serum and glucocorticoid-regulated kinase (SGK), and protein kinase C. The upstream kinase phosphorylating the regulatory site of Akt/PKB near the carboxy terminus has not been identified yet, but recent reports imply a role for the integrin-linked kinase (ILK-1), a serine/threonine protein kinase, or autophosphorylation.

Inhibition of Akt activation and activity can be achieved by inhibiting PI3K with inhibitors such as LY294002 and wortmannin. However, PI3K inhibition has the potential to indiscriminately affect not just all three Akt isozymes but also other PH domain-containing signaling molecules that are dependent on PtdIns(3,4,5)-P3, such as the Tec family of tyrosine kinases. Furthermore, it has been disclosed that Akt can be activated by growth signals that are independent of PI3K.

Alternatively, Akt activity can be inhibited by blocking the activity of the upstream kinase PDK1. The compound UCN-01 is a reported inhibitor of PDK1. *Biochem. J.* 375(2):255 (2003). Again, inhibition of PDK1 would result in inhibition of multiple protein kinases whose activities depend on PDK1, such as atypical PKC isoforms, SGK, and S6 kinases (Williams *et al.* *Curr. Biol.* 10:439-448 (2000)).

Small molecule inhibitors of Akt are useful in the treatment of tumors, especially those with activated Akt (e.g. PTEN null tumors and tumors with ras mutations). PTEN is a critical negative regulator of Akt and its function is lost in many cancers, including breast and prostate carcinomas, glioblastomas, and several cancer syndromes including Bannayan-Zonana syndrome (Maehama, T. *et al.* *Annual Review of Biochemistry*, 70: 247 (2001)), Cowden disease (Parsons, R.; Simpson, L. *Methods in Molecular Biology* (Totowa, NJ, United States), 222 (Tumor

13

Suppressor Genes, Volume 1): 147 (2003)), and Lhermitte-Duclos disease (Backman, S. *et al. Current Opinion in Neurobiology*, 12(5): 516 (2002)). Inhibition of Akt has also been implicated in the treatment of leukemias, (J.C. Byrd, S. Stilgenbauer and I.W. Flinn "Chronic lymphocytic leukemia." Hematology / the Education Program of the American Society of Hematology. American Society of Hematology. Education Program (2004), 163-83). Akt3 is up-regulated in estrogen receptor-deficient breast cancers and androgen-independent prostate cancer cell lines and Akt2 is over-expressed in pancreatic and ovarian carcinomas. Akt1 is amplified in gastric cancers (Staal, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 84: 5034-7 (1987) and upregulated in breast cancers (Stal *et al. Breast Cancer Res.* 5: R37-R44 (2003)). Therefore a small molecule Akt inhibitor is expected to be useful for the treatment of these types of cancer as well as other types of cancer. Akt inhibitors are also useful in combination with further chemotherapeutic agents.

It is an object of the instant invention to provide novel compounds that are inhibitors of Akt/PKB.

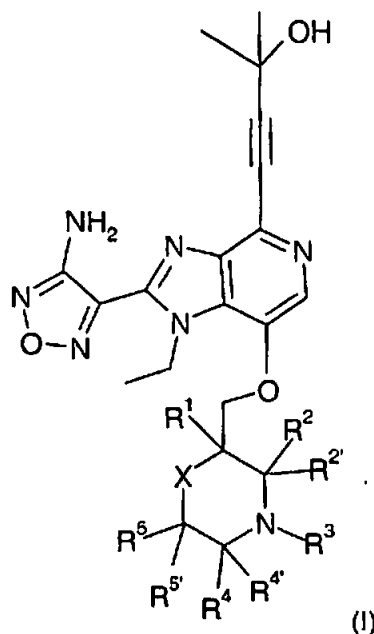
It is also an object of the present invention to provide pharmaceutical compositions that comprise a pharmaceutical carrier and compounds useful in the methods of the invention.

It is also an object of the present invention to provide a method for treating cancer that comprises administering such inhibitors of Akt/PKB activity.

It is also an object of the present invention to provide a method for treating arthritis that comprises administering such inhibitors of Akt/PKB activity.

SUMMARY OF THE INVENTION

This invention relates to novel compounds of Formula (I):



wherein:

X is absent or selected from the group consisting of: O, S and CR²⁰R²¹, where R²⁰R²¹ are independently selected from: hydrogen, fluorine, cyclopropyl, substituted cyclopropyl, cyclobutyl, substituted cyclobutyl, cyclopentyl, substituted cyclopentyl, -C₁-C₄alkyl, and substituted -C₁-C₄alkyl,

or R²⁰R²¹ taken together with the carbon to which they are attached form cyclopropyl, substituted cyclopropyl, cyclobutyl, substituted cyclobutyl, cyclopentyl or substituted cyclopentyl;

R²R^{2'} are independently selected from: hydrogen, fluorine, cyclopropyl, substituted cyclopropyl, cyclobutyl, substituted cyclobutyl, cyclopentyl, substituted cyclopentyl, -C₁-C₄alkyl, and substituted -C₁-C₄alkyl, or R²R^{2'} taken together with the carbon to which they are attached form cyclopropyl, substituted cyclopropyl, cyclobutyl, substituted cyclobutyl, cyclopentyl or substituted cyclopentyl;

R³ is selected from the group consisting of: hydrogen, cyclopropyl, substituted cyclopropyl, cyclobutyl, substituted cyclobutyl, cyclopentyl, substituted cyclopentyl, cyclopropylmethyl, substituted cyclopropylmethyl, -C₁-C₄alkyl, and substituted -C₁-C₄alkyl;

13

R^4R^4' are independently selected from: hydrogen, fluorine, cyclopropyl, substituted cyclopropyl, cyclobutyl, substituted cyclobutyl, cyclopentyl, substituted cyclopentyl, $-C_1-C_4$ alkyl, and substituted $-C_1-C_4$ alkyl, or R^4R^4' taken together with the carbon to which they are attached form cyclopropyl, substituted cyclopropyl, cyclobutyl, substituted cyclobutyl, cyclopentyl or substituted cyclopentyl;

R^5R^5' are independently selected from: hydrogen, fluorine, cyclopropyl, substituted cyclopropyl, cyclobutyl, substituted cyclobutyl, cyclopentyl, substituted cyclopentyl, $-C_1-C_4$ alkyl, and substituted $-C_1-C_4$ alkyl, or R^5R^5' taken together with the carbon to which they are attached form cyclopropyl, substituted cyclopropyl, cyclobutyl, substituted cyclobutyl, cyclopentyl or substituted cyclopentyl; and

R^1 is selected from the group consisting of: hydrogen, $-C_1-C_4$ alkyl and substituted $-C_1-C_4$ alkyl; and

when X is absent or $CR^{20}R^{21}$, R^1 can additionally be fluorine;

and/or pharmaceutically acceptable salts, hydrates, solvates and pro-drugs thereof.

This invention relates to a method of treating cancer, which comprises administering to a subject in need thereof an effective amount of an Akt/PKB inhibiting compound of Formula (I).

This invention relates to a method of treating arthritis, which comprises administering to a subject in need thereof an effective amount of an Akt/PKB inhibiting compound of Formula (I).

The present invention also relates to the discovery that the compounds of Formula (I) are active as inhibitors of Akt/PKB.

In a further aspect of the invention there is provided novel processes useful in preparing the presently invented Akt/PKB inhibiting compounds.

Included in the present invention are pharmaceutical compositions that comprise a pharmaceutical carrier and compounds useful in the methods of the invention.

Also included in the present invention are methods of co-administering the presently invented Akt/PKB inhibiting compounds with further active ingredients.

DETAILED DESCRIPTION OF THE INVENTION

International Application No. PCT/US2004/024340, having an International filing date of July 28, 2004; International Publication Number WO 2005/011700 and an International Publication date of February 10, 2005, the schemes, processes and assays of which are hereby incorporated by reference, discloses and claims 1H-imidazo[4,5-c]pyridin-2-yl containing compounds, along with pharmaceutically acceptable salts, hydrates, solvates and pro-drugs thereof, as being useful as inhibitors of serine/threonine kinase, Akt (also known as protein kinase B), particularly in the treatment of cancer and arthritis. International Application No. PCT/US2004/024340 does not specifically disclose any of the compounds within the scope of this application.

It has now been found that the compounds of Formula (I) exhibit advantages over what is considered to be the most structurally related compounds disclosed in International Application No. PCT/US2004/024340.

For example, the compounds of Examples 1, 3, 4 and 9 of the present invention generally exhibit enhanced activity and enhanced selectivity for the inhibition of tumor cell growth over inhibition of normal cell growth when compared to what is considered to be the most structurally related compounds disclosed in International Application No. PCT/US2004/024340. This enhanced activity and enhanced selectivity is expected to result in a wider therapeutic window. Additionally, the compounds disclosed in International Application No. PCT/US2004/024340 generally exhibit poor solubility in water. One aspect of this poor solubility is that it adversely affects the ability of these compounds to be formulated into pharmaceutical dosage forms suitable for intravenous (hereinafter IV) administration. In addition to generally having enhanced activity and enhanced selectivity for the inhibition of tumor cell growth over inhibition of normal cell growth, the compounds of Examples 1, 3, 4 and 9 of the present invention exhibit solubility that is considered suitable for formulation into dosage forms for IV administration. Intravenous administration is an advantageous method for administering the compounds of the present invention.

17

While the compounds of International Application No. PCT/US2004/024340 are useful as inhibitors of serine/threonine kinase, AKT (also known as protein kinase B), the compounds of Formula (I), particularly the compounds of Examples 1, 3, 4 and 9, generally exhibit advantageous properties, such as appropriate solubility, activity, selectivity, clearance and exposure, which overall render them advantageous over what is considered to be the most structurally related compounds disclosed in International Application No. PCT/US2004/024340.

This invention relates to compounds of Formula (I) as described above.

The presently invented compounds of Formula (I) inhibit Akt/PKB activity. In particular, the compounds disclosed herein inhibit each of the three Akt/PKB isoforms.

Included among the presently invented compounds of Formula (I) are those wherein:

X is absent or selected from the group consisting of: O, S and CR²⁰R²¹, where R²⁰R²¹ are independently selected from: hydrogen, fluorine, cyclopropyl, cyclobutyl, cyclopentyl, and -C₁-C₄alkyl, or R²⁰R²¹ taken together with the carbon to which they are attached form cyclopropyl, cyclobutyl or cyclopentyl;

R²R^{2'} are independently selected from: hydrogen, fluorine, cyclopropyl, cyclobutyl, cyclopentyl, and -C₁-C₄alkyl, or R²R^{2'} taken together with the carbon to which they are attached form cyclopropyl, cyclobutyl or cyclopentyl;

R³ is selected from the group consisting of: hydrogen, cyclopropyl, cyclobutyl, cyclopentyl, and -C₁-C₄alkyl;

R⁴R^{4'} are independently selected from: hydrogen, fluorine, cyclopropyl, cyclobutyl, cyclopentyl, and -C₁-C₄alkyl, or R⁴R^{4'} taken together with the carbon to which they are attached form cyclopropyl, cyclobutyl or cyclopentyl;

R⁵R^{5'} are independently selected from: hydrogen, fluorine, cyclopropyl, cyclobutyl, cyclopentyl, and -C₁-C₄alkyl, or R⁵R^{5'} taken together with the carbon to which they are attached form cyclopropyl, cyclobutyl or cyclopentyl; and

19

R^1 is selected from the group consisting of: hydrogen and $-C_1-C_4$ alkyl; and

when X is absent or $CR^{20}R^{21}$, R^1 can additionally be fluorine;

and/or pharmaceutically acceptable salts, hydrates, solvates and pro-drugs thereof.

Included among the presently invented compounds of Formula (I) are those wherein:

X is absent or selected from the group consisting of: O, S and $CR^{20}R^{21}$, where $R^{20}R^{21}$ are independently selected from: hydrogen, fluorine, cyclopropyl, substituted cyclopropyl, cyclobutyl, substituted cyclobutyl, cyclopentyl, substituted cyclopentyl, $-C_1-C_4$ alkyl, and substituted $-C_1-C_4$ alkyl, or $R^{20}R^{21}$ taken together with the carbon to which they are attached form cyclopropyl, substituted cyclopropyl, cyclobutyl, substituted cyclobutyl, cyclopentyl or substituted cyclopentyl;

$R^2R^{2'}$ are independently selected from: hydrogen, fluorine, cyclopropyl, substituted cyclopropyl, cyclobutyl, substituted cyclobutyl, cyclopentyl, substituted cyclopentyl, $-C_1-C_4$ alkyl, and substituted $-C_1-C_4$ alkyl, or $R^2R^{2'}$ taken together with the carbon to which they are attached form cyclopropyl, substituted cyclopropyl, cyclobutyl, substituted cyclobutyl, cyclopentyl or substituted cyclopentyl;

R^3 is selected from the group consisting of: hydrogen, cyclopropyl, substituted cyclopropyl, cyclobutyl, substituted cyclobutyl, cyclopentyl, substituted cyclopentyl, $-C_1-C_4$ alkyl and substituted $-C_1-C_4$ alkyl;

$R^4R^{4'}$ are independently selected from: hydrogen, fluorine, cyclopropyl, substituted cyclopropyl, cyclobutyl, substituted cyclobutyl, cyclopentyl, substituted cyclopentyl, $-C_1-C_4$ alkyl, and substituted $-C_1-C_4$ alkyl, or $R^4R^{4'}$ taken together with the carbon to which they are attached form cyclopropyl, substituted cyclopropyl, cyclobutyl, substituted cyclobutyl, cyclopentyl or substituted cyclopentyl;

$R^{5R5'}$ are independently selected from: hydrogen, fluorine, cyclopropyl, substituted cyclopropyl, cyclobutyl, substituted cyclobutyl, cyclopentyl, substituted cyclopentyl, $-C_1-C_4$ alkyl, and substituted $-C_1-C_4$ alkyl, or $R^{5R5'}$ taken together with the carbon to which they are attached form cyclopropyl, substituted cyclopropyl, cyclobutyl, substituted cyclobutyl, cyclopentyl or substituted cyclopentyl; and

R^1 is selected from the group consisting of: hydrogen, $-C_1-C_4$ alkyl and substituted $-C_1-C_4$ alkyl; and

when X is absent or CR^{20R21} , R^1 can additionally be fluorine;

and/or pharmaceutically acceptable salts, hydrates, solvates and pro-drugs thereof.

Included among the presently invented compounds of Formula (I) are those wherein:

X is absent or selected from the group consisting of: O, S and CR^{20R21} , where R^{20R21} are independently selected from: hydrogen, fluorine, cyclopropyl, cyclobutyl, cyclopentyl, and $-C_1-C_4$ alkyl;

$R^{2R2'}$ are independently selected from: hydrogen, fluorine, cyclopropyl, cyclobutyl, cyclopentyl, and $-C_1-C_4$ alkyl;

R^3 is selected from the group consisting of: hydrogen, cyclopropyl, cyclobutyl, cyclopentyl, and $-C_1-C_4$ alkyl;

$R^{4R4'}$ are independently selected from: hydrogen, fluorine, cyclopropyl, cyclobutyl, cyclopentyl, and $-C_1-C_4$ alkyl;

$R^{5R5'}$ are independently selected from: hydrogen, fluorine, cyclopropyl, cyclobutyl, cyclopentyl, and $-C_1-C_4$ alkyl; and

R^1 is selected from the group consisting of: hydrogen and $-C_1-C_4$ alkyl; and

when X is absent or CR^{20R21} , R^1 can additionally be fluorine;

and/or pharmaceutically acceptable salts, hydrates, solvates and pro-drugs thereof.

70

Included among the presently invented compounds of Formula (I) are those wherein:

X is absent or selected from the group consisting of: O, S and $CR^{20}R^{21}$, where $R^{20}R^{21}$ are independently selected from: hydrogen, fluorine, cyclopropyl, substituted cyclopropyl, cyclobutyl, substituted cyclobutyl, cyclopentyl, substituted cyclopentyl, $-C_1-C_4$ alkyl and substituted $-C_1-C_4$ alkyl;

$R^{20}R^{21}$ are independently selected from: hydrogen, fluorine, cyclopropyl, substituted cyclopropyl, cyclobutyl, substituted cyclobutyl, cyclopentyl, substituted cyclopentyl, $-C_1-C_4$ alkyl and substituted $-C_1-C_4$ alkyl;

R^3 is selected from the group consisting of: hydrogen, cyclopropyl, substituted cyclopropyl, cyclobutyl, substituted cyclobutyl, cyclopentyl, substituted cyclopentyl, $-C_1-C_4$ alkyl and substituted $-C_1-C_4$ alkyl;

R^4R^4' are independently selected from: hydrogen, fluorine, cyclopropyl, substituted cyclopropyl, cyclobutyl, substituted cyclobutyl, cyclopentyl, substituted cyclopentyl, $-C_1-C_4$ alkyl and substituted $-C_1-C_4$ alkyl;

R^5R^5' are independently selected from: hydrogen, fluorine, cyclopropyl, substituted cyclopropyl, cyclobutyl, substituted cyclobutyl, cyclopentyl, substituted cyclopentyl, $-C_1-C_4$ alkyl and substituted $-C_1-C_4$ alkyl; and

R^1 is selected from the group consisting of: hydrogen, $-C_1-C_4$ alkyl and substituted $-C_1-C_4$ alkyl; and

when X is absent or $CR^{20}R^{21}$, R^1 can additionally be fluorine;

and/or pharmaceutically acceptable salts, hydrates, solvates and pro-drugs thereof.

Included among the presently invented compounds of Formula (I) are:

4-(2-(4-amino-1,2,5-oxadiazol-3-yl)-1-ethyl-7-[(3S)-3-piperidinylmethyl]oxy)-1H-imidazo[4,5-c]pyridin-4-yl)-2-methyl-3-butyn-2-ol;

4-(2-(4-amino-1,2,5-oxadiazol-3-yl)-1-ethyl-7-[(2-morpholinylmethyl)oxy]-1H-imidazo[4,5-c]pyridin-4-yl)-2-methyl-3-butyn-2-ol;

91

4-(2-(4-amino-1,2,5-oxadiazol-3-yl)-1-ethyl-7-(((2S)-2-thiomorpholinylmethyl)oxy))-1H-imidazo[4,5-c]pyridin-4-yl)-2-methyl-3-butyn-2-ol;
4-(2-(4-amino-1,2,5-oxadiazol-3-yl)-1-ethyl-7-(((2S)-2-morpholinylmethyl)oxy))-1H-imidazo[4,5-c]pyridin-4-yl)-2-methyl-3-butyn-2-ol;
4-(2-(4-amino-1,2,5-oxadiazol-3-yl)-1-ethyl-7-((3-pyrrolidinylmethyl)oxy))-1H-imidazo[4,5-c]pyridin-4-yl)-2-methyl-3-butyn-2-ol;

4-[2-(4-amino-1,2,5-oxadiazol-3-yl)-1-ethyl-7-(((3S)-1-methyl-3-piperidinyl)methyl)oxy))-1H-imidazo[4,5-c]pyridin-4-yl]-2-methyl-3-butyn-2-ol;
4-[2-(4-amino-1,2,5-oxadiazol-3-yl)-1-ethyl-7-(((2S)-4-methyl-2-thiomorpholinyl)methyl)oxy))-1H-imidazo[4,5-c]pyridin-4-yl]-2-methyl-3-butyn-2-ol;
4-[2-(4-amino-1,2,5-oxadiazol-3-yl)-1-ethyl-7-(((2S)-4-methyl-2-morpholinyl)methyl)oxy))-1H-imidazo[4,5-c]pyridin-4-yl]-2-methyl-3-butyn-2-ol;
4-[2-(4-amino-1,2,5-oxadiazol-3-yl)-1-ethyl-7-(((2R)-6-methyl-2-morpholinyl)methyl)oxy))-1H-imidazo[4,5-c]pyridin-4-yl]-2-methyl-3-butyn-2-ol; and
4-[2-(4-amino-1,2,5-oxadiazol-3-yl)-1-ethyl-7-(((2S)-4-ethyl-2-morpholinyl)methyl)oxy))-1H-imidazo[4,5-c]pyridin-4-yl]-2-methyl-3-butyn-2-ol;

and/or pharmaceutically acceptable salts, hydrates, solvates and pro-drugs thereof.

Compounds of Formula (I) are included in the pharmaceutical compositions of the invention and used in the methods of the invention.

As used herein, the substituents cyclopropyl, cyclopropylmethyl, cyclobutyl, cyclopentyl and -C₁-C₄alkyl, are optionally substituted with from 1 fluorine atom to where the substituent is perfluorinated. Suitably, the substituent is optionally substituted with from 1 to 8 fluorine atoms. Suitably, the substituent is optionally substituted with from 1 to 5 fluorine atoms. Suitably, the substituent is optionally substituted with from 1 to 3 fluorine atoms.

By the term "perfluorinated" as used herein is meant a substituent where all of the hydrogen atoms have been replaced by fluorine atoms.

By the term "substituted" as used herein, unless otherwise defined, is meant that the subject chemical moiety is substituted with from 1 fluorine atom to where the chemical moiety is perfluorinated. Suitably, the chemical moiety is substituted with from 1 to 8 fluorine atoms. Suitably, the chemical moiety is substituted with from 1 to 5 fluorine atoms. Suitably, the chemical moiety is substituted with from 1 to 3 fluorine atoms.

22

By the term "-C₁-C₄alkyl" as used herein, is meant a linear or branched, saturated or unsaturated hydrocarbon chain, containing from 1 to 4 carbon atoms. Examples of -C₁-C₄alkyl as used herein include: -CH₃, -CH₂-CH₃, -CH₂-CH₂-CH₃, -CH(CH₃)₂, -CH₂-CF₃, -C(CH₃)₃, -(CH₂)₃-CH₃, -CH₂-CH(CH₃)₂, -CH(CH₃)-CH₂-CH₃, -CH=CH₂, and -C≡C-CH₃.

Unless otherwise stated, the compounds disclosed herein also include all stereochemical forms of the structure; i.e., the R and S configurations for each asymmetric center. Therefore, single stereochemical isomers as well as enantiomeric and diastereomeric mixtures of the present compounds are within the scope of the invention.

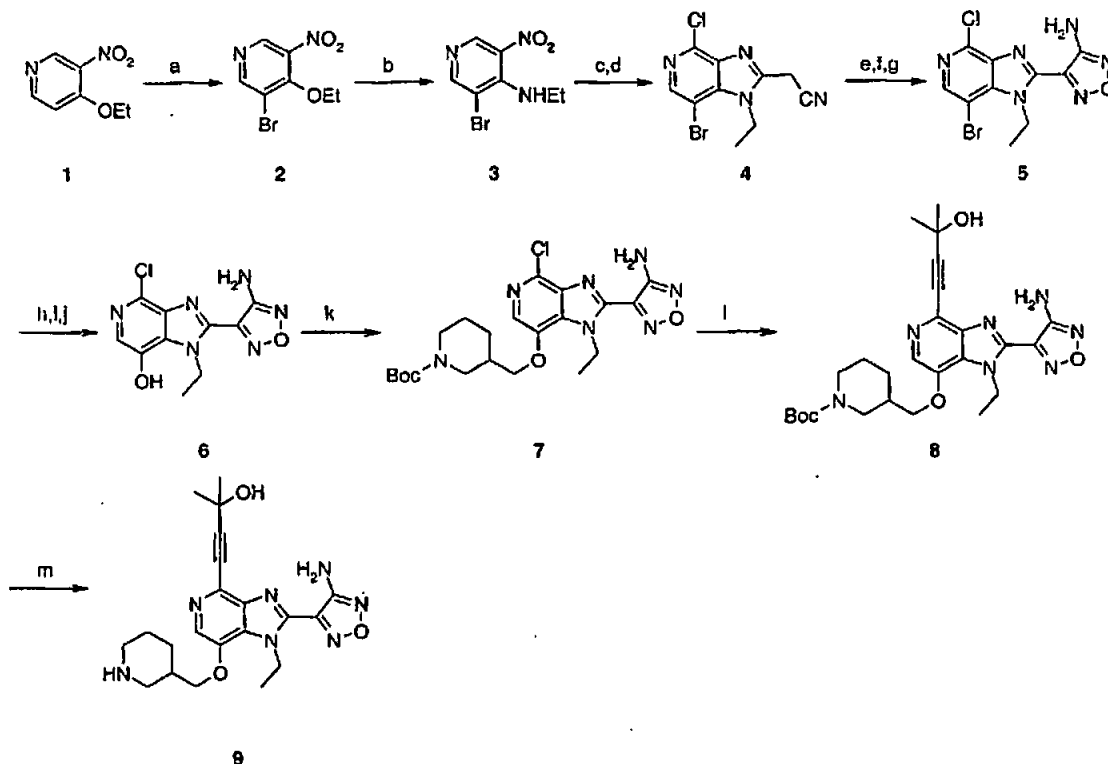
By the term "treating" and derivatives thereof as used herein, is meant prophylactic and therapeutic therapy.

As used herein, the term "effective amount" and derivatives thereof means that amount of a drug or pharmaceutical agent that will elicit the biological or medical response of a tissue, system, animal or human that is being sought, for instance, by a researcher or clinician. Furthermore, the term "therapeutically effective amount" and derivatives thereof means any amount which, as compared to a corresponding subject who has not received such amount, results in improved treatment, healing, prevention, or amelioration of a disease, disorder, or side effect, or a decrease in the rate of advancement of a disease or disorder. The term also includes within its scope amounts effective to enhance normal physiological function.

The novel compounds of Formula I are prepared as shown in Scheme 1 below, or by analogous methods. All of the starting materials are commercially available or are readily made from commercially available starting materials by those of skill in the art.

93

Scheme 1



(a) Br₂, NaOAc; (b) EtNH₂; (c) SnCl₂, HCl; (d) ethyl cyanoacetate, 190 °C; (e) NaNO₂, HCl; (f) NH₂OH; (g) Et₃N, dioxane; (h) n-BuLi, THF; (i) B(OMe)₃; (j) H₂O₂, NaOH; (k) 1,1-dimethylethyl 3-(hydroxymethyl)-1-piperidinecarboxylate, DEAD, polymer bound PPh₃, CH₂Cl₂; (l) Pd(PPh₃)₄, iPr₂NH, dioxane, 100 °C; (m) TFA, CH₂Cl₂.

Compounds of Formula (I) can be prepared in a manner analogous to those shown in Scheme 1. Bromination of 3-nitro-4-ethoxy pyridine (1-Scheme 1) using bromine buffered in sodium acetate gives 3-bromo-4-(ethoxy)-5-nitropyridine (2-Scheme 1). Other alternative methods exist and are known to those skilled in the art for carrying out this transformation. A compilation of these methods can be found in standard organic synthesis texts such as Larock, "Comprehensive Organic Transformations," VCH, N.Y.(1989). The ethoxy group is then displaced by a primary amine such as ethyl amine in a polar solvent such as ethanol to give compounds such as 3-Scheme 1. In the case liquid amines, the reaction can be carried out in the absence of solvent. The reduction of the nitro group with

9d

concomitant introduction of the chloro group is achieved using tin (II) chloride according to the method described by Kelley et al. J. Med. Chem. 1995, 38(20), 4131-34. The corresponding 5-bromo-2-chloro diaminopyridine is condensed with an appropriate acid or ester such as ethyl cyanoacetate. Continued heating affects a cyclodehydration reaction to give imidazopyridines such as 4-Scheme 1. Reaction with NaNO_2 in concentrated HCl following by reaction with hydroxylamine gives a bis-oxime that cyclodehydrates in the presence of an appropriate base such as triethylamine to give an aminofurazan such as 5-Scheme 1. The hydroxyl group is introduced by generating an aryl anion by halogen-metal exchange using a suitable base such as n-butyl lithium, reacting the anion with an appropriate boron electrophile such as trimethyl borate and oxidizing the resulting aryl boronate with an appropriate oxidizing agent such as hydrogen peroxide in aqueous base to give imidazopyridinols such as 6-Scheme 1. Other bases such as Grignard reagents can also be used to affect the halogen metal exchange. Etherification of the imidazopyridinol is carried out with an appropriate alcohol such as 1,1-dimethylethyl 3-(hydroxymethyl)-1-piperidinecarboxylate using the methods described by Mitsunobu, Synthesis 1981, 1 to give ethers such as 7-Scheme 1. Alternatively, the etherification can be carried out by reacting an appropriate halide such as 1,1-dimethylethyl 3-(chloromethyl)-1-piperidinecarboxylate with a suitable alcohol such as 6-Scheme 1 in the presence of a suitable base such as potassium carbonate. Treatment of an appropriate aryl halide such as 7-Scheme 1 with an appropriate catalyst such as tetrakis(triphenylphosphine) palladium and a terminal alkyne in the presence of a suitable base such as di-isopropylamine in an appropriate solvent such as dioxane gives the corresponding aryl alkyne such as 8-Scheme 1. Removal of the protecting groups is achieved using a protic or Lewis acid such as trifluoroacetic acid in a polar solvent such as methylene chloride giving compounds of Formula (I) such as 9-Scheme 1.

By the term "co-administering" and derivatives thereof as used herein is meant either simultaneous administration or any manner of separate sequential administration of an AKT inhibiting compound, as described herein, and a further active ingredient or ingredients, known to be useful in the treatment of cancer, including chemotherapy and radiation treatment, or to be useful in the treatment of arthritis. The term further active ingredient or ingredients, as used herein, includes any compound or therapeutic agent known to or that demonstrates advantageous properties when administered to a patient in need of treatment for cancer or arthritis. Preferably, if the administration is not simultaneous, the compounds are administered in a close time proximity to each other. Furthermore, it does not

25

matter if the compounds are administered in the same dosage form, e.g. one compound may be administered topically and another compound may be administered orally.

Typically, any anti-neoplastic agent that has activity versus a susceptible tumor being treated may be co-administered in the treatment of cancer in the present invention. Examples of such agents can be found in *Cancer Principles and Practice of Oncology* by V.T. Devita and S. Hellman (editors), 6th edition (February 15, 2001), Lippincott Williams & Wilkins Publishers. A person of ordinary skill in the art would be able to discern which combinations of agents would be useful based on the particular characteristics of the drugs and the cancer involved. Typical anti-neoplastic agents useful in the present invention include, but are not limited to, anti-microtubule agents such as diterpenoids and vinca alkaloids; platinum coordination complexes; alkylating agents such as nitrogen mustards, oxazaphosphorines, alkylsulfonates, nitrosoureas, and triazenes; antibiotic agents such as anthracyclins, actinomycins and bleomycins; topoisomerase II inhibitors such as epipodophyllotoxins; antimetabolites such as purine and pyrimidine analogues and anti-folate compounds; topoisomerase I inhibitors such as camptothecins; hormones and hormonal analogues; signal transduction pathway inhibitors; non-receptor tyrosine kinase angiogenesis inhibitors; immunotherapeutic agents; proapoptotic agents; and cell cycle signaling inhibitors.

Examples of a further active ingredient or ingredients (anti-neoplastic agent) for use in combination or co-administered with the presently invented AKT inhibiting compounds are chemotherapeutic agents.

Anti-microtubule or anti-mitotic agents are phase specific agents active against the microtubules of tumor cells during M or the mitosis phase of the cell cycle. Examples of anti-microtubule agents include, but are not limited to, diterpenoids and vinca alkaloids.

Diterpenoids, which are derived from natural sources, are phase specific anti-cancer agents that operate at the G₂/M phases of the cell cycle. It is believed that the diterpenoids stabilize the β -tubulin subunit of the microtubules, by binding with this protein. Disassembly of the protein appears then to be inhibited with mitosis being arrested and cell death following. Examples of diterpenoids include, but are not limited to, paclitaxel and its analog docetaxel.

Paclitaxel, 5 β ,20-epoxy-1,2 α ,4,7 β ,10 β ,13 α -hexa-hydroxytax-11-en-9-one 4,10-diacetate 2-benzoate 13-ester with (2R,3S)-N-benzoyl-3-phenylisoserine; is a natural diterpene product isolated from the Pacific yew tree *Taxus brevifolia* and is commercially available as an injectable solution TAXOL®. It is a member of the

26

taxane family of terpenes. It was first isolated in 1971 by Wani et al. J. Am. Chem. Soc., 93:2325. 1971), who characterized its structure by chemical and X-ray crystallographic methods. One mechanism for its activity relates to paclitaxel's capacity to bind tubulin, thereby inhibiting cancer cell growth. Schiff et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 77:1561-1565 (1980); Schiff et al., Nature, 277:665-667 (1979); Kumar, J. Biol. Chem, 256: 10435-10441 (1981). For a review of synthesis and anticancer activity of some paclitaxel derivatives see: D. G. I. Kingston *et al.*, Studies in Organic Chemistry vol. 26, entitled "New trends in Natural Products Chemistry 1986", Attaur-Rahman, P.W. Le Quesne, Eds. (Elsevier, Amsterdam, 1986) pp 219-235.

Paclitaxel has been approved for clinical use in the treatment of refractory ovarian cancer in the United States (Markman et al., Yale Journal of Biology and Medicine, 64:583, 1991; McGuire et al., Ann. Intern. Med., 111:273, 1989) and for the treatment of breast cancer (Holmes et al., J. Nat. Cancer Inst., 83:1797, 1991.) It is a potential candidate for treatment of neoplasms in the skin (Einzig et. al., Proc. Am. Soc. Clin. Oncol., 20:46) and head and neck carcinomas (Forastire et. al., Sem. Oncol., 20:56, 1990). The compound also shows potential for the treatment of polycystic kidney disease (Woo et. al., Nature, 368:750. 1994), lung cancer and malaria. Treatment of patients with paclitaxel results in bone marrow suppression (multiple cell lineages, Ignoff, R.J. et. al, Cancer Chemotherapy Pocket Guide, 1998) related to the duration of dosing above a threshold concentration (50nM) (Kearns, C.M. et. al., Seminars in Oncology, 3(6) p.16-23, 1995).

Docetaxel, (2R,3S)- N-carboxy-3-phenylisoserine, N-*tert*-butyl ester, 13-ester with 5 β -20-epoxy-1,2 α ,4,7 β ,10 β ,13 α -hexahydroxytax-11-en-9-one 4-acetate 2-benzoate, trihydrate; is commercially available as an injectable solution as TAXOTERE®. Docetaxel is indicated for the treatment of breast cancer. Docetaxel is a semisynthetic derivative of paclitaxel *q.v.*, prepared using a natural precursor, 10-deacetyl-baccatin III, extracted from the needle of the European Yew tree. The dose limiting toxicity of docetaxel is neutropenia.

Vinca alkaloids are phase specific anti-neoplastic agents derived from the periwinkle plant. Vinca alkaloids act at the M phase (mitosis) of the cell cycle by binding specifically to tubulin. Consequently, the bound tubulin molecule is unable to polymerize into microtubules. Mitosis is believed to be arrested in metaphase with cell death following. Examples of vinca alkaloids include, but are not limited to, vinblastine, vincristine, and vinorelbine.

28

Vinblastine, vincalœukoblastine sulfate, is commercially available as VELBAN® as an injectable solution. Although, it has possible indication as a second line therapy of various solid tumors, it is primarily indicated in the treatment of testicular cancer and various lymphomas including Hodgkin's Disease; and lymphocytic and histiocytic lymphomas. Myelosuppression is the dose limiting side effect of vinblastine.

Vincristine, vincalœukoblastine, 22-oxo-, sulfate, is commercially available as ONCOVIN® as an injectable solution. Vincristine is indicated for the treatment of acute leukemias and has also found use in treatment regimens for Hodgkin's and non-Hodgkin's malignant lymphomas. Alopecia and neurologic effects are the most common side effect of vincristine and to a lesser extent myelosuppression and gastrointestinal mucositis effects occur.

Vinorelbine, 3',4'-didehydro -4'-deoxy-C'-norvincalœukoblastine [R-(R*,R*)-2,3-dihydroxybutanedioate (1:2)(salt)], commercially available as an injectable solution of vinorelbine tartrate (NAVELBINE®), is a semisynthetic vinca alkaloid. Vinorelbine is indicated as a single agent or in combination with other chemotherapeutic agents, such as cisplatin, in the treatment of various solid tumors, particularly non-small cell lung, advanced breast, and hormone refractory prostate cancers. Myelosuppression is the most common dose limiting side effect of vinorelbine.

Platinum coordination complexes are non-phase specific anti-cancer agents, which are interactive with DNA. The platinum complexes enter tumor cells, undergo, aquation and form intra- and interstrand crosslinks with DNA causing adverse biological effects to the tumor. Examples of platinum coordination complexes include, but are not limited to, cisplatin and carboplatin.

Cisplatin, cis-diamminedichloroplatinum, is commercially available as PLATINOL® as an injectable solution. Cisplatin is primarily indicated in the treatment of metastatic testicular and ovarian cancer and advanced bladder cancer. The primary dose limiting side effects of cisplatin are nephrotoxicity, which may be controlled by hydration and diuresis, and ototoxicity.

Carboplatin, platinum, diammine [1,1-cyclobutane-dicarboxylate(2-)-O,O'], is commercially available as PARAPLATIN® as an injectable solution. Carboplatin is primarily indicated in the first and second line treatment of advanced ovarian carcinoma. Bone marrow suppression is the dose limiting toxicity of carboplatin.

Alkylating agents are non-phase anti-cancer specific agents and strong electrophiles. Typically, alkylating agents form covalent linkages, by alkylation, to DNA through nucleophilic moieties of the DNA molecule such as phosphate, amino,

sulfhydryl, hydroxyl, carboxyl, and imidazole groups. Such alkylation disrupts nucleic acid function leading to cell death. Examples of alkylating agents include, but are not limited to, nitrogen mustards such as cyclophosphamide, melphalan, and chlorambucil; alkyl sulfonates such as busulfan; nitrosoureas such as carmustine; and triazenes such as dacarbazine.

Cyclophosphamide, 2-[bis(2-chloroethyl)amino]tetrahydro-2H-1,3,2-oxazaphosphorine 2-oxide monohydrate, is commercially available as an injectable solution or tablets as CYTOXAN®. Cyclophosphamide is indicated as a single agent or in combination with other chemotherapeutic agents, in the treatment of malignant lymphomas, multiple myeloma, and leukemias. Alopecia, nausea, vomiting and leukopenia are the most common dose limiting side effects of cyclophosphamide.

Melphalan, 4-[bis(2-chloroethyl)amino]-L-phenylalanine, is commercially available as an injectable solution or tablets as ALKERAN®. Melphalan is indicated for the palliative treatment of multiple myeloma and non-resectable epithelial carcinoma of the ovary. Bone marrow suppression is the most common dose limiting side effect of melphalan.

Chlorambucil, 4-[bis(2-chloroethyl)amino]benzenebutanoic acid, is commercially available as LEUKERAN® tablets. Chlorambucil is indicated for the palliative treatment of chronic lymphatic leukemia, and malignant lymphomas such as lymphosarcoma, giant follicular lymphoma, and Hodgkin's disease. Bone marrow suppression is the most common dose limiting side effect of chlorambucil.

Busulfan, 1,4-butanediol dimethanesulfonate, is commercially available as MYLERAN® TABLETS. Busulfan is indicated for the palliative treatment of chronic myelogenous leukemia. Bone marrow suppression is the most common dose limiting side effects of busulfan.

Carmustine, 1,3-bis(2-chloroethyl)-1-nitrosourea, is commercially available as single vials of lyophilized material as BiCNU®. Carmustine is indicated for the palliative treatment as a single agent or in combination with other agents for brain tumors, multiple myeloma, Hodgkin's disease, and non-Hodgkin's lymphomas. Delayed myelosuppression is the most common dose limiting side effects of carmustine.

Dacarbazine, 5-(3,3-dimethyl-1-triazeno)-imidazole-4-carboxamide, is commercially available as single vials of material as DTIC-Dome®. Dacarbazine is indicated for the treatment of metastatic malignant melanoma and in combination with other agents for the second line treatment of Hodgkin's Disease. Nausea,

vomiting, and anorexia are the most common dose limiting side effects of dacarbazine.

Antibiotic anti-neoplastics are non-phase specific agents, which bind or intercalate with DNA. Typically, such action results in stable DNA complexes or strand breakage, which disrupts ordinary function of the nucleic acids leading to cell death. Examples of antibiotic anti-neoplastic agents include, but are not limited to, actinomycins such as dactinomycin, anthracyclins such as daunorubicin and doxorubicin; and bleomycins.

Dactinomycin, also known as Actinomycin D, is commercially available in injectable form as COSMEGEN®. Dactinomycin is indicated for the treatment of Wilms' tumor and rhabdomyosarcoma. Nausea, vomiting, and anorexia are the most common dose limiting side effects of dactinomycin.

Daunorubicin, (8S-cis)-8-acetyl-10-[(3-amino-2,3,6-trideoxy- α -L-lyxohexopyranosyl)oxy]-7,8,9,10-tetrahydro-6,8,11-trihydroxy-1-methoxy-5,12 naphthacenedione hydrochloride, is commercially available as a liposomal injectable form as DAUNOXOME® or as an injectable as CERUBIDINE®. Daunorubicin is indicated for remission induction in the treatment of acute nonlymphocytic leukemia and advanced HIV associated Kaposi's sarcoma. Myelosuppression is the most common dose limiting side effect of daunorubicin.

Doxorubicin, (8S, 10S)-10-[(3-amino-2,3,6-trideoxy- α -L-lyxohexopyranosyl)oxy]-8-glycoloyl, 7,8,9,10-tetrahydro-6,8,11-trihydroxy-1-methoxy-5,12 naphthacenedione hydrochloride, is commercially available as an injectable form as RUBEX® or ADRIAMYCIN RDF®. Doxorubicin is primarily indicated for the treatment of acute lymphoblastic leukemia and acute myeloblastic leukemia, but is also a useful component in the treatment of some solid tumors and lymphomas. Myelosuppression is the most common dose limiting side effect of doxorubicin.

Bleomycin, a mixture of cytotoxic glycopeptide antibiotics isolated from a strain of *Streptomyces verticillus*, is commercially available as BLENOXANE®. Bleomycin is indicated as a palliative treatment, as a single agent or in combination with other agents, of squamous cell carcinoma, lymphomas, and testicular carcinomas. Pulmonary and cutaneous toxicities are the most common dose limiting side effects of bleomycin.

Topoisomerase II inhibitors include, but are not limited to, epipodophyllotoxins.

Epipodophyllotoxins are phase specific anti-neoplastic agents derived from the mandrake plant. Epipodophyllotoxins typically affect cells in the S and G₂



phases of the cell cycle by forming a ternary complex with topoisomerase II and DNA causing DNA strand breaks. The strand breaks accumulate and cell death follows. Examples of epipodophyllotoxins include, but are not limited to, etoposide and teniposide.

Etoposide, 4'-demethyl-epipodophyllotoxin 9[4,6-O-(R)-ethylidene-β-D-glucopyranoside], is commercially available as an injectable solution or capsules as VePESID® and is commonly known as VP-16. Etoposide is indicated as a single agent or in combination with other chemotherapy agents in the treatment of testicular and non-small cell lung cancers. Myelosuppression is the most common side effect of etoposide. The incidence of leucopenia tends to be more severe than thrombocytopenia.

Teniposide, 4'-demethyl-epipodophyllotoxin 9[4,6-O-(R)-thenylidene-β-D-glucopyranoside], is commercially available as an injectable solution as VUMON® and is commonly known as VM-26. Teniposide is indicated as a single agent or in combination with other chemotherapy agents in the treatment of acute leukemia in children. Myelosuppression is the most common dose limiting side effect of teniposide. Teniposide can induce both leucopenia and thrombocytopenia.

Antimetabolite neoplastic agents are phase specific anti-neoplastic agents that act at S phase (DNA synthesis) of the cell cycle by inhibiting DNA synthesis or by inhibiting purine or pyrimidine base synthesis and thereby limiting DNA synthesis. Consequently, S phase does not proceed and cell death follows. Examples of antimetabolite anti-neoplastic agents include, but are not limited to, fluorouracil, methotrexate, cytarabine, mecaptopurine, thioguanine, and gemcitabine.

5-fluorouracil, 5-fluoro-2,4-(1H,3H) pyrimidinedione, is commercially available as fluorouracil. Administration of 5-fluorouracil leads to inhibition of thymidylate synthesis and is also incorporated into both RNA and DNA. The result typically is cell death. 5-fluorouracil is indicated as a single agent or in combination with other chemotherapy agents in the treatment of carcinomas of the breast, colon, rectum, stomach and pancreas. Myelosuppression and mucositis are dose limiting side effects of 5-fluorouracil. Other fluoropyrimidine analogs include 5-fluoro deoxyuridine (floxuridine) and 5-fluorodeoxyuridine monophosphate.

Cytarabine, 4-amino-1-β-D-arabinofuranosyl-2 (1H)-pyrimidinone, is commercially available as CYTOSAR-U® and is commonly known as Ara-C. It is believed that cytarabine exhibits cell phase specificity at S-phase by inhibiting DNA chain elongation by terminal incorporation of cytarabine into the growing DNA chain. Cytarabine is indicated as a single agent or in combination with other

32

chemotherapy agents in the treatment of acute leukemia. Other cytidine analogs include 5-azacytidine and 2',2'-difluorodeoxycytidine (gemcitabine). Cytarabine induces leucopenia, thrombocytopenia, and mucositis.

Mercaptopurine, 1,7-dihydro-6H-purine-6-thione monohydrate, is commercially available as PURINETHOL®. Mercaptopurine exhibits cell phase specificity at S-phase by inhibiting DNA synthesis by an as of yet unspecified mechanism. Mercaptopurine is indicated as a single agent or in combination with other chemotherapy agents in the treatment of acute leukemia. Myelosuppression and gastrointestinal mucositis are expected side effects of mercaptopurine at high doses. A useful mercaptopurine analog is azathioprine.

Thioguanine, 2-amino-1,7-dihydro-6H-purine-6-thione, is commercially available as TABLOID®. Thioguanine exhibits cell phase specificity at S-phase by inhibiting DNA synthesis by an as of yet unspecified mechanism. Thioguanine is indicated as a single agent or in combination with other chemotherapy agents in the treatment of acute leukemia. Myelosuppression, including leucopenia, thrombocytopenia, and anemia, is the most common dose limiting side effect of thioguanine administration. However, gastrointestinal side effects occur and can be dose limiting. Other purine analogs include pentostatin, erythrophosphoryladenine, fludarabine phosphate, and cladribine.

Gemcitabine, 2'-deoxy-2', 2'-difluorocytidine monohydrochloride (β -isomer), is commercially available as GEMZAR®. Gemcitabine exhibits cell phase specificity at S-phase and by blocking progression of cells through the G1/S boundary. Gemcitabine is indicated in combination with cisplatin in the treatment of locally advanced non-small cell lung cancer and alone in the treatment of locally advanced pancreatic cancer. Myelosuppression, including leucopenia, thrombocytopenia, and anemia, is the most common dose limiting side effect of gemcitabine administration.

Methotrexate, N-[4[[[(2,4-diamino-6-pteridiny) methyl]methylamino] benzoyl]-L-glutamic acid, is commercially available as methotrexate sodium. Methotrexate exhibits cell phase effects specifically at S-phase by inhibiting DNA synthesis, repair and/or replication through the inhibition of dihydrofolic acid reductase which is required for synthesis of purine nucleotides and thymidylate. Methotrexate is indicated as a single agent or in combination with other chemotherapy agents in the treatment of choriocarcinoma, meningeal leukemia, non-Hodgkin's lymphoma, and carcinomas of the breast, head, neck, ovary and bladder. Myelosuppression (leucopenia, thrombocytopenia, and anemia) and mucositis are expected side effect of methotrexate administration.

92

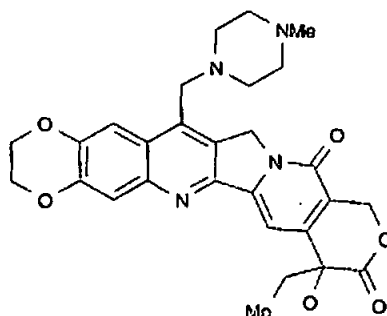
Camptothecins, including, camptothecin and camptothecin derivatives are available or under development as Topoisomerase I inhibitors. Camptothecins cytotoxic activity is believed to be related to its Topoisomerase I inhibitory activity. Examples of camptothecins include, but are not limited to irinotecan, topotecan, and the various optical forms of 7-(4-methylpiperazino-methylene)-10,11-ethylenedioxy-20-camptothecin described below.

Irinotecan HCl, (4S)-4,11-diethyl-4-hydroxy-9-[(4-piperidinopiperidino)carbonyloxy]-1H-pyrano[3',4',6,7]indolizino[1,2-b]quinoline-3,14(4H,12H)-dione hydrochloride, is commercially available as the injectable solution CAMPTOSAR®.

Irinotecan is a derivative of camptothecin which binds, along with its active metabolite SN-38, to the topoisomerase I – DNA complex. It is believed that cytotoxicity occurs as a result of irreparable double strand breaks caused by interaction of the topoisomerase I : DNA : Irinotecan or SN-38 ternary complex with replication enzymes. Irinotecan is indicated for treatment of metastatic cancer of the colon or rectum. The dose limiting side effects of Irinotecan HCl are myelosuppression, including neutropenia, and GI effects, including diarrhea.

Topotecan HCl, (S)-10-[(dimethylamino)methyl]-4-ethyl-4,9-dihydroxy-1H-pyrano[3',4',6,7]indolizino[1,2-b]quinoline-3,14-(4H,12H)-dione monohydrochloride, is commercially available as the injectable solution HYCAMTIN®. Topotecan is a derivative of camptothecin which binds to the topoisomerase I – DNA complex and prevents religation of single strand breaks caused by Topoisomerase I in response to torsional strain of the DNA molecule. Topotecan is indicated for second line treatment of metastatic carcinoma of the ovary and small cell lung cancer. The dose limiting side effect of topotecan HCl is myelosuppression, primarily neutropenia.

Also of interest, is the camptothecin derivative of formula A following, currently under development, including the racemic mixture (R,S) form as well as the R and S enantiomers:



A

33

known by the chemical name "7-(4-methylpiperazino-methylene)-10,11-ethylenedioxy-20(R,S)-camptothecin (racemic mixture) or "7-(4-methylpiperazino-methylene)-10,11-ethylenedioxy-20(R)-camptothecin (R enantiomer) or "7-(4-methylpiperazino-methylene)-10,11-ethylenedioxy-20(S)-camptothecin (S enantiomer). Such compound as well as related compounds are described, including methods of making, in U.S. Patent Nos. 6,063,923; 5,342,947; 5,559,235; 5,491,237 and pending U.S. patent Application No. 08/977,217 filed November 24, 1997.

Hormones and hormonal analogues are useful compounds for treating cancers in which there is a relationship between the hormone(s) and growth and/or lack of growth of the cancer. Examples of hormones and hormonal analogues useful in cancer treatment include, but are not limited to, adrenocorticosteroids such as prednisone and prednisolone which are useful in the treatment of malignant lymphoma and acute leukemia in children; aminoglutethimide and other aromatase inhibitors such as anastrozole, letrozole, vorazole, and exemestane useful in the treatment of adrenocortical carcinoma and hormone dependent breast carcinoma containing estrogen receptors; progestrins such as megestrol acetate useful in the treatment of hormone dependent breast cancer and endometrial carcinoma; estrogens, androgens, and anti-androgens such as flutamide, nilutamide, bicalutamide, cyproterone acetate and 5 α -reductases such as finasteride and dutasteride, useful in the treatment of prostatic carcinoma and benign prostatic hypertrophy; anti-estrogens such as tamoxifen, toremifene, raloxifene, droloxifene, idoxifene, as well as selective estrogen receptor modulators (SERMS) such those described in U.S. Patent Nos. 5,681,835, 5,877,219, and 6,207,716, useful in the treatment of hormone dependent breast carcinoma and other susceptible cancers; and gonadotropin-releasing hormone (GnRH) and analogues thereof which stimulate the release of leutinizing hormone (LH) and/or follicle stimulating hormone (FSH) for the treatment prostatic carcinoma, for instance, LHRH agonists and antagagonists such as goserelin acetate and luprolide.

Signal transduction pathway inhibitors are those inhibitors, which block or inhibit a chemical process which evokes an intracellular change. As used herein this change is cell proliferation or differentiation. Signal transduction inhibitors useful in the present invention include inhibitors of receptor tyrosine kinases, non-receptor tyrosine kinases, SH2/SH3domain blockers, serine/threonine kinases, phosphotidyl inositol-3 kinases, myo-inositol signaling, and Ras oncogenes.

34

Several protein tyrosine kinases catalyse the phosphorylation of specific tyrosyl residues in various proteins involved in the regulation of cell growth. Such protein tyrosine kinases can be broadly classified as receptor or non-receptor kinases.

Receptor tyrosine kinases are transmembrane proteins having an extracellular ligand binding domain, a transmembrane domain, and a tyrosine kinase domain. Receptor tyrosine kinases are involved in the regulation of cell growth and are generally termed growth factor receptors. Inappropriate or uncontrolled activation of many of these kinases, i.e. aberrant kinase growth factor receptor activity, for example by over-expression or mutation, has been shown to result in uncontrolled cell growth. Accordingly, the aberrant activity of such kinases has been linked to malignant tissue growth. Consequently, inhibitors of such kinases could provide cancer treatment methods. Growth factor receptors include, for example, epidermal growth factor receptor (EGFr), platelet derived growth factor receptor (PDGFr), erbB2, erbB4, vascular endothelial growth factor receptor (VEGFr), tyrosine kinase with immunoglobulin-like and epidermal growth factor homology domains (TIE-2), insulin growth factor -I (IGFI) receptor, macrophage colony stimulating factor (cfms), BTK, ckit, cmet, fibroblast growth factor (FGF) receptors, Trk receptors (TrkA, TrkB, and TrkC), ephrin (eph) receptors, and the RET protooncogene. Several inhibitors of growth receptors are under development and include ligand antagonists, antibodies, tyrosine kinase inhibitors and anti-sense oligonucleotides. Growth factor receptors and agents that inhibit growth factor receptor function are described, for instance, in Kath, John C., Exp. Opin. Ther. Patents (2000) 10(6):803-818; Shawver et al DDT Vol 2, No. 2 February 1997; and Lofts, F. J. et al, "Growth factor receptors as targets", New Molecular Targets for Cancer Chemotherapy, ed. Workman, Paul and Kerr, David, CRC press 1994, London.

Tyrosine kinases, which are not growth factor receptor kinases are termed non-receptor tyrosine kinases. Non-receptor tyrosine kinases for use in the present invention, which are targets or potential targets of anti-cancer drugs, include cSrc, Lck, Fyn, Yes, Jak, cAbl, FAK (Focal adhesion kinase), Brutons tyrosine kinase, and Bcr-Abl. Such non-receptor kinases and agents which inhibit non-receptor tyrosine kinase function are described in Sinh, S. and Corey, S.J., (1999) Journal of Hematotherapy and Stem Cell Research 8 (5): 465 – 80; and Bolen, J.B., Brugge, J.S., (1997) Annual review of Immunology. 15: 371-404.

SH2/SH3 domain blockers are agents that disrupt SH2 or SH3 domain binding in a variety of enzymes or adaptor proteins including, PI3-K p85 subunit,

Src family kinases, adaptor molecules (Shc, Crk, Nck, Grb2) and Ras-GAP. SH2/SH3 domains as targets for anti-cancer drugs are discussed in Smithgall, T.E. (1995), *Journal of Pharmacological and Toxicological Methods*. 34(3) 125-32.

Inhibitors of Serine/Threonine Kinases including MAP kinase cascade blockers which include blockers of Raf kinases (rafk), Mitogen or Extracellular Regulated Kinase (MEKs), and Extracellular Regulated Kinases (ERKs); and Protein kinase C family member blockers including blockers of PKCs (alpha, beta, gamma, epsilon, mu, lambda, iota, zeta). Ikb kinase family (IKKa, IKKb), PKB family kinases, akt kinase family members, and TGF beta receptor kinases. Such Serine/Threonine kinases and inhibitors thereof are described in Yamamoto, T., Taya, S., Kaibuchi, K., (1999), *Journal of Biochemistry*. 126 (5) 799-803; Brodt, P., Samani, A., and Navab, R. (2000), *Biochemical Pharmacology*, 60. 1101-1107; Massague, J., Weis-Garcia, F. (1996) *Cancer Surveys*. 27:41-64; Philip, P.A., and Harris, A.L. (1995), *Cancer Treatment and Research*. 78: 3-27, Lackey, K. et al *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters*, (10), 2000, 223-226; U.S. Patent No. 6,268,391; and Martinez-Iacaci, L., et al, *Int. J. Cancer* (2000), 88(1), 44-52.

Inhibitors of Phosphatidylinositol-3 Kinase family members including blockers of PI3-kinase, ATM, DNA-PK, and Ku may also be useful in the present invention. Such kinases are discussed in Abraham, R.T. (1996), *Current Opinion in Immunology*. 8 (3) 412-8; Canman, C.E., Lim, D.S. (1998), *Oncogene* 17 (25) 3301-3308; Jackson, S.P. (1997), *International Journal of Biochemistry and Cell Biology*. 29 (7):935-8; and Zhong, H. et al, *Cancer res.* (2000) 60(6), 1541-1545.

Also of interest in the present invention are Myo-inositol signaling inhibitors such as phospholipase C blockers and Myo-inositol analogues. Such signal inhibitors are described in Powls, G., and Kozikowski A., (1994) *New Molecular Targets for Cancer Chemotherapy* ed., Paul Workman and David Kerr, CRC press 1994, London.

Another group of signal transduction pathway inhibitors are inhibitors of Ras Oncogene. Such inhibitors include inhibitors of farnesyltransferase, geranyl-geranyl transferase, and CAAX proteases as well as anti-sense oligonucleotides, ribozymes and immunotherapy. Such inhibitors have been shown to block ras activation in cells containing wild type mutant ras, thereby acting as antiproliferation agents. Ras oncogene inhibition is discussed in Scharovsky, O.G., Rozados, V.R., Gervasoni, S.I. Matar, P. (2000), *Journal of Biomedical Science*. 7(4) 292-8; Ashby, M.N. (1998), *Current Opinion in Lipidology*. 9 (2) 99 - 102; and *BioChim. Biophys. Acta*, (1989) 1423(3):19-30.

46

As mentioned above, antibody antagonists to receptor kinase ligand binding may also serve as signal transduction inhibitors. This group of signal transduction pathway inhibitors includes the use of humanized antibodies to the extracellular ligand binding domain of receptor tyrosine kinases. For example Imclone C225 EGFR specific antibody (see Green, M.C. et al, Monoclonal Antibody Therapy for Solid Tumors, Cancer Treat. Rev., (2000), 26(4), 269-286); Herceptin® erbB2 antibody (see Tyrosine Kinase Signalling in Breast cancer:erbB Family Receptor Tyrosine Kinases, Breast cancer Res., 2000, 2(3), 176-183); and 2CB VEGFR2 specific antibody (see Brekken, R.A. et al, Selective Inhibition of VEGFR2 Activity by a monoclonal Anti-VEGF antibody blocks tumor growth in mice, Cancer Res. (2000) 60, 5117-5124).

Non-receptor kinase angiogenesis inhibitors may also be useful in the present invention. Inhibitors of angiogenesis related VEGFR and TIE2 are discussed above in regard to signal transduction inhibitors (both receptors are receptor tyrosine kinases). Angiogenesis in general is linked to erbB2/EGFR signaling since inhibitors of erbB2 and EGFR have been shown to inhibit angiogenesis, primarily VEGF expression. Accordingly, non-receptor tyrosine kinase inhibitors may be used in combination with the compounds of the present invention. For example, anti-VEGF antibodies, which do not recognize VEGFR (the receptor tyrosine kinase), but bind to the ligand; small molecule inhibitors of integrin ($\alpha_v\beta_3$) that will inhibit angiogenesis; endostatin and angiostatin (non-RTK) may also prove useful in combination with the disclosed compounds. (See Bruns CJ et al (2000), Cancer Res., 60: 2926-2935; Schreiber AB, Winkler ME, and Derynck R. (1986), Science, 232: 1250-1253; Yen L et al. (2000), Oncogene 19: 3460-3469).

Agents used in immunotherapeutic regimens may also be useful in combination with the compounds of formula (I). There are a number of immunologic strategies to generate an immune response. These strategies are generally in the realm of tumor vaccinations. The efficacy of immunologic approaches may be greatly enhanced through combined inhibition of signaling pathways using a small molecule inhibitor. Discussion of the immunologic/tumor vaccine approach against erbB2/EGFR are found in Reilly RT et al. (2000), Cancer Res. 60: 3569-3576; and Chen Y, Hu D, Eling DJ, Robbins J, and Kipps TJ. (1998), Cancer Res. 58: 1965-1971.

Agents used in proapoptotic regimens (e.g., bcl-2 antisense oligonucleotides) may also be used in the combination of the present invention. Members of the Bcl-2 family of proteins block apoptosis. Upregulation of bcl-2 has

37

therefore been linked to chemoresistance. Studies have shown that the epidermal growth factor (EGF) stimulates anti-apoptotic members of the bcl-2 family (i.e., mcl-1). Therefore, strategies designed to downregulate the expression of bcl-2 in tumors have demonstrated clinical benefit and are now in Phase II/III trials, namely Genta's G3139 bcl-2 antisense oligonucleotide. Such proapoptotic strategies using the antisense oligonucleotide strategy for bcl-2 are discussed in Water JS et al. (2000), J. Clin. Oncol. 18: 1812-1823; and Kitada S et al. (1994), Antisense Res. Dev. 4: 71-79.

Cell cycle signalling inhibitors inhibit molecules involved in the control of the cell cycle. A family of protein kinases called cyclin dependent kinases (CDKs) and their interaction with a family of proteins termed cyclins controls progression through the eukaryotic cell cycle. The coordinate activation and inactivation of different cyclin/CDK complexes is necessary for normal progression through the cell cycle. Several inhibitors of cell cycle signalling are under development. For instance, examples of cyclin dependent kinases, including CDK2, CDK4, and CDK6 and inhibitors for the same are described in, for instance, Rosania et al, Exp. Opin. Ther. Patents (2000) 10(2):215-230.

In one embodiment, the cancer treatment method of the claimed invention includes the co-administration a compound of formula I and/or a pharmaceutically acceptable salt, hydrate, solvate or pro-drug thereof and at least one anti-neoplastic agent, such as one selected from the group consisting of anti-microtubule agents, platinum coordination complexes, alkylating agents, antibiotic agents, topoisomerase II inhibitors, antimetabolites, topoisomerase I inhibitors, hormones and hormonal analogues, signal transduction pathway inhibitors, non-receptor tyrosine kinase angiogenesis inhibitors, immunotherapeutic agents, proapoptotic agents, and cell cycle signaling inhibitors.

Because the pharmaceutically active compounds of the present invention are active as AKT inhibitors they exhibit therapeutic utility in treating cancer and arthritis.

Suitably, the present invention relates to a method for treating or lessening the severity of a cancer selected from brain (gliomas), glioblastomas, leukemias, Bannayan-Zonana syndrome, Cowden disease, Lhermitte-Duclos disease, breast, colon, head and neck, kidney, lung, liver, melanoma, ovarian, pancreatic, prostate, sarcoma and thyroid.

Suitably, the present invention relates to a method for treating or lessening the severity of a cancer selected from breast, ovarian, pancreatic and prostate.

38

Isolation and Purification of His-tagged AKT1 (aa 136-480)

Insect cells expressing His-tagged AKT1 (aa 136-480) were lysed in 25 mM HEPES, 100 mM NaCl, 20 mM imidazole; pH 7.5 using a polytron (5 mLs lysis buffer/g cells). Cell debris was removed by centrifuging at 28,000 x g for 30 minutes. The supernatant was filtered through a 4.5-micron filter then loaded onto a nickel-chelating column pre-equilibrated with lysis buffer. The column was washed with 5 column volumes (CV) of lysis buffer then with 5 CV of 20% buffer B, where buffer B is 25 mM HEPES, 100 mM NaCl, 300 mM imidazole; pH 7.5. His-tagged AKT1 (aa 136-480) was eluted with a 20-100% linear gradient of buffer B over 10 CV. His-tagged AKT1 (136-480) eluting fractions were pooled and diluted 3-fold with buffer C, where buffer C is 25 mM HEPES, pH 7.5. The sample was then chromatographed over a Q-Sepharose HP column pre-equilibrated with buffer C. The column was washed with 5 CV of buffer C then step eluted with 5 CV 10%D, 5 CV 20% D, 5 CV 30% D, 5 CV 50% D and 5 CV of 100% D; where buffer D is 25 mM HEPES, 1000 mM NaCl; pH 7.5. His-tagged AKT1 (aa 136-480) containing fractions were pooled and concentrated in a 10-kDa molecular weight cutoff concentrator. His-tagged AKT1 (aa 136-480) was chromatographed over a Superdex 75 gel filtration column pre-equilibrated with 25 mM HEPES, 200 mM NaCl, 1 mM DTT; pH 7.5. His-tagged AKT1 (aa 136-480) fractions were examined using SDS-PAGE and mass spec. The protein was pooled, concentrated and frozen at -80C.

His-tagged AKT2 (aa 138-481) and His-tagged AKT3 (aa 135-479) were isolated and purified in a similar fashion.

His-tagged AKT Enzyme Assay

Compounds of the present invention were tested for AKT 1, 2, and 3 protein serine kinase inhibitory activity in substrate phosphorylation assays. This assay examines the ability of small molecule organic compounds to inhibit the serine phosphorylation of a peptide substrate. The substrate phosphorylation assays use the catalytic domains of AKT 1, 2, or 3. AKT 1, 2 and 3 are also commercially available from Upstate USA, Inc. The method measures the ability of the isolated enzyme to catalyze the transfer of the gamma-phosphate from ATP onto the serine residue of a biotinylated synthetic peptide SEQ. ID NO: 1 (Biotin-ahx-

30

ARKRERAYSGHHA-amide). Substrate phosphorylation was detected by the following procedure:

Assays were performed in 384well U-bottom white plates. 10 nM activated AKT enzyme was incubated for 40 minutes at room temperature in an assay volume of 20ul containing 50mM MOPS, pH 7.5, 20mM MgCl₂, 4uM ATP, 8uM peptide, 0.04 uCi [g-³³P] ATP/well, 1 mM CHAPS, 2 mM DTT, and 1ul of test compound in 100% DMSO. The reaction was stopped by the addition of 50 ul SPA bead mix (Dulbecco's PBS without Mg²⁺ and Ca²⁺, 0.1% Triton X-100, 5mM EDTA, 50uM ATP, 2.5mg/ml Streptavidin-coated SPA beads.) The plate was sealed, the beads were allowed to settle overnight, and then the plate was counted in a Packard Topcount Microplate Scintillation Counter (Packard Instrument Co., Meriden, CT).

The data for dose responses were plotted as % Control calculated with the data reduction formula $100 \cdot (U1 - C2) / (C1 - C2)$ versus concentration of compound where U is the unknown value, C1 is the average control value obtained for DMSO, and C2 is the average control value obtained for 0.1M EDTA. Data are fitted to the curve described by: $y = (V_{max} \cdot x) / (K + x)$ where Vmax is the upper asymptote and K is the IC50.

Cloning of full-length human (FL) AKT1:

Full-length human AKT1 gene was amplified by PCR from a plasmid containing myristylated-AKT1-ER (gift from Robert T. Abraham, Duke University under MTA, described in Klippel et al. in Molecular and Cellular Biology 1998 Volume 18 p.5699) using the 5' primer: SEQ. ID NO: 2

5' TATATAGGATCCATGAGCGACGTGGC 3' and the 3' primer: SEQ. ID NO: 3 AAATTTCGAGTCAGGCCGTGCTGCTGG 3'. The 5' primer included a BamHI site and the 3' primer included an XhoI site for cloning purposes. The resultant PCR product was subcloned in pcDNA3 as a BamHI / XhoI fragment. A mutation in the sequence (TGC) coding for a Cysteine²⁵ was converted to the wild-type AKT1 sequence (CGC) coding for an Arginine²⁵ by site-directed mutagenesis using the QuikChange[®] Site Directed Mutagenesis Kit (Stratagene). The AKT1 mutagenic primer: SEQ. ID NO: 4 5' ACCTGGCGGCCACGCTACTTCCTCC and selection primer: SEQ. ID NO: 5 5' CTCGAGCATGCAACTAGAGGGCC (designed to destroy an XbaI site in the multiple cloning site of pcDNA3) were used according to

manufacturer's suggestions. For expression/purification purposes, AKT1 was isolated as a BamHI / XhoI fragment and cloned into the BamHI / XhoI sites of pFastbacHTb (Invitrogen).

Expression of FL human AKT1:

Expression was done using the BAC-to-BAC Baculovirus Expression System from Invitrogen (catalog # 10359-016). Briefly 1) the cDNA was transferred from the FastBac vector into bacmid DNA, 2) the bacmid DNA was isolated and used to transfect Sf9 insect cells, 3) the virus was produced in Sf9 cells, 4) T. ni cells were infected with this virus and sent for purification.

Purification of FL human AKT1:

For the purification of full-length AKT1, 130 g sf9 cells (batch # 41646W02) were resuspended in lysis buffer (buffer A, 1L, pH 7.5) containing 25 mM HEPES, 100 mM NaCl, and 20 mM imidazole. The cell lysis was carried out by Avestin (2 passes at 15K-20K psi). Cell debris was removed by centrifuging at 16K rpm for 1 hour and the supernatant was batch bound to 10 ml Nickel Sepharose HP beads at 4 C for over night. The beads were then transferred to column and the bound material was eluted with buffer B (25 mM HEPES, 100 mM NaCl, 300 mM imidazole, pH 7.5). AKT eluting fractions were pooled and diluted 3 fold using buffer C (25 mM HEPES, 5 mM DTT; pH 7.5). The sample was filtered and chromatographed over a 10 mL Q-HP column pre-equilibrated with buffer C at 2 mL/min.

The Q-HP column was washed with 3 column volume (CV) of buffer C, then step eluted with 5 CV 10% D, 5 CV 20% D, 5 CV 30% D, 5 CV 50% D and 5 CV of 100% D; where buffer D is 25 mM HEPES, 1000 mM NaCl, 5 mM DTT; pH 7.5. 5 mL fractions collected. AKT containing fractions were pooled and concentrated to 5 ml. The protein was next loaded to a 120 ml Superdex 75 sizing column that was pre-equilibrated with 25 mM HEPES, 200 mM NaCl, 5 mM DTT; pH 7.5. 2.5 mL fractions were collected.

AKT 1 eluting fractions were pooled, aliquoted (1 ml) and stored at -80C. Mass spec and SDS-PAGE analysis were used to confirm purity and identity of the purified full-length AKT1.

Full-length (FL) AKT2 and (FL) AKT3 were isolated and purified in a similar fashion.

Full-Length AKT Enzyme Assay

Compounds of the present invention were tested for AKT 1, 2, and 3 protein serine kinase inhibitory activity in substrate phosphorylation assays. This assay examines the ability of small molecule organic compounds to inhibit the serine phosphorylation of a peptide substrate. The substrate phosphorylation assays use the catalytic domains of AKT 1, 2, or 3. The method measures the ability of the isolated enzyme to catalyze the transfer of the gamma-phosphate from ATP onto the serine residue of a biotinylated synthetic peptide SEQ. ID NO: 1 (Biotin-ahx-ARKRERAYSFGHHA-amide). Substrate phosphorylation was detected by the following procedure.

Assays were performed in 384well U-bottom white plates. 10 nM activated AKT enzyme was incubated for 40 minutes at room temperature in an assay volume of 20ul containing 50mM MOPS, pH 7.5, 20mM MgCl₂, 4uM ATP, 8uM peptide, 0.04 uCi [g-33P] ATP/well, 1 mM CHAPS, 2 mM DTT, and 1ul of test compound in 100% DMSO. The reaction was stopped by the addition of 50 ul SPA bead mix (Dulbecco's PBS without Mg²⁺ and Ca²⁺, 0.1% Triton X-100, 5mM EDTA, 50uM ATP, 2.5mg/ml Streptavidin-coated SPA beads.) The plate was sealed, the beads were allowed to settle overnight, and then the plate was counted in a Packard Topcount Microplate Scintillation Counter (Packard Instrument Co., Meriden, CT). The data for dose responses were plotted as % Control calculated with the data reduction formula $100 \cdot (U1 - C2) / (C1 - C2)$ versus concentration of compound where U is the unknown value, C1 is the average control value obtained for DMSO, and C2 is the average control value obtained for 0.1M EDTA. Data are fitted to the curve described by: $y = (V_{max} \cdot x) / (K + x)$ where Vmax is the upper asymptote and K is the IC50.

u2

After several trials, the compound of Example 1 demonstrated an average IC₅₀ (uM) activity of: 0.002 uM, FL AKT1; 0.013 uM, FL AKT2; and 0.009 uM, FL AKT3 in the above full-Length AKT enzyme assay.

Activity against tumor cell lines and a normal cell line and the solubilities of the compounds of Examples 1 to 10 of this invention were compared to what is considered to be the most structurally related compounds prepared in International Application No. PCT/US2004/024340. Specifically, the compound of Example 140 in International Application No. PCT/US2004/024340 (compound 4-(1-ethyl-7-[[3-(4-morpholinyl)propyl]oxy]-4-phenyl-1H-imidazo[4,5-c]pyridin-2-yl)-1,2,5-oxadiazol-3-amine trifluoroacetate, hereinafter Compound R), the compound of Example 151 in International Application No. PCT/US2004/024340 (compound 1-[[2-(4-amino-1,2,5-oxadiazol-3-yl)-1-ethyl-4-phenyl-1H-imidazo[4,5-c]pyridin-7-yl]oxy]-3-(4-morpholinyl)-2-propanol trifluoroacetate, hereinafter Compound S), the compound of Example 152 in International Application No. PCT/US2004/024340 (compound 4-(1-ethyl-7-[[2-(4-morpholinyl)ethyl]oxy]-4-phenyl-1H-imidazo[4,5-c]pyridin-2-yl)-1,2,5-oxadiazol-3-amine trifluoroacetate, hereinafter Compound T), the compound of Example 17 in International Application No. PCT/US2004/024340 (compound 4-[1-ethyl-7-(piperidin-4-yloxy)-1H-imidazo[4,5-c]pyridine-2-yl]-furan-3-ylamine trifluoroacetate, hereinafter Compound U), the compound of Example 127 in International Application No. PCT/US2004/024340 (compound: 4-(1-ethyl-4-phenyl-7-[(3-piperidinylmethyl)oxy]-1H-imidazo[4,5-c]pyridin-2-yl)-1,2,5-oxadiazol-3-amine trifluoroacetate, hereinafter Compound V), the compound of Example 215 in International Application No. PCT/US2004/024340 (compound 4-[7-[(4-aminobutyl)oxy]-2-(4-amino-1,2,5-oxadiazol-3-yl)-1-ethyl-1H-imidazo[4,5-c]pyridin-4-yl]-2-methyl-3-butyn-2-ol trifluoroacetate, hereinafter Compound W), the compound of Example 222 in International Application No. PCT/US2004/024340 (compound 4-[2-(4-amino-1,2,5-oxadiazol-3-yl)-7-[(3-aminopropyl)oxy]-1-ethyl-1H-imidazo[4,5-c]pyridin-4-yl]-2-methyl-3-butyn-2-ol trifluoroacetate, hereinafter Compound X), the compound of Example 223 in International Application No. PCT/US2004/024340 (compound: 4-[2-(4-amino-1,2,5-oxadiazol-3-yl)-1-ethyl-7-[(4-piperidinylmethyl)oxy]-1H-imidazo[4,5-c]pyridin-4-yl]-2-methyl-3-butyn-2-ol trifluoroacetate, hereinafter Compound Y) and the compound of Example 265 in International Application No. PCT/US2004/024340 (compound: 4-[2-(4-amino-1,2,5-oxadiazol-3-yl)-1-ethyl-7-[[3-[(2-[4-(methyloxy)phenyl]ethyl)amino]propyl]oxy]-1H-imidazo[4,5-c]pyridin-4-yl]-2-methyl-3-butyn-2-ol, hereinafter Compound Z).

Compounds R, S, T, U, V, W, X, Y and Z can be prepared as described in International Application No. PCT/US2004/024340.

V3

Cellular Assays: Methylene Blue Growth Inhibition assay

Tumor cell lines used in this assay were BT474 (human breast carcinoma) and LNCaP (lymph node metastasis of prostate cancer). HFF (normal human foreskin fibroblast) was also included. All cell lines were cultured in RPMI 1640 media (Invitrogen Corporation 22400-071) containing 10% Fetal Bovine Serum (FBS) at 37°C in a humidified 5% CO₂ incubator. Cells were harvested using trypsin/EDTA, counted using a hemacytometer and plated in 96-well tissue culture plates (Costar 35-3075), 100 uL per well, at the following densities: BT474 15,000 cells/well, LNCaP 5,000 cells/well and HFF 5,000 cells/well. 10mM stocks of compounds in DMSO were serially diluted in DMSO through nine 3-fold dilutions in 96-well plates (Costar Corning 3363), and stored at -80C. The next day, compound dilutions were thawed and 4 uL of each transferred to 662 uL RPMI 1640 + 100 ug/mL gentamicin, resulting in twice the final required test concentrations. 100 uL of compounds diluted in RPMI 1640 were added to all cell lines. The final concentration of DMSO in all wells, including controls, was 0.3%. Cells were incubated at 37C, 5% CO₂ for 3 days. Medium was removed by aspiration. Cell biomass was estimated by staining cells with 80 uL methylene blue (Sigma M9140, 0.5% in 50:50 ethanol:water), and incubating at room temperature for 1 hour. Stain was aspirated and the plates rinsed by immersion in water, then air-dried. Stain was released from cells by adding 100 uL of solubilizing solution (1% N-lauroyl sarcosine, sodium salt, Sigma L5125, in PBS) and incubating at room temperature for at least 30 minutes. Plates were shaken and the optical density at 620 nm was measured on a microplate reader. Percent inhibition of cell growth was calculated relative to vehicle-treated control wells. Concentration of compound that inhibits 50% of cell growth (IC₅₀) was interpolated using non-linear regression (Levenberg-Marquadt) and the equation, $y = V_{max} * (1 - (x^n / (K^n + x^n))) + Y_2$. [Ref: Mager, M. E. (1972) Data Analysis in Biochemistry and Biophysics. New York: Academic Press]

Examples	Methylene Blue Growth Inhibition Assay, IC50 (uM)			Solubility in 50 mM phosphate buffer at pH 7.4 (uM)
	BT474 (human breast carcinoma)	LNCaP (lymph node metastasis of prostate cancer)	HFF (normal human foreskin fibroblast)	
Compound R	17.71	1.42	19.9	0
Compound S	>30	7.77	>30	Not tested
Compound T	>30	>30	18.9	0
Compound U	4.51		6.47	200
Compound V	1.870	1.640	0.57	9
Compound W	8.211	0.836	22.07	210
Compound X	0.241	0.258	18.147	173
Compound Y	2.593	0.217	>30	159
Compound Z	0.266	0.048	5.507	37
Example 1	0.484	0.016	>20	210
Example 2	1.00	0.189	>30	188
Example 3	0.006	0.004	>30	110
Example 4	0.037	0.015	>25	154
Example 5	1.032	0.459	20.1	83
Example 6	0.324	0.053	16.8	44
Example 7	0.186	0.083	>30	23
Example 8	0.665	0.272	>30	34
Example 9	0.080	0.049	9.39	129
Example 10	No tested	Not tested	Not tested	6

The pharmaceutically active compounds within the scope of this invention are useful as AKT inhibitors in mammals, particularly humans, in need thereof.

The present invention therefore provides a method of treating cancer, arthritis and other conditions requiring AKT inhibition, which comprises administering an effective amount of a compound of Formula (I) or a pharmaceutically acceptable salt, hydrate, solvate or pro-drug thereof. The compounds of Formula (I) also provide for a method of treating the above indicated disease states because of their demonstrated ability to act as Akt inhibitors. The drug may be administered to a patient in need thereof by any conventional route of

WS

administration, including, but not limited to, intravenous, intramuscular, oral, subcutaneous, intradermal, and parenteral.

The pharmaceutically active compounds of the present invention are incorporated into convenient dosage forms such as capsules, tablets, or injectable preparations. Solid or liquid pharmaceutical carriers are employed. Solid carriers include, starch, lactose, calcium sulfate dihydrate, terra alba, sucrose, talc, gelatin, agar, pectin, acacia, magnesium stearate, and stearic acid. Liquid carriers include syrup, peanut oil, olive oil, saline, and water. Similarly, the carrier may include any prolonged release material, such as glyceryl monostearate or glyceryl distearate, alone or with a wax. The amount of solid carrier varies widely but, preferably, will be from about 25 mg to about 1 g per dosage unit. When a liquid carrier is used, the preparation will, for example, be in the form of a syrup, elixir, emulsion, soft gelatin capsule, sterile injectable liquid such as an ampoule, or an aqueous or nonaqueous liquid suspension.

The pharmaceutical preparations are made following conventional techniques of a pharmaceutical chemist involving mixing, granulating, and compressing, when necessary, for tablet forms, or mixing, filling and dissolving the ingredients, as appropriate, to give the desired oral or parenteral products.

Doses of the presently invented pharmaceutically active compounds in a pharmaceutical dosage unit as described above will be an efficacious, nontoxic quantity preferably selected from the range of 0.001 - 100 mg/kg of active compound, preferably 0.001 - 50 mg/kg. When treating a human patient in need of an Akt inhibitor, the selected dose is administered preferably from 1-6 times daily, orally or parenterally. Preferred forms of parenteral administration include topically, rectally, transdermally, by injection and continuously by infusion. Oral and/or parenteral dosage units for human administration preferably contain from 0.05 to 3500 mg of active compound.

Optimal dosages to be administered may be readily determined by those skilled in the art, and will vary with the particular Akt inhibitor in use, the strength of the preparation, the mode of administration, and the advancement of the disease condition. Additional factors depending on the particular patient being treated will result in a need to adjust dosages, including patient age, weight, diet, and time of administration.

The method of this invention of inducing Akt inhibitory activity in mammals, including humans, comprises administering to a subject in need of such activity an effective Akt inhibiting amount of a pharmaceutically active compound of the present invention.

22b

The invention also provides for the use of a compound of Formula (I) in the manufacture of a medicament for use as an Akt inhibitor.

The invention also provides for the use of a compound of Formula (I) in the manufacture of a medicament for use in therapy.

The invention also provides for the use of a compound of Formula (I) in the manufacture of a medicament for use in treating cancer.

The invention also provides for the use of a compound of Formula (I) in the manufacture of a medicament for use in treating arthritis.

The invention also provides for a pharmaceutical composition for use as an Akt inhibitor which comprises a compound of Formula (I) and a pharmaceutically acceptable carrier.

The invention also provides for a pharmaceutical composition for use in the treatment of cancer which comprises a compound of Formula (I) and a pharmaceutically acceptable carrier.

The invention also provides for a pharmaceutical composition for use in treating arthritis which comprises a compound of Formula (I) and a pharmaceutically acceptable carrier.

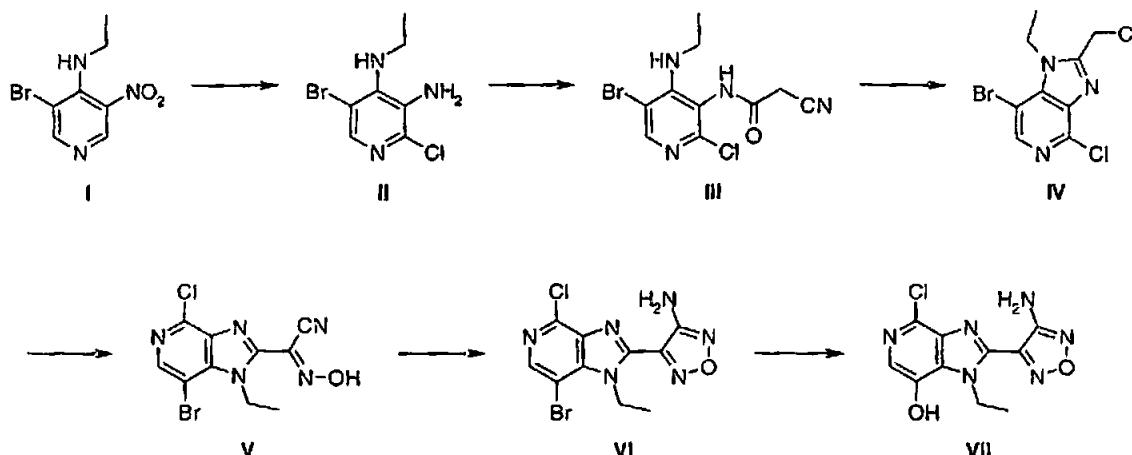
No unacceptable toxicological effects are expected when compounds of the invention are administered in accordance with the present invention.

In addition, the pharmaceutically active compounds of the present invention can be co-administered with further active ingredients, such as other compounds known to treat cancer or arthritis, or compounds known to have utility when used in combination with an Akt inhibitor.

Without further elaboration, it is believed that one skilled in the art can, using the preceding description, utilize the present invention to its fullest extent. The following Examples are, therefore, to be construed as merely illustrative and not a limitation of the scope of the present invention in any way.

Experimental Details

The compounds of Examples 1 to 10 are readily made according to Scheme 1 or by analogous methods.

Intermediate VIIPreparation of 2-(4-amino-1,2,5-oxadiazol-3-yl)-4-chloro-1-ethyl-1H-imidazo[4,5-c]pyridin-7-ola) 5-Bromo-2-chloro-N⁴-ethyl-pyridine-3,4-diamine (II)

3-Bromo-5-nitropyridin-4-yl)amine (I, 700 g, 2.86 mol) was dissolved in conc HCl (7L) and heated to 85 °C. Tin (II) chloride (1626 g, 8.58 mol) was added in portions. The reaction was heated at reflux for 1 h and then allowed to cool to ambient temperature overnight. The resulting yellow precipitate was collected by filtration, suspended in ice water (5L) and the mixture was adjusted to pH 12 with 12N NaOH. The resulting solution was extracted with CH₂Cl₂ (2 x 4 L) and the combined organic extracts were dried over Na₂SO₄. The solvent was removed under reduced pressure to give 550 g (77% yield) of the desired compound (II). This was used in the next step without further purification. MS (ES⁺) m/z 250(M+H)⁺.

b) N-[5-Bromo-2-chloro-4-(ethylamino)-3-pyridinyl]-2-cyanoacetamide (III)

To a solution of 5-bromo-2-chloro-N⁴-ethyl-pyridine-3,4-diamine (II, 550 g, 2.21 mol) in CH₂Cl₂ (5.5 L) was added 1-(3-dimethylaminopropyl)-3-ethylcarbodiimide hydrochloride (634.5 g, 3.31 mol), cyanoacetic acid (282 g, 3.31 mol) and N-methylmorpholine (897 g, 8.84 mol). A significant exotherm (~20 °C) was observed upon the addition of the 1-(3-dimethylaminopropyl)-3-

ethylcarbodiimide hydrochloride and cyanoacetic acid. After stirring at ambient temperature for 2 h, the solvent was removed under reduced pressure. The resulting residue was extracted with warm EtOAc (40 °C, 20 L) and water (40 °C, 8 L). The aqueous layer was washed with addition EtOAc (10 L) and the combined organic extracts were washed with water (10 L). The organic extract was concentrated under reduced pressure to a slurry and filtered. The solid was washed with EtOAc and dried to give 534 g (76% yield) of the desired compound (III) as a white crystalline solid. This was used in the next step without further purification. MS (ES+) m/z 317(M+H)⁺.

c) (7-Bromo-4-chloro-1-ethyl-1H-imidazo[4,5-c]pyridin-2-yl)-hydroxyimino-acetonitrile (V)

A solution of N-[5-bromo-2-chloro-4-(ethylamino)-3-pyridinyl]-2-cyanoacetamide III, (458 g, 1.45 mol) in glacial acetic acid (4.6 L) was heated to 100 °C. After 3 h, LC/MS analysis indicated that the conversion to (7-bromo-4-chloro-1-ethyl-1H-imidazo[4,5-c]pyridin-2-yl)acetonitrile (IV) was completed. After allowing to cool to ambient temperature, the reaction was charged with sodium nitrate (230 g, 3.34 mol) in portions. Vigorous gas evolution and foaming was observed together with a ~10 °C exotherm. After stirring at ambient temperature for 16 h, the solid was collected by filtration and dried to a constant weight to give 545 g of the desired product (V) as a light yellow solid. This was used in the next step without further purification. MS (ES+) m/z 328(M+H)⁺.

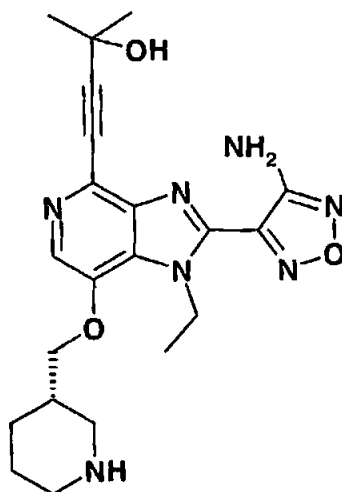
d) 4-(7-Bromo-4-chloro-1-ethyl-1H-imidazo[4,5-c]pyridin-2-yl)-1,2,5-oxadiazol-3-amine (VI)

To a mixture of (7-bromo-4-chloro-1-ethyl-1H-imidazo[4,5-c]pyridin-2-yl)-hydroxyimino-acetonitrile (V, 545 g, 1.45 mol) in dioxane (5 L) was added triethylamine (1 L) and hydroxylamine (143 g, 55% in water). The reaction was heated at reflux for 6 h. After cooling the reaction to ambient temperature, the mixture was filtered and the filtrate concentrated under reduced pressure to give a brown solid. The solid was suspended in methanol (1 L) and the suspension was stirred at 65 °C for 0.5 h. The solid was collected by filtration and dried to give 321 g (70% yield) of the desired compound (VI). This was used in the next step without further purification. MS (ES+) m/z 343(M+H)⁺.

JH

e) 2-(4-Amino-1,2,5-oxadiazol-3-yl)-4-chloro-1-ethyl-1H-imidazo[4,5-c]pyridin-7-ol
(VII)

A suspension of 4-(7-bromo-4-chloro-1-ethyl-1H-imidazo[4,5-c]pyridin-2-yl)-1,2,5-oxadiazol-3-amine (VI, 50 g, 0.14 mol) in THF (1 L) was cooled in a dry-ice/acetone bath until the internal temperature was below -75 °C. Isopropyl magnesium chloride (225 mL, 2M in ether, 0.45 mol) was added slowly at a rate to keep the reaction temperature below -70 °C. After an additional 10 min., trimethyl borate (54 mL, 0.48 mol) was added and the reaction was maintained in the dry-ice acetone bath for 1 h. The bath was removed and the reaction was allowed to reach ambient temperature. After 18 h., the resultant yellow suspension was cooled to 0 °C. A solution of 30% hydrogen peroxide (250 mL) and 3N NaOH (100 mL) was added at a rate to keep the reaction temperature below 40 °C. The ice bath was then removed and the reaction was stirred vigorously at ambient temperature for 2 h. The bulk of the organic solvent was removed under reduced pressure and the aqueous layer was acidified to pH 3 with 1N HCl. After stirring the resulting suspension for 30 min., ethyl acetate (200 mL) was added. After stirring for another 1 h, the solid was collected by filtration. The filter cake was washed sequentially with water, ethyl acetate, toluene and ethyl acetate. The solid was dried to a constant weight to give 35.9 g (88% yield) of the desired compound (VII) as a pale yellow solid. This was used without further purification. MS (ES+) m/z 281.3 (M+H)⁺.

Example 1

Preparation of 4-(2-(4-amino-1,2,5-oxadiazol-3-yl)-1-ethyl-7-((3S)-3-piperidinylmethoxy)-1H-imidazo[4,5-c]pyridin-4-yl)-2-methyl-3-butyn-2-ol

a) 1,1-Dimethylethyl (3S)-3-(bromomethyl)-1-piperidinecarboxylate

To a solution of 1,1-dimethylethyl (3S)-3-(hydroxymethyl)-1-piperidinecarboxylate (30.0 g, 139 mmol) and carbon tetrabromide (72.0 g, 217 mmol) in methylene chloride (150 mL) was added dropwise a solution of triphenyl phosphine (42.4 g, 162 mmol) in methylene chloride (150 mL). An ice-bath was used to maintain an internal temperature between 20 and 25 °C during the addition. After stirring the mixture at ambient temperature for 1 h, cyclohexane (500 mL) was added. Approximately one-half of the solvent was removed under reduced pressure. The remaining solution was cooled in an ice bath and the resulting precipitate was removed by filtration. The filtrate was concentrated under reduced pressure and the residue subjected to flash chromatography (0% to 25% ethyl acetate/hexanes, silica gel) to give 35.1 g (91 % yield) of the desired product as a solid. MS (ES+) m/z 278 (M+H)⁺.

b) 1,1-Dimethylethyl 3-(((2-(4-amino-1,2,5-oxadiazol-3-yl)-4-chloro-1-ethyl-1H-imidazo[4,5-c]pyridin-7-yl)oxy)methyl)-1-piperidinecarboxylate

A mixture consisting of the compound of intermediate VII (25.0 g, 89.1 mmol), cesium carbonate (41.0 g, 126 mmol) and the compound of Example 1(a)

51

(35.0 g, 126 mmol) in DMF (200 mL) was stirred at 40 °C for 8 h and then at 35 °C for 18 h. The mixture was poured into rapidly stirring ice water (800 ml). After 10 min., ethyl acetate (300 mL) was added and the stirring continued for an additional 20 min. The solid was collected by filtration, washed with ethyl acetate (50 mL) and dried to give 36 g (85% yield) of the desired compound. MS (ES+) m/z 478 (M+H)⁺.

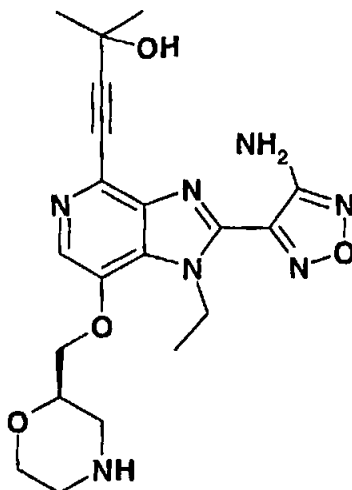
c) 1,1-Dimethylethyl 3-({[2-(4-amino-1,2,5-oxadiazol-3-yl)-1-ethyl-4-(3-hydroxy-3-methyl-1-butyn-1-yl)-1H-imidazo[4,5-c]pyridin-7-yl]oxy)methyl}-1-piperidinecarboxylate

Two thick-walled pressure vessels were each charged with the compound of Example 1(b) (18 g, 37.7 mmol), 2-methyl-3-butyn-2-ol (8.0 mL, 82.5 mmol), (Ph₃P)Pd (0.5 g, 0.43 mmol), Zn dust (0.5 g., 7.4 mmol), NaI (1.1 g, 7.4 mmol), DBU (8 mL, 53.5 mmol), triethylamine (7.5 mL, 54.5 mmol) and DMSO (150 mL). Both vessels were purged with argon for 10 min then sealed and heated at 80 °C for 4 h. The mixture from one reaction vessel was poured into rapidly stirring ice water (1000 mL) and to the resulting mixture was added the contents of the remaining reaction vessel. After 10 min., ethyl acetate (300 mL) was added and stirring continued for an additional 20 min. The solid was collected by filtration, washed with ethyl acetate (50 mL) and dried to give 35.5 g (90% yield) of the desired compound. MS (ES+) m/z 526 (M+H)⁺.

d) 4-{2-(4-Amino-1,2,5-oxadiazol-3-yl)-1-ethyl-7-[(3-piperidinylmethyl)oxy]-1H-imidazo[4,5-c]pyridin-4-yl}-2-methyl-3-butyn-2-ol

The compound of Example 1(c) (35.0 g, 66.6 mmol) and TFA (350 mL of a 20% solution in methylene chloride, 808 mmol) was stirred at ambient temperature for 2.5 h. The solution was poured slowly into rapidly stirring mixture of water, NaOH (36 g, 900 mmol), ethyl acetate (200 mL) and THF (1000 mL). The organic layer was separated and the aqueous layer was extracted with additional ethyl acetate/THF (1:5 v/v, 150 mL). The combined organic extract was washed with sat. NaCl, dried over Na₂SO₄. The solvent was removed under vacuum and the resulting solid was recrystallized from hot ethanol (1200 mL) to give 26.3 g (93% yield) of the title compound as a white crystalline solid. MS (ES+) m/z 426 (M+H)⁺.

52

Example 2

Preparation of 4-(2-(4-amino-1,2,5-oxadiazol-3-yl)-1-ethyl-7-(((2R)-2-morpholinylmethyl)oxy)-1H-imidazo[4,5-c]pyridin-4-yl)-2-methyl-3-butyn-2-ol dihydrochloric acid salt

a) 1,1-Dimethylethyl 2-(hydroxymethyl)-4-morpholinecarboxylate

A solution of 4-(((1,1-dimethylethyl)oxy)carbonyl)-2-morpholinecarboxylic acid (2.0 g, 21.6 mmol) in THF (45 mL) was cooled to 0 °C. A solution of borane (39 mL, 39.0 mmol, 1M in THF) was added over 25 min via addition funnel. After warming to RT, the reaction was quenched by dropwise addition of methanol/acetic acid (18 mL, 9:1 v/v). The solvent was removed under reduced pressure and the residue partitioned between ethyl acetate and 1N HCl. The aqueous layer was extracted with ethyl acetate and combined extracts were washed with water, 1N NaOH, water, brine and dried over sodium sulfate. Removal of the solvent under reduced pressure afforded 1.83 g (97%) of the desired material. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ ppm 1.49 (s, 9 H) 2.30 (br d, J=11.37 Hz, 1H) 2.69 - 2.79 (m, J=9.51, 6.41, 3.28, 3.28 Hz, 1 H) 2.84 (ddd, J=13.77, 10.86, 3.16 Hz, 2 H) 3.27 - 3.38 (m, 1 H) 3.47 (br s, 1H) 3.63 - 3.75 (m, 2 H) 4.10 - 4.19 (m, 1 H) 4.27 (br s, 1H).

b) 1,1-dimethylethyl 2-(((phenylcarbonyl)oxy)methyl)-4-morpholinecarboxylate (enantiomer E2)

53

To a stirred solution of 1,1-dimethylethyl 2-(hydroxymethyl)-4-morpholinecarboxylate (4.467 g, 21 mmol) in methylene chloride (58 mL) with pyridine (12 mL) and catalytic DMAP at 0 °C was added dropwise benzoyl chloride (3.18 g, 23 mmol). The reaction mixture was allowed to warm to room temperature and stirred 18 h. The reaction mixture was partitioned between 1 N HCl and methylene chloride. The aqueous layer washed with methylene chloride and the combined organic extract was washed with water then brine and dried over sodium sulfate. The solvent was removed under reduced pressure and the residue chromatographed on silica eluted with hexane / ethyl acetate to give 5.80 g (88%) of the racemic compound. This was resolved by chiral HPLC on a Chiralcel OD-H column (21 x 250 mm; 100 mg per injection) using a mobile phase of 90:10-heptane : ethanol to give the first eluting enantiomer E1 (2.85 g ; > 99 % ee) and the second eluting enantiomer E2 (2.8 g; > 99 % ee) MS (ES+) m/z 322 (M+H)⁺.

c) 1,1-Dimethylethyl 2-(hydroxymethyl)-4-morpholinecarboxylate (enantiomer E2)

A solution of 1,1-dimethylethyl 2-([(phenylcarbonyl)oxy]methyl)-4-morpholinecarboxylate (enantiomer E2) (1.08 g, 3.36 mmol) in methanol (30 mL) with 6N NaOH (5.6 mL, 33.6 mmol) was stirred at room temperature for 2 h. The methanol was removed under reduced pressure and the resulting mixture was partitioned between ethyl acetate and water. The organic extract was washed with brine, dried over sodium sulfate and solvent removed under reduced pressure to give the desired compound. ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ ppm 1.41 (s, 5 H) 3.25 - 3.37 (m, 22 H) 3.39 - 3.46 (m, 7 H) 3.70 (d, *J*=12.88 Hz, 6 H) 3.76 - 3.88 (m, 10 H) 4.78 (t, *J*=5.68 Hz, 5 H)

d) 1,1-dimethylethyl-2-(bromomethyl)-4-morpholinecarboxylate (enantiomer E2)

To a solution of the compound of Example 2(c) (0.67 g, 3.1 mmol) in dichloromethane (35 mL) at -20 °C was added CBr₄ (2.06 g, 6.17 mmol) followed by dropwise addition of a solution of PPh₃ (1.70 g, 6.48 mmol) in dichloromethane (25 mL). The reaction mixture was held at -15 °C for 18 h then stirred at room temperature for 1.5 h. The solvent was removed under reduced pressure and the residue purified by flash chromatography (silica gel, EtOAc/hexanes) gave 0.55 g (63%) of product that was used in the next step.

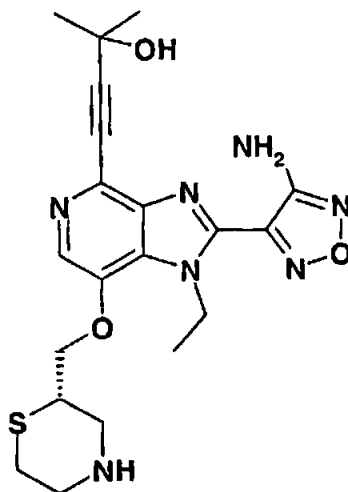
e) 1,1-Dimethylethyl-2-([(2-(4-amino-1,2,5-oxadiazol-3-yl)-4-chloro-1-ethyl-1*H*-imidazo[4,5-*c*]pyridin-7-yl]oxy)methyl)-4-morpholinecarboxylate (enantiomer E2)

SH

The compound of intermediate VII (0.55 g, 1.95 mmol), the compound of Example 2(d) (0.546 g, 1.95 mmol) and cesium carbonate (1.92 g, 5.8 mmol) in DMF (35 mL) were stirred at 35 °C for 22 h. The product mixture was partitioned between ethyl acetate and water. The organic extracts were washed with brine and dried over sodium sulfate. The solvent was removed under reduced pressure to give 0.90 g (96%) of product that was used in the next step.

f) 4-(2-(4-amino-1,2,5-oxadiazol-3-yl)-1-ethyl-7-(((2R)-2-morpholinylmethyl)oxy)-1H-imidazo[4,5-c]pyridin-4-yl)-2-methyl-3-butyne-2-ol dihydrochloric acid salt

A thick-walled pressure vessel was charged with the compound of Example 2(e) (0.90 g, 1.87 mmol), DBU (0.84 mL, 5.6 mmol), Et₃N (0.57 mL, 5.6 mmol), NaI (0.084 g, 0.56 mmol), zinc dust (0.036 g, 0.56 mmol) 2-methyl-3-butyne-2-ol (0.47 g, 5.6 mmol), Pd(PPh₃)₄ (0.21 g, 0.19 mmol) and DMSO (60 mL). The pressure vessel was then sealed and heated at 80 °C for 1 h. After cooling to RT, the reaction was quenched by adding sat NH₄Cl. The aqueous layer was extracted with EtOAc and the combined extracts were washed with water, brine, and dried over sodium sulfate. The solvent was removed under reduced pressure and the residue subjected to flash chromatography (silica gel, MeOH/CH₂Cl₂) to give 1,1-dimethylethyl 2-(((2-(4-amino-1,2,5-oxadiazol-3-yl)-1-ethyl-4-(3-hydroxy-3-methyl-1-butyne-1-yl)-1H-imidazo[4,5-c]pyridin-7-yl)oxy)methyl)-4-morpholinecarboxylate. This was dissolved in methanol with ethereal HCl and left at room temperature for 18h. A solid formed and was collected to give the product as the di-hydrochloride salt. MS (ES⁺) m/z 428 (M+H)⁺. This was assigned the R-configuration by chiral HPLC comparison with the compound of Example (4).

Example 3

Preparation of 4-{2-[(4-amino-1,2,5-oxadiazol-3-yl)-1-ethyl-7-[(2-thiomorpholinylmethyl)oxy]-1H-imidazo[4,5-c]pyridin-4-yl)-2-methyl-3-butyn-2-ol dihydrochloride (enantiomer E1)

a) 1,1-dimethylethyl 2-(hydroxymethyl)-4-thiomorpholinecarboxylate

A solution of 4-{2-[(1,1-dimethylethyl)oxy]-2-oxoethyl}-2-thiomorpholinecarboxylic acid (50.0 g, 0.202 mol) in THF (840 mL) was cooled to 0 °C. A solution of borane (910 mL, 0.909 mol, 1M in THF) was added via addition funnel. The reaction was kept at 0°C in the refrigerator overnight. The reaction was quenched with 10% acetic acid in methanol (420ml) at 0°C. The solvent was removed under reduced pressure and the residue partitioned between ethyl acetate and 1N HCl. The aqueous layer was extracted with ethyl acetate and combined extracts were washed with water, 1N NaOH, water, brine and dried over sodium sulfate. Removal of the solvent under reduced pressure afforded 51.1 g of the desired material. This was used directly without further purification.

b) 1,1-dimethylethyl 2-[[[(phenylcarbonyl)oxy]methyl]-4-thiomorpholinecarboxylate (enantiomer E1)

To stirred solution of 1,1-dimethylethyl 2-(hydroxymethyl)-4-thiomorpholinecarboxylate (51g, 0.21mol) in methylene chloride (550ml) with pyridine (120ml) and catalytic DMAP at 0 C was added dropwise benzoyl chloride

46

(27.6ml, 0.24mol). The mixture was allowed to warm to room temperature and stirred overnight. The reaction was partitioned between 1N HCl and methylene chloride. The aqueous was washed with methylene chloride and combined organic extract was washed with water then brine and dried over sodium sulfate. The solvent was removed under reduced pressure and the residue chromatographed on silica eluted with hexane/ethyl acetate to give 60g of of the racemic compound. 60 g of racemate ((4-{2-[(1,1-dimethylethyl)oxy]-2-oxoethyl}-2-thiomorpholinyl)methyl benzoate was resolved by chiral HPLC on a Chiralpak AD, 20 micron (101.6 x 250 mm, .8g per injection) using mobile phase 100% methanol to give first eluting enantiomer E1 (24.0g, 5.7min, 99% ee) and the second eluting enantiomer E2 (16.1 g, 6.8 min, 98% ee) MS (ES+) m/z 338 (M+H)⁺.

c) 1,1-dimethylethyl 2-(hydroxymethyl)-4-thiomorpholinecarboxylate (enantiomer E1)

A solution of compound Example 3(b) (13 g, 0.037mol) in methanol (416ml) with 6N NaOH (65ml, 0.39mol) was stirred at room temperature for 1h. The methanol was removed under reduced pressure and the resulting mixture was partitioned between ethyl acetate and water. The organic extract was washed with brine, dried over sodium sulfate and solvent removed under reduced pressure to give 7.9 of the desired compound. ¹H NMR (400 MHz, CHLOROFORM-*d*) δ ppm 1.52 (s, 9 H) 2.12 (s, 2 H) 2.30 (s, 1 H) 2.75 (s, 1 H) 2.84 (s, 1 H) 3.34 (s, 1 H) 3.47 (s, 1 H) 3.70 (s, 2 H) 4.15 (s, 1 H) 4.27 (s, 1 H).

d) 1,1-dimethylethyl 2-(bromomethyl)-4-thiomorpholinecarboxylate (enantiomer E1)

To a solution of the compound of Example 3(c) (2.0 g, 8.57 mmol) in dichloromethane (96 mL) at -20 °C was added CBr₄ (5.74 g, 17.1 mmol) followed by dropwise addition of a solution of PPh₃ (4.72 g, 18.0 mmol) in dichloromethane (76 mL). After allowing the mixture to warm to RT, the solvent was removed under reduced pressure. Flash chromatography (silica gel, EtOAc/hexanes) gave 2.50 g of a material that was used directly without further purification..

e) 1,1-dimethylethyl 2-([2-(4-amino-1,2,5-oxadiazol-3-yl)-4-chloro-1-ethyl-1*H*-imidazo[4,5-*c*]pyridin-7-yl]oxy)methyl)-4-thiomorpholinecarboxylate (enantiomer E1)

To a solution of the compound of intermediate VII (2.36 g, 8.40 mmol) in DMF (160 mL) was added anhydrous cesium carbonate (8.32 g, 25.0 mmol) and 1,1-dimethylethyl 2-(bromomethyl)-4-thiomorpholinecarboxylate (enantiomer E1)

57

(2.50 g, 8.40 mmol). After stirring at ambient temperature for 4 h, sat NH₄Cl was added and the reaction was extracted with EtOAc. The combined organic extracts were washed with water, brine and dried over sodium sulfate. The solvent was removed under reduced pressure and the residue subjected to flash chromatography (MeOH/CH₂Cl₂, silica gel) to give the 2.3 g of the desired compound contaminated with 1,1-dimethylethyl 7-[[2-(4-amino-1,2,5-oxadiazol-3-yl)-4-chloro-1-ethyl-1*H*-imidazo[4,5-*c*]pyridin-7-yl]oxy]tetrahydro-1,4-thiazepine-4(5*H*)-carboxylate. This was used without further purification in the next step. MS (ES+) *m/z* 496 (M+H)⁺.

f) 4-{2-(4-amino-1,2,5-oxadiazol-3-yl)-1-ethyl-7-[(2-thiomorpholinylmethyl)oxy]-1*H*-imidazo[4,5-*c*]pyridin-4-yl}-2-methyl-3-butyn-2-ol (enantiomer E1).

A thick-walled pressure vessel was charged with 1,1-dimethylethyl 2-[[2-(4-amino-1,2,5-oxadiazol-3-yl)-4-chloro-1-ethyl-1*H*-imidazo[4,5-*c*]pyridin-7-yl]oxy)methyl]-4-thiomorpholinecarboxylate (enantiomer E1) (0.18 g, 1.35 mmol), Zn dust (0.03 g, 0.40 mmol), NaI (0.06 g, 0.40 mmol), DBU (0.61 mL, 4.00 mmol), TEA (0.56 mL, 4.00 mmol), 2-methyl-3-butyn-2-ol (0.48 mL, 5.70 mmol), (Ph₃P)₄Pd (0.08 g, 0.08 mmol) and dioxane (35 mL). After purging the mixture with nitrogen for 10 min., the vessel was sealed and heated at 80 °C for 2.5 h. After allowing the reaction to cool to ambient temperature, sat NH₄Cl was added and the reaction was extracted with EtOAc. The combined organic extracts were washed with water, brine and dried over sodium sulfate. The solvent was removed under reduced pressure and the residue subjected to flash chromatography (MeOH/CH₂Cl₂, silica gel). The Boc-protected product was dissolved in 25% TFA/CH₂Cl₂ (10 mL). After 30 min., the solvent was removed under reduced pressure. The residue was partitioned between 1N NaOH and ethyl acetate. The aqueous layer was extracted with additional ethyl acetate. The combined organic extracts were washed with brine, dried over sodium sulfate. The solvent was removed under reduced pressure. Flash chromatography (MeOH/CH₂Cl₂, silica gel) gave 0.22 g (37% yield) of the desired compound. MS (ES+) *m/z* 444 (M+H)⁺.

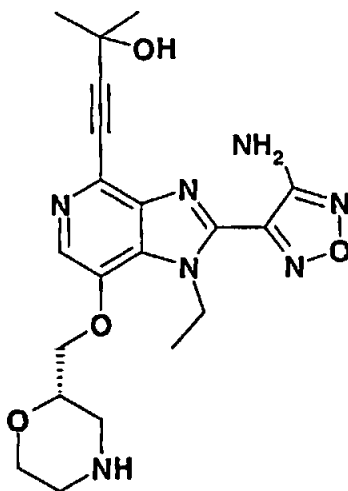
g) 4-{2-(4-amino-1,2,5-oxadiazol-3-yl)-1-ethyl-7-[(2-thiomorpholinylmethyl)oxy]-1*H*-imidazo[4,5-*c*]pyridin-4-yl}-2-methyl-3-butyn-2-ol dihydrochloride (enantiomer E1)

A solution of the compound of 1,1-dimethylethyl 2-[[2-(4-amino-1,2,5-oxadiazol-3-yl)-4-chloro-1-ethyl-1*H*-imidazo[4,5-*c*]pyridin-7-yl]oxy)methyl]-4-

thiomorpholinecarboxylate enantiomer E1 (0.22 g, 5.00 mmol) in dichloromethane (5 mL) was treated with 4N HCl in dioxane (0.25 mL, 1.00 mmol). After 30 min., the precipitate was isolated by filtration to give 0.21 g (82% yield) of the title compound as a pale yellow solid. MS (ES+) m/z 444 (M+H)⁺.

4

Example 4



Preparation of 4-(2-(4-amino-1,2,5-oxadiazol-3-yl)-1-ethyl-7-(((2S)-2-morpholinylmethyl)oxy)-1H-imidazo[4,5-c]pyridin-4-yl)-2-methyl-3-butyn-2-ol

a) 2-[(Phenylmethyl)amino]ethyl hydrogen sulfate

Chlorosulfonic acid (13.3 mL, 0.2 mol) was added very slowly to (2-[(phenylmethyl)amino]ethanol (30.2 g, 0.2 mol) in carbon tetrachloride (100 mL) in an ice bath. The resulting thick white suspension was stirred at room temperature overnight. The suspension was diluted with chloroform and ethanol, warmed to 45 °C and then cooled in an ice bath. The precipitate was collected by filtration, washed with ethanol and dried under vacuum for 16 hrs at 40 °C to afford the desired compound (34 g, 74%). MS(ES)⁺ m/z 232 [M+H]⁺.

b) (2*S*)-4-(Phenylmethyl)-2-[[[(phenylmethyl)oxy]methyl]morpholine

The compound of Example 4(a) (28.1g, 0.116 mol) was added to (2S)-2-
 {{{(phenylmethyl)oxy)methyl}oxirane (19 g, 0.122mol) in methanol/water (75 mL/75

5d

mL) in an ice bath. Sodium hydroxide (6M, 29 mL) was added over 5 min and once completed the bath was removed and allowed to stir at room temperature for 15 min. The reaction was then stirred at 40 °C in an oil bath for 3h. The reaction was quickly cooled in an ice bath and sodium hydroxide (28 g, 0.7 mol) and toluene (150 mL) were added. After 10 min, the reaction was heated to 65 °C for 3hr. After allowing the reaction to cool to RT, the organic layer was separated and the aqueous layer was further extracted with toluene. The combined organic extracts were washed with brine, dried with sodium sulfate, filtered and concentrated *in vacuo*. The residue was purified by flash chromatography (silica gel, gradient, 15% to 30% ethyl acetate in hexane) to afford the desired compound as an oil (22.4 g, 65%). MS(ES)⁺ m/e 298 [M+H]⁺.

c) 1,1-Dimethylethyl (2*S*)-2-(hydroxymethyl)-4-morpholinecarboxylate

To a solution of the compound of Example 4(b) (22.4 g, 0.075 mol) in ethanol (400 mL) was added 10% palladium on carbon (2.4 g) and trifluoroacetic acid (7.0 mL, 0.09 mol). The mixture was shaken under hydrogen at 50 psi for 24h. The reaction was filtered and concentrated *in vacuo*. A solution of potassium carbonate (26 g) in water (260 mL) was added to the residue followed by a solution of di-*tert*-butyl-dicarbonate (17 g) in ethyl acetate (500 mL). After 1 h, the aqueous layer was removed and the organic layer was washed with brine, dried with sodium sulfate, filtered and concentrated *in vacuo*. The residue was purified by flash chromatography (silica gel, gradient, 15% to 100% ethyl acetate in hexane) to afford the desired compound as an oil (8 g, 50%). MS(ES)⁺ m/e 218 [M+H]⁺.

d) 1,1-Dimethylethyl (2*S*)-2-(bromomethyl)-4-morpholinecarboxylate

1,1-Dimethylethyl (2*S*)-2-(hydroxymethyl)-4-morpholinecarboxylate (18.5g, 0.080 mol) and carbon tetrabromide (34.5 g, 0.104 mol) were dissolved in methylene chloride (400mL) and cooled in an ice bath. A solution of triphenylphosphine (22g, 0.084 mol) in methylene chloride (150ml) was added dropwise over 30min. After 1hr at 0 °C, the reaction was allowed warm to room temp and was stirred overnight. The reaction volume was reduced by ½ *in vacuo* and poured onto a pad of silica gel and the product eluted with 15% ethyl acetate in hexane. The filtrate was concentrated *in vacuo* to afford the desired compound as an oil (12g, 55%). MS(ES)⁺ m/e 281 [M+H]⁺.

60

e) 1,1-Dimethylethyl (2*S*)-2-(((2-(4-amino-1,2,5-oxadiazol-3-yl)-4-chloro-1-ethyl-1*H*-imidazo[4,5-*c*]pyridin-7-yl)oxy)methyl)-4-morpholinecarboxylate

To a solution of the compound of Example 4(d) (10.9 g, 0.039 mol) in dimethylformamide (150 mL) was added intermediate VII (7.8 g, 0.028 mol) and cesium carbonate (11 g, 0.034 mol). After 72 h at 45°C, the reaction was poured into ammonium chloride and water (1.5L) with stirring. The resulting precipitate was collected by filtration and washed with 1M NaOH and water. The solid was dissolved in tetrahydrofuran and ethyl acetate (hot) and dried with sodium sulfate, filtered and concentrated ½ volume *in vacuo* and cooled in an ice bath. The resulting precipitate was collected, washed with ethyl acetate and dried under vacuum for 2 h at 40 °C to afford the desired compound (10.2 g, 76%). MS(ES)⁺ *m/e* 480 [M+H]⁺.

f) 1,1-Dimethylethyl (2*S*)-2-(((2-(4-amino-1,2,5-oxadiazol-3-yl)-1-ethyl-4-(3-hydroxy-3-methyl-1-butyn-1-yl)-1*H*-imidazo[4,5-*c*]pyridin-7-yl)oxy)methyl)-4-morpholinecarboxylate

A thick-walled pressure vessel was charged under argon with the compound of Example 4(e) (10.1 g, 0.021 mol), 2-methyl-3-butyn-2-ol (10.2 mL, 100 mmol), zinc (0.27 g, 4.2 mmol), sodium iodide (0.63g, 4.2 mmol), triethylamine (5.8 mL, 0.42mmol), 1,8-diazabicyclo[5.4.0]undec-7-ene (5.8 mL, 42 mmol), tetrakis(triphenylphosphine) palladium (0) (1.0 g, 0.84 mmol) and dimethylsulfoxide (100 mL). The reaction vessel was sealed and heated at 80 °C for 3 h. After cooling to RT, the reaction was quenched by pouring into sat. ammonium chloride (1 L) and stirred for 30 min. The solid was collected by filtration. Purification by flash chromatography (silica gel, gradient, 1% to 10% methanol in chloroform) gave the desired compound as a solid (10.5 g, 95%). MS(ES)⁺ *m/z* 528 [M+H]⁺.

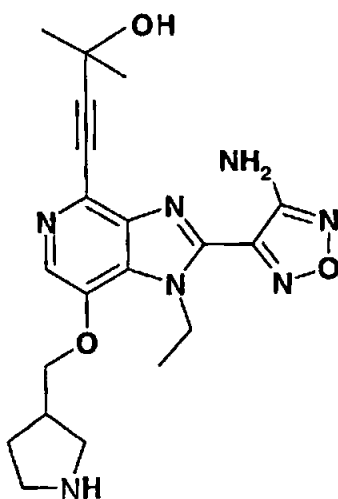
g) 4-(2-(4-Amino-1,2,5-oxadiazol-3-yl)-1-ethyl-7-(((2*S*)-2-morpholinylmethyl)oxy)-1*H*-imidazo[4,5-*c*]pyridin-4-yl)-2-methyl-3-butyn-2-ol

To a suspension of 1,1-Dimethylethyl (2*S*)-2-(((2-(4-amino-1,2,5-oxadiazol-3-yl)-1-ethyl-4-(3-hydroxy-3-methyl-1-butyn-1-yl)-1*H*-imidazo[4,5-*c*]pyridin-7-yl)oxy)methyl)-4-morpholinecarboxylate (14.2 g, 0.027 mol) in methylene chloride (150 mL) was added trifluoroacetic acid (40 mL). After 1 h, the solvent was removed *in vacuo*. The residue was evaporated from ethyl acetate (2x) to give a solid. The residue was suspended in water and treated with 1N NaOH in an ice

61

bath until the mixture was basic (pH 8). The precipitate was isolated by filtration, washed with water, ethyl acetate and dried in a vacuum oven at 40 °C for 4h. The resulting solid was treated with ethyl acetate (250ml) and stirred at 65 °C then allowed to cool to RT and then placed in an ice bath and then filtered and the solid dried in a vacuum oven at 40 °C. The resulting solid was suspended in 20% tetrahydrofuran/ethanol (1.2 L). Darco G60 activated charcoal (3.9 g) was added and the mixture heated at reflux for 90 min. and filtered while hot through celite. The solvent was removed and retreated with ethanol and removed in vacuo (2 x). The resulting solid was dried under high vacuum for 24 hr at 40 °C to afford the title compound (7.24 g, 64%). MS(ES)+ m/e 428 [M+H]+.

Example 5



Preparation of 4-(2-(4-amino-1,2,5-oxadiazol-3-yl)-1-ethyl-7-((3-pyrrolidinylmethyl)oxy)-1H-imidazo[4,5-c]pyridin-4-yl)-2-methyl-3-buten-2-ol, bis-trifluoroacetic acid salt

a) 1,1-Dimethylethyl 3-(bromomethyl)-1-pyrrolidinecarboxylate.

To a solution of 1,1-dimethylethyl 3-(hydroxymethyl)-1-pyrrolidinecarboxylate (0.56 g, 2.8 mmol) with carbon tetrabromide (1.39 g, 4.2 mmol) in methylene chloride (10 mL) was added drop wise a solution of triphenyl phosphine (0.73 g, 2.8 mmol in 5 mL of methylene chloride). Upon completion the mixture was stirred 18 h at room temperature. The solvent was removed at reduced pressure and the residue stirred in 10% ethyl acetate 90% hexane. The

62

mixture was filtered and the resulting solution chromatographed on silica eluting with a gradient of 0 – 25% EtOAc in hexane to afford the desired compound (0.41 g, 55%). MS (ES+) m/z 284 (M+H)⁺.

b) 1,1-Dimethylethyl 3-(((2-(4-amino-1,2,5-oxadiazol-3-yl)-4-chloro-1-ethyl-1*H*-imidazo[4,5-*c*]pyridin-7-yl)oxy)methyl)-1-pyrrolidinecarboxylate.

A mixture consisting of Intermediate VII (100 mg, 0.35 mmol) in DMF (2 mL) with cesium carbonate (290 mg, 0.9 mmol) and the compound of Example 5(a) (290 mg, 1.1 mmol) was stirred at room temperature for 24 h. The mixture was poured into rapidly stirring ice water (7 mL) and stirring continued for 10 min. To this was added cyclohexane (7 mL) and stirring continued for an additional 20 min. The solid was collected by filtration then washed with cyclohexane and dried in vacuo to afford the desired compound (111 mg, 69%). MS (ES+) m/z 464 (M+H)⁺.

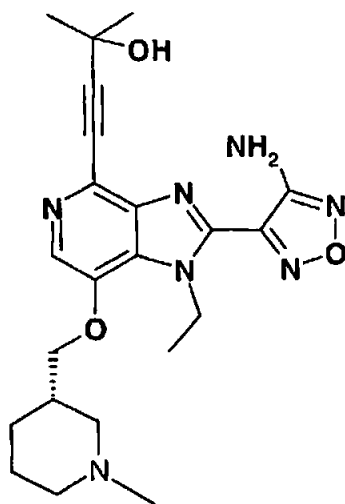
c) 1,1-Dimethylethyl 3-(((2-(4-amino-1,2,5-oxadiazol-3-yl)-1-ethyl-4-(3-hydroxy-3-methyl-1-butyn-1-yl)-1*H*-imidazo[4,5-*c*]pyridin-7-yl)oxy)methyl)-1-pyrrolidinecarboxylate.

In a thick walled pressure vessel was charged with the compound of Example 5(b) (100 mg, 0.22 mmol), 2-methyl-3-butyn-2-ol (0.25 mL, 2.6 mmol), (Ph₃P)₄Pd (30 mg), diisopropyl amine (0.4 mL) and dioxane (4 mL). The vessel was sealed and stirred under an argon atmosphere at 100 °C for 6h. The mixture was concentrated at reduced pressure then triturated with ethyl acetate (4 mL) to afford the desired compound (82 mg, 75%). MS (ES+) m/z 512 (M+H)⁺.

d) 4-{2-(4-Amino-1,2,5-oxadiazol-3-yl)-1-ethyl-7-[(3-pyrrolidinylmethyl)oxy]-1*H*-imidazo[4,5-*c*]pyridin-4-yl}-2-methyl-3-butyn-2-ol, bis-trifluoroacetic acid salt

The compound of Example 5(c) (75 mg, 0.15 mmol) was stirred in a 20% solution of TFA in methylene chloride (3 mL) at room temperature for 20 min. Toluene (3 mL) was added and all volatiles removed at reduced pressure. The residue was purified by preparative reversed phase HPLC to afford the title compound as the di-TFA salt (40 mg, 43%). MS (ES+) m/z 412 (M+H)⁺.

63

Example 6

Preparation of 4-[2-(4-amino-1,2,5-oxadiazol-3-yl)-1-ethyl-7-(((3S)-1-methyl-3-piperidinyloxy)-1H-imidazo[4,5-c]pyridin-4-yl)-2-methyl-3-butyn-2-ol, dihydrochloride

a) [(3S)-1-Methyl-3-piperidinyloxy] methanol

To a stirred solution of lithium aluminum hydride (10.5 ml of 1M solution in THF, 10.5 mmol) in ether (15 mL) at 20 °C was added dropwise a solution of 1,1-dimethylethyl (3S)-3-(hydroxymethyl)-1-piperidinecarboxylate (1.50 g, 7.0 mmol) in THF (5 mL). After 1.5 h at room temperature, water (0.4 mL) was added followed by 15% aqueous sodium hydroxide solution (0.4 mL) then water (1.2 mL). This was stirred 20 min then filtered. The filtrate was concentrated under reduced pressure to give 0.87 g used in the next step without further purification. MS (ES+) m/z 130.2 (M+H)⁺.

b) 4-[4-Chloro-1-ethyl-7-(((3S)-1-methyl-3-piperidinyloxy)-1H-imidazo[4,5-c]pyridin-2-yl)-1,2,5-oxadiazol-3-amine

To a stirred mixture consisting of compound of Example 6(a) (0.260 g, 2 mmol) with triphenyl phosphine polymer bound (1.56 g of 1.6 mmol/g polymer, 2.5 mmol) in methylene chloride (35 mL) at 0 °C was added a dropwise a solution of diethyl azodicarboxylate (0.33 mL, 2.2 mmol) in methylene chloride (5 mL). The

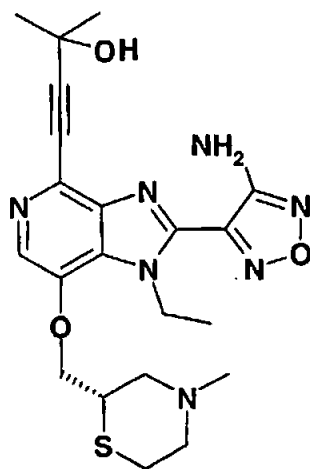
bl

cooling bath was removed and stirring continued for 20 min. To this mixture at room temperature was added a solution of the compound of intermediate VII (280 mg, 1 mmol) in THF (40 mL). The mixture was stirred 18 h at room temperature then filtered and to the filtrate was added ethyl acetate (60 mL). The resulting solution was washed with water (50 mL) then brine (50 mL). The organic extract was dried over MgSO_4 , filtered and the solvent removed under reduced pressure to give 0.40 g crude solid that was used in the next step without further purification. MS (ES+) m/z 392.3 (M+H)⁺.

c) 4-[2-(4-Amino-1,2,5-oxadiazol-3-yl)-1-ethyl-7-(((3*S*)-1-methyl-3-piperidinyl)methyloxy)-1*H*-imidazo[4,5-*c*]pyridin-4-yl]-2-methyl-3-butyn-2-ol dihydrochloride salt

A thick-walled pressure vessel was charged with the compound of Example 1(b) (0.140 g, 0.35 mmol), Zn dust (0.004 g, 0.06 mmol), NaI (0.008 g, 0.05 mmol), DBU (0.08 mL, 0.54 mmol), TEA (0.075 mL, 0.53 mmol), 2-methyl-3-butyn-2-ol (0.07 mL, 0.75 mmol) and $(\text{Ph}_3\text{P})_4\text{Pd}$ (0.015 g, 0.013 mmol) in DMSO (2 mL). The mixture was poured into rapidly stirring water (10 mL) with ethyl acetate (5 mL) and cyclohexane (5 mL). The resulting solid was collected then crystallized from ethanol. The crystalline solid was dissolved in hot ethanol then HCl (0.175 mL of 4M solution in dioxane 0.70 mmol) was added. The precipitate was collected and dried under reduced pressure to afford the title compound (0.148 g) MS (ES+) m/z 440.3 (M+H)⁺.

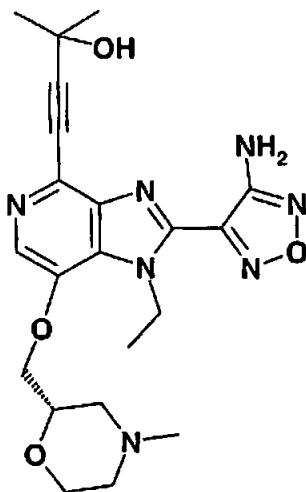
15

Example 7

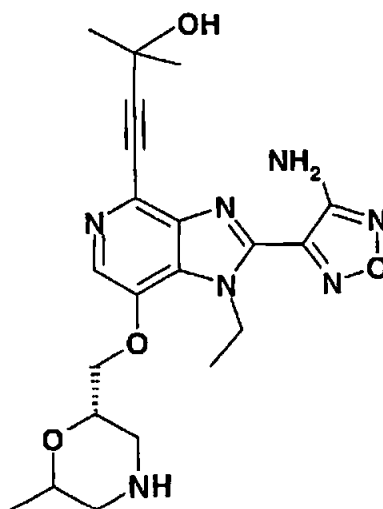
Preparation of 4-(2-(4-amino-1,2,5-oxadiazol-3-yl)-1-ethyl-7-((4-methyl-2-thiomorpholinyl)methyl)oxy)-1H-imidazo[4,5-c]pyridin-2-yl)-2-methyl-3-butyn-2-ol (enantiomer E1)

To a solution of 4-(2-(4-amino-1,2,5-oxadiazol-3-yl)-1-ethyl-7-((2-thiomorpholinylmethyl)oxy)-1H-imidazo[4,5-c]pyridin-4-yl)-2-methyl-3-butyn-2-ol (enantiomer E1) (0.88 g, 1.98 mmol) in MeOH (38 mL) at 0 °C was added NaCNBH₃ (0.14 g, 2.20 mmol) and acetic acid (0.57 mL). This was followed by dropwise addition of formaldehyde (0.25 mL). The reaction was allowed to warm to RT. After 18 h, the reaction was poured into 50% aq. NaHCO₃. The solution was cooled to 0 °C and the resultant precipitate was collected to give 0.90 g of the desired compound. MS(ES+) m/z 458.4 (M+H)⁺.

66

Example 8Preparation of 4-[2-(4-amino-1,2,5-oxadiazol-3-yl)-1-ethyl-7-([(2S)-4-methyl-2-morpholinyl]methyl)oxy)-1H-imidazo[4,5-c]pyridin-4-yl]-2-methyl-3-butyn-2-ol

To 4-(2-(4-amino-1,2,5-oxadiazol-3-yl)-1-ethyl-7-([(2S)-2-morpholinylmethyl]oxy)-1H-imidazo[4,5-c]pyridin-4-yl)-2-methyl-3-butyn-2-ol (0.13 g, 0.30 mmol) suspended in methanol (2 mL) was added formaldehyde (37% in water, 0.045 mL, 0.6 mmol). After 5 min, acetic acid (0.051 mL, 0.9 mmol) was added followed by sodium triacetoxyborohydride (0.16 g, 0.75 mmol). After 1 h, the solvent was removed *in vacuo* and the residue suspended in 1N NaOH and extracted with ethyl acetate/tetrahydrofuran. The combined organic extracts were washed with brine and dried sodium sulfate. The filtrate was concentrated *in vacuo* to afford the desired compound as a solid (0.10 g, 77%) MS(ES+) m/z 442 $[M+H]^+$.

Example 9

Preparation of 4-[2-(4-amino-1,2,5-oxadiazol-3-yl)-1-ethyl-7-((2R)-6-methyl-2-morpholinyl)methyloxy)-1H-imidazo[4,5-c]pyridin-2-yl]-2-methyl-3-butyn-2-ol dihydrochloride

a) (2S)-1-(((2,4-Bis(methyloxy)phenyl)methyl)amino)-3-((phenylmethyl)oxy)-2-propanol

To a stirred solution of 2,4-dimethoxybenzylamine (1.00 g, 5.99 mmol) in MeOH (30 mL) at room temperature was added benzyl (S)-(+)-glycidyl ether (0.88g, 5.40 mmol). After 12 h the reaction was concentrated in vacuo. The residue was dissolved in ethyl acetate (75 mL) and washed sequentially with 1 N HCl (25 mL) and brine (25 mL). The solution was dried over MgSO₄, filtered and the solvent removed under reduced pressure to give 1.35 g of the crude oil that was used in the next step without further purification. MS (ES+) m/z 332.2 (M+H)⁺.

b) N-([2,4-Bis(methyloxy)phenyl)methyl]-2-bromo-N-((2R)-2-hydroxy-3-((phenylmethyl)oxy)propyl)propanamide

To a stirred solution of the compound of Example 9(a) (0.50 g, 1.50 mmol) and triethylamine (0.25 mL, 3.0 mmol) in CH₂Cl₂ (30 mL) at 0 °C was added 2-bromopropionyl chloride (0.280 g, 1.65 mmol). After 12 h at room temperature, the solvent was removed under reduced pressure. The residue was dissolved in ethyl

acetate (75 mL) and washed sequentially with 1 N HCl (25 mL) and brine (25 mL). The solution was dried over MgSO_4 , filtered and the solvent removed under reduced pressure to give 0.51 g of the crude oil that was used in the next step without further purification. MS (ES+) m/z 467.2 (M+H)⁺.

c) (6R)-4-[[2,4-Bis(methyloxy)phenyl]methyl]-2-methyl-6-
{[(phenylmethyl)oxy]methyl}-3-morpholinone

A mixture of the compound of Example 9(b) (0.40 g, 0.86 mmol) and sodium hydride (0.067 g, 1.37 mmol) in THF (15 mL) was stirred under nitrogen at room temperature for 16 h. The reaction was diluted with ethyl acetate (50 mL) washed with water (3x15 mL) and brine (20 mL). The solution was dried over MgSO_4 , filtered and the solvent removed under reduced pressure to give the desired product. Preparative HPLC (YMC-Pack ODS-A column, 30 mm i.d. x 75 mm, 20 mL/min, gradient, A: water-0.1% trifluoroacetic acid, B: acetonitrile-0.1% trifluoroacetic acid, 10-90% acetonitrile during 12 min, UV detection at 254 nm) gave 0.245 g (74% yield) of the title compound. MS (ES+) m/z 386.2 (M+H)⁺.

d) (6R)-4-[[2,4-Bis(methyloxy)phenyl]methyl]-2-methyl-6-
{[(phenylmethyl)oxy]methyl}morpholine

A solution of the compound of Example 9(c) (0.200 g, 0.51 mmol) in THF was added LAH (1M, 0.60 mL) at 0 °C under nitrogen. The reaction was warmed to ambient temperature and stirred for 12 h. To the reaction was added water (0.02 mL), slowly at 0 °C and 1N NaOH (0.02 mL), the mixture was allowed to stir at room temperature for 1 h. Additional water (0.07 mL) was added and stirred for 30 min. The mixture was filtered. The solids were washed several times with ethyl acetate. The filtrate was concentrated under reduced pressure to give 0.12 g of the crude oil that was used in the next step without further purification. MS (ES+) m/z 372.2 (M+H)⁺.

e) (6R)-2-Methyl-6-{[(phenylmethyl)oxy]methyl}morpholine

A solution of the compound of Example 9(d) (0.12 g, 0.32 mmol) in CH_2Cl_2 (5 mL) at ambient temperature was treated with 1-chloroethyl chloroformate (0.10 mL, 1.4 mmol). The reaction was stirred at reflux for 2 h, the solvent was removed under reduced pressure to give a crude residue. The residue was dissolved in MeOH (5 mL) and stirred at reflux for 1 h. The solvent was removed

6d

under reduced pressure to give a crude residue 0.51 g of the crude oil that was used in the next step without further purification. MS (ES+) m/z 222.2 (M+H)⁺.

f) 1,1-Dimethylethyl (6R)-2-methyl-6-(((phenylmethyl)oxy)methyl)-4-morpholinecarboxylate

A solution of the compound of Example 9(e) (0.20 g, 0.90 mmol) in CH₃CN (5 mL) at ambient temperature was treated with di-tert-butyl dicarbonate (0.22 g, 1.0 mmol). Removal of the organics gave the crude residue. Preparative HPLC (YMC-Pack ODS-A column, 30 mm i.d. x 75 mm, 20 mL/min, gradient, A: water-0.1% trifluoroacetic acid, B: acetonitrile-0.1% trifluoroacetic acid, 10-90% acetonitrile during 12 min, UV detection at 254 nm) gave 0.214 g (79% yield) of the title compound. MS (ES+) m/z 322.2 (M+H)⁺.

g) 1,1-Dimethylethyl (2R)-2-(hydroxymethyl)-6-methyl-4-morpholinecarboxylate

A solution of the compound of Example 9(f) (0.20 g, 0.62 mmol) in EtOH (5 mL) was treated with palladium hydroxide (0.10 g). The mixture was placed in a Parr apparatus and shaken for 16 h under 55 psi of H₂ atmosphere. The mixture was filtered over a pad of Celite and washed with MeOH (25 mL). The filtrate was concentrated under reduced pressure to give 0.15 g of the crude oil that was used in the next step without further purification. MS (ES+) m/z 232.2 (M+H)⁺.

h) 1,1-Dimethylethyl (6R)-2-methyl-6-(((4-methylphenyl)sulfonyl)oxy)methyl)-4-morpholinecarboxylate

A solution of the compound of Example 9(g) (0.15 g, 0.65 mmol) in CH₂Cl₂ (5 mL) was added triethylamine (0.10 mL), dimethylaminopyridine (0.02 g) and tosyl chloride (0.15 g, 0.79 mmol). After 12 h the reaction was concentrated in vacuo. The residue was dissolved in ethyl acetate (75 mL) and washed sequentially with 1 N HCl (25 mL) and brine (25 mL). The solution was dried over MgSO₄, filtered and the solvent removed under reduced pressure to give of the crude residue. The crude residue was subjected to flash chromatography (25-100% EtOAc/Hex, silica gel) to give 0.14g of the desired compound as light yellow solid. MS (ES+) m/z 286.2 (M+H-BOC)⁺, no parent ion was observed.

i) 1,1-Dimethylethyl (2S)-2-([2-(4-amino-1,2,5-oxadiazol-3-yl)-4-chloro-1-ethyl-1H-imidazo[4,5-c]pyridin-7-yl]oxy)methyl)-6-methyl-4-morpholinecarboxylate

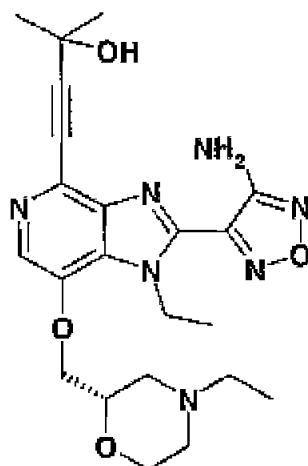
A mixture of the compound of Example 9(h) (0.14 g, 0.36 mmol), the compound of intermediate VII (0.11 g, 0.40 mmol), and cesium carbonate (0.20 g, 0.55 mmol) in DMF (9 mL) was stirred under nitrogen at 50 °C for 16 h. After allowing the reaction to cool to ambient temperature, the mixture was diluted with ethyl acetate (50 mL) washed with water (3x15 mL) and brine (20 mL). The solution was dried over MgSO_4 , filtered and the solvent removed under reduced pressure to give the desired product. Preparative HPLC (YMC-Pack ODS-A column, 30 mm i.d. x 75 mm, 20 mL/min, gradient, A: water-0.1% trifluoroacetic acid, B: acetonitrile-0.1% trifluoroacetic acid, 10-90% acetonitrile during 12 min, UV detection at 254 nm) gave 0.124 g (70% yield) of the title compound as a white solid. MS (ES+) m/z 494.2 (M+H)⁺.

j) 1,1-Dimethylethyl (2S)-2-(((2-(4-amino-1,2,5-oxadiazol-3-yl)-1-ethyl-4-(3-hydroxy-3-methyl-1-butyn-1-yl)-1H-imidazo[4,5-c]pyridin-7-yl)oxy)methyl)-6-methyl-4-morpholinecarboxylate

A thick-walled pressure vessel was charged with the compound of Example 9(i) (0.124 g, 0.25 mmol), Zn dust (0.02 g, 0.30 mmol), NaI (0.04 g, 0.27 mmol), DBU (0.20 mL, 1.32 mmol), TEA (0.15 mL, 1.07 mmol), 2-methyl-3-butyn-2-ol (0.20 mL, 2.07 mmol) and $(\text{Ph}_3\text{P})_4\text{Pd}$ (0.04 g, 0.03 mmol) in DMSO (5 mL). After purging with nitrogen for 10 min., the reaction vessel was sealed and heated at 80 °C for 3 h. The reaction mixture was diluted with water and extracted with ethyl acetate. The organic extracts were washed with water, brine and dried over sodium sulfate. The solvent was removed under reduced pressure to afford a light yellow residue. The crude residue was subjected to flash chromatography (0-10% MeOH/ CHCl_3 , silica gel) to give an additional 0.10 g of the desired compound as light yellow solid. MS (ES+) m/z 541 (M+H)⁺.

k) 4-[2-(4-Amino-1,2,5-oxadiazol-3-yl)-1-ethyl-7-(((2S)-6-methyl-2-morpholinyl)methyl)oxy)-1H-imidazo[4,5-c]pyridin-4-yl]-2-methyl-3-butyn-2-ol dihydrochloride salt

A solution of the compound of Example 9(j) (0.10 g, 0.18 mmol) in methanol (5 mL) was added 4N HCl in 1,4-dioxane (3.5 mL, 16.0 mmol). After 3 h at ambient temperature, the solvent was removed under reduced pressure. The residue was triturated with dichloromethane and the solid was collected by filtration to give 0.063 g of the title compound as light yellow solid. MS (ES+) m/z 441 (M+H)⁺.

Example 10

Preparation of 4-[2-(4-amino-1,2,5-oxadiazol-3-yl)-1-ethyl-7-([[(2S)-4-ethyl-2-morpholinyl]methoxy)-1H-imidazo[4,5-c]pyridin-4-yl]-2-methyl-3-butyne-2-ol

To a solution of the compound of Example 4 (0.13 g, 0.30 mmol) in MeOH (4 mL) at 0 °C was added acetaldehyde (0.034 mL, 0.61 mmol) and acetic acid (0.052 mL, 0.90 mmol). This was followed by the addition of NaCNBH₃ (0.048 g, 0.76 mmol). The reaction was allowed to warm to RT. After 18 h, the reaction was poured into 50% aq. NaHCO₃. The solution was cooled to 0 °C and the resultant precipitate was collected to give 0.10 g of the desired compound. MS (ES+) m/z 456.4 (M+H)⁺.

Example 11 - Capsule Composition

An oral dosage form for administering the present invention is produced by filling a standard two piece hard gelatin capsule with the ingredients in the proportions shown in Table I, below.

Table I

<u>INGREDIENTS</u>	<u>AMOUNTS</u>
4-(2-(4-amino-1,2,5-oxadiazol-3-yl)-1-ethyl-7-([(3S)-3-piperidinylmethyl]oxy)-1H-imidazo[4,5-c]pyridin-4-yl)-2-methyl-3-butyn-2-ol	25 mg
Lactose	55 mg
Talc	16 mg
Magnesium Stearate	4 mg

Example 12 - Injectable Parenteral Composition

An injectable form for administering the present invention is produced by stirring 1.5% by weight of 4-(2-(4-amino-1,2,5-oxadiazol-3-yl)-1-ethyl-7-([(2S)-2-thiomorpholinylmethyl]oxy)-1H-imidazo[4,5-c]pyridin-4-yl)-2-methyl-3-butyn-2-ol, in 10% by volume propylene glycol in water.

Example 13- Tablet Composition

The sucrose, calcium sulfate dihydrate and an Akt inhibitor as shown in Table II below, are mixed and granulated in the proportions shown with a 10% gelatin solution. The wet granules are screened, dried, mixed with the starch, talc and stearic acid; screened and compressed into a tablet.

Table II

<u>INGREDIENTS</u>	<u>AMOUNTS</u>
4-(2-(4-amino-1,2,5-oxadiazol-3-yl)-1-ethyl-7-([(2S)-2-thiomorpholinylmethyl]oxy)-1H-imidazo[4,5-c]pyridin-4-yl)-2-methyl-3-butyn-2-ol, dihydrochloride	20 mg
calcium sulfate dehydrate	30 mg
Sucrose	4 mg
Starch	2 mg
Talc	1 mg
stearic acid	0.5 mg

While the preferred embodiments of the invention are illustrated by the above, it is to be understood that the invention is not limited to the precise instructions herein disclosed and that the right to all modifications coming within the scope of the following claims is reserved.

23

What is claimed is:

1. A compound selected from:

4-(2-(4-amino-1,2,5-oxadiazol-3-yl)-1-ethyl-7-(((3S)-3-piperidinylmethyl)oxy))-1H-imidazo[4,5-c]pyridin-4-yl)-2-methyl-3-butyn-2-ol;

4-(2-(4-amino-1,2,5-oxadiazol-3-yl)-1-ethyl-7-(((2S)-2-thiomorpholinylmethyl)oxy))-1H-imidazo[4,5-c]pyridin-4-yl)-2-methyl-3-butyn-2-ol;

4-(2-(4-amino-1,2,5-oxadiazol-3-yl)-1-ethyl-7-(((2S)-2-morpholinylmethyl)oxy))-1H-imidazo[4,5-c]pyridin-4-yl)-2-methyl-3-butyn-2-ol; and

4-(2-(4-amino-1,2,5-oxadiazol-3-yl)-1-ethyl-7-(((2R)-6-methyl-2-morpholinyl)methyl)oxy))-1H-imidazo[4,5-c]pyridin-4-yl)-2-methyl-3-butyn-2-ol;

and/or pharmaceutically acceptable salts, hydrates, solvates and pro-drugs thereof.

2. A compound of claim 1 that is:

4-(2-(4-amino-1,2,5-oxadiazol-3-yl)-1-ethyl-7-(((3S)-3-piperidinylmethyl)oxy))-1H-imidazo[4,5-c]pyridin-4-yl)-2-methyl-3-butyn-2-ol;

and/or pharmaceutically acceptable salts, hydrates, solvates and pro-drugs thereof.

3. A compound of claim 1 that is:

4-(2-(4-amino-1,2,5-oxadiazol-3-yl)-1-ethyl-7-(((2S)-2-thiomorpholinylmethyl)oxy))-1H-imidazo[4,5-c]pyridin-4-yl)-2-methyl-3-butyn-2-ol;

and/or pharmaceutically acceptable salts, hydrates, solvates and pro-drugs thereof.

4. A compound of claim 1 that is:

4-(2-(4-amino-1,2,5-oxadiazol-3-yl)-1-ethyl-7-(((2S)-2-morpholinylmethyl)oxy))-1H-imidazo[4,5-c]pyridin-4-yl)-2-methyl-3-butyn-2-ol;

and/or pharmaceutically acceptable salts, hydrates, solvates and pro-drugs thereof.

5. A compound of claim 1 that is:

4-(2-(4-amino-1,2,5-oxadiazol-3-yl)-1-ethyl-7-(((2R)-6-methyl-2-morpholinyl)methyl)oxy))-1H-imidazo[4,5-c]pyridin-4-yl)-2-methyl-3-butyn-2-ol;

and/or pharmaceutically acceptable salts, hydrates, solvates and pro-drugs thereof.

6. A pharmaceutical composition comprising a compound according to claim 1, and/or a pharmaceutically acceptable salt, hydrate, solvate or pro-drug thereof and a pharmaceutically acceptable carrier.

7. A pharmaceutical composition comprising a compound according to claim 2, and/or a pharmaceutically acceptable salt, hydrate, solvate or pro-drug thereof and a pharmaceutically acceptable carrier.

8. A process for preparing a pharmaceutical composition containing a pharmaceutically acceptable carrier and an effective amount of a compound of claim 1 and/or a pharmaceutically acceptable salt, hydrate, solvate or pro-drug thereof, which process comprises bringing the compound of claim 1 and/or a pharmaceutically acceptable salt, hydrate, solvate or pro-drug thereof into association with a pharmaceutically acceptable carrier.

9. A method of treating or lessening the severity of a disease or condition selected from cancer and arthritis in a mammal in need thereof, which comprises administering to such mammal a therapeutically effective amount of a compound of claim 1 and/or a pharmaceutically acceptable salt, hydrate, solvate or pro-drug thereof.

10. The method of claim 9 wherein the mammal is a human.

11. A method of treating or lessening the severity of a disease or condition selected from cancer and arthritis in a mammal in need thereof, which comprises administering to such mammal a therapeutically effective amount of a compound of claim 2 and/or a pharmaceutically acceptable salt, hydrate, solvate or pro-drug thereof.

12. The method of claim 11 wherein the mammal is a human.

13. The method according to claim 9 wherein said cancer is selected from brain (gliomas), glioblastomas, Bannayan-Zonana syndrome,

Cowden disease, Lhermitte-Duclos disease, breast, colon, head and neck, kidney, lung, liver, melanoma, ovarian, pancreatic, prostate, sarcoma and thyroid.

14. The method according to claim 11 wherein said cancer is selected from brain (gliomas), glioblastomas, Bannayan-Zonana syndrome, Cowden disease, Lhermitte-Duclos disease, breast, colon, head and neck, kidney, lung, liver, melanoma, ovarian, pancreatic, prostate, sarcoma and thyroid.

15. Use of a compound of claim 1 and/or a pharmaceutically acceptable salt, hydrate, solvate or pro-drug thereof, in the manufacture of a medicament for use in treating or lessening the severity of a disease or condition selected from cancer and arthritis.

16. The method of inhibiting Akt activity in a mammal in need thereof, which comprises administering to such mammal a therapeutically effective amount of a compound of claim 1 and/or a pharmaceutically acceptable salt, hydrate, solvate or pro-drug thereof.

17. The method of claim 16 wherein the mammal is a human.

18. A method of treating cancer in a mammal in need thereof, which comprises: co-administering to such mammal a therapeutically effective amount of

- a) a compound of claim 1 and/or a pharmaceutically acceptable salt, hydrate, solvate or pro-drug thereof; and
- b) at least one anti-neoplastic agent.

19. The method claim 18, wherein the at least one anti-neoplastic agent is selected from the group consisting essentially of anti-microtubule agents, platinum coordination complexes, alkylating agents, antibiotic agents, topoisomerase II inhibitors, antimetabolites, topoisomerase I inhibitors, hormones and hormonal analogues, signal transduction pathway inhibitors; non-receptor tyrosine kinase angiogenesis inhibitors; immunotherapeutic agents; proapoptotic agents; and cell cycle signaling inhibitors.

20. The method of claim 18, wherein the at least one anti-neoplastic agent is an anti-microtubule agent selected from diterpenoids and vinca alkaloids.

21. The method of claim 18, wherein the at least one anti-neoplastic agent is a diterpenoid.

22. The method of claim 18, wherein the at least one anti-neoplastic agent is a vinca alkaloid.

23. The method of claim 18, wherein the at least one anti-neoplastic agent is a platinum coordination complex.

24. The method of claim 18, wherein the at least one anti-neoplastic agent is paclitaxel, carboplatin, or vinorelbine.

25. The method of claim 18, wherein the at least one anti-neoplastic agent is paclitaxel.

26. The method of claim 18, wherein the at least one anti-neoplastic agent is carboplatin.

27. The method of claim 18, wherein the at least one anti-neoplastic agent is vinorelbine.

28. The method of claim 18, wherein the at least one anti-neoplastic agent is a signal transduction pathway inhibitor.

29. The method of claim 28, wherein the signal transduction pathway inhibitor is an inhibitor of a growth factor receptor kinase selected from the group consisting of VEGFR2, TIE2, PDGFR, BTK, IGFR-1, TrkA, TrkB, TrkC, and c-fms.

30. The method of claim 28, wherein the signal transduction pathway inhibitor is an inhibitor of a serine/threonine kinase selected from the group consisting of rafk, akt, and PKC-zeta.



31. The method of claim 28, wherein the signal transduction pathway inhibitor is an inhibitor of a serine/threonine kinase selected from the src family of kinases.

32. The method of claim 31, wherein the signal transduction pathway inhibitor is an inhibitor of c-src.

33. The method of claim 28, wherein the signal transduction pathway inhibitor is an inhibitor of Ras oncogene selected from inhibitors of farnesyl transferase and geranylgeranyl transferase.

34. The method of claim 28, wherein the signal transduction pathway inhibitor is an inhibitor of a serine/threonine kinase selected from the group consisting of PI3K.

35. The method of claim 18, wherein the at least one anti-neoplastic agent is a cell cycle signaling inhibitor.

36. The method of claim 35, wherein the cell cycle signaling inhibitor is selected from inhibitors of the group CDK2, CDK4, and CDK6.

37. A pharmaceutical combination as claimed in claim 18 for use in therapy.

38. The use of a pharmaceutical combination as claimed in claim 18 for the preparation of a medicament useful in the treatment of cancer.

39. A method of treating or lessening the severity of a disease or condition selected from cancer and arthritis in a mammal in need thereof, which comprises administering to such mammal a therapeutically effective amount of 4-(2-(4-amino-1,2,5-oxadiazol-3-yl)-1-ethyl-7-([(3S)-3-piperidinylmethyl]oxy)-1H-imidazo[4,5-c]pyridin-4-yl)-2-methyl-3-butyn-2-ol and/or a pharmaceutically acceptable salt, hydrate, solvate or pro-drug thereof.

40. A method of treating or lessening the severity of a disease or condition selected from cancer and arthritis in a mammal in need thereof, which comprises administering to such mammal a therapeutically effective amount of 4-

78

(2-(4-amino-1,2,5-oxadiazol-3-yl)-1-ethyl-7-(((2S)-2-thiomorpholinyl)methyl)oxy)-1H-imidazo[4,5-c]pyridin-4-yl)-2-methyl-3-butyn-2-ol and/or a pharmaceutically acceptable salt, hydrate, solvate or pro-drug thereof.

41. A method of treating or lessening the severity of a disease or condition selected from cancer and arthritis in a mammal in need thereof, which comprises administering to such mammal a therapeutically effective amount of 4-(2-(4-amino-1,2,5-oxadiazol-3-yl)-1-ethyl-7-(((2S)-2-morpholinyl)methyl)oxy)-1H-imidazo[4,5-c]pyridin-4-yl)-2-methyl-3-butyn-2-ol and/or a pharmaceutically acceptable salt, hydrate, solvate or pro-drug thereof.

42. A method of treating or lessening the severity of a disease or condition selected from cancer and arthritis in a mammal in need thereof, which comprises administering to such mammal a therapeutically effective amount of 4-[2-(4-amino-1,2,5-oxadiazol-3-yl)-1-ethyl-7-(((2R)-6-methyl-2-morpholinyl)methyl)oxy)-1H-imidazo[4,5-c]pyridin-4-yl]-2-methyl-3-butyn-2-ol and/or a pharmaceutically acceptable salt, hydrate, solvate or pro-drug thereof.

SEQUENCE LISTING

<110> Heerding, Dirk
Clark, Tammy
Leber, Jack
Safonov, Igor

<120> INHIBITORS OF AKT ACTIVITY

<130> PU61676

<140> unknown
<141> 2006-11-10

<150> 60/735955
<151> 2005-11-10

<150> 60/772289
<151> 2006-02-10

<150> 60/826928
<151> 2006-09-26

<160> 5

<170> FastSEQ for Windows Version 4.0

<210> 1
<211> 14
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Biotinylated Synthetic peptide

<400> 1
Ala Arg Lys Arg Glu Arg Ala Tyr Ser Phe Gly His His Ala
1 5 10

<210> 2
<211> 26
<212> DNA
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Primer

<400> 2
tataatggat caatgagcga cgtggc 26

<210> 3
<211> 29
<212> DNA
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Primer

<400> 3
aaattctctg agtcaguccg tgcctgctgg 29



<210> 4
 <211> 25
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> AKT1 Mutagenic Primer

<400> 4
 acctggcggc cacgcactt cctcc

25

<210> 5
 <211> 23
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> Selection Primer

<400> 5
 ctcgagcatg caactagagg gcc

23

81

INHIBIDORES DE LA ACTIVIDAD Akt

CAMPO DE LA INVENCION

Esta invención se refiere a nuevos compuestos 1H-imidazo[4,5-c]piridin-2-ilo, al uso de tales compuestos como inhibidores de la actividad proteína quinasa B (en lo sucesivo PKB/Akt, PKB o Akt) y en el tratamiento de cáncer y artritis.

ANTECEDENTES DE LA INVENCION

La presente invención se refiere a compuestos que contienen 1H-imidazo[4,5-c]piridin-2-ilo que son inhibidores de la actividad de una o más de las isoformas de la serina/treonina quinasa, Akt (también conocida como proteína quinasa B). La presente invención también se refiere a composiciones farmacéuticas que comprenden dichos compuestos y a procedimientos de uso de los presentes compuestos en el tratamiento de cáncer y artritis (Liu et al. Current Opin. Pharmacology 3:317-22 (2003)).

La apoptosis (muerte celular programada) desempeña funciones esenciales en el desarrollo embrionario y en la patogénesis de diversas enfermedades, tales como enfermedades neuronales degenerativas, enfermedades cardiovasculares y cáncer. Recientes trabajos han conducido a la identificación de diversos productos génicos pro- y antiapoptóticos que están implicados en la regulación o ejecución de la muerte celular programada. La expresión de genes antiapoptóticos, tales como Bcl2 o Bcl-x_L, inhibe la muerte celular apoptótica inducida por diversos estímulos. Por otro lado, la expresión de genes proapoptóticos, tales como Bax o Bad, conduce a la muerte celular programada (Adams et al. *Science*, 281:1322-1326 (1998)). La ejecución de la muerte celular programada está mediada por proteinasas relacionadas con caspasa-1, incluyendo caspasa-3, caspasa-7, caspasa-8 y caspasa-9 y similares (Thornberry et al. *Science*, 281:1312-1316 (1998)).

La vía de la fosfatidilinositol 3'-OH quinasa (PI3K)/Akt/PKB parece ser importante para regular la supervivencia celular/muerte celular (Kulik et al. *Mol. Cell. Biol.* 17:1595-1606 (1997); Franke et al, *Cell*, 88:435-437 (1997); Kauffmann-Zeh et al. *Nature* 385:544-548 (1997) Hemmings *Science*, 275:628-630 (1997); Dudek et al., *Science*, 275:661-665 (1997)). Factores de supervivencia, tales como factor de crecimiento derivado de las plaquetas (PDGF), factor de crecimiento nervioso (NGF) y factor de crecimiento análogo a la insulina I (IGF-I), promueven la supervivencia celular en diversas

condiciones induciendo la actividad de PI3K (Kulik et al. 1997, Hemmings 1997). PI3K activada conduce a la producción de fosfatidilinositol (3,4,5)-trifosfato (PtdIns (3,4,5)-P3), que a su vez se une a, y promueve la activación de serina/treonina quinasa Akt, que contiene un dominio de homología a pleckstrina (PH) (Franke et al *Cell*, 81:727-736 (1995); Hemmings *Science*, 277:534 (1997); Downward, *Curr. Opin. Cell Biol.* 10:262-267 (1998), Alessi et al., *EMBO J.* 15: 6541-6551 (1996)). Inhibidores específicos de PI3K o mutantes Akt/PKB dominante negativo anulan las actividades promotoras de supervivencia de estos factores de crecimiento o citoquinas. Se ha descrito antes que los inhibidores de PI3K (LY294002 o wortmanina) bloquean la activación de Akt/PKB por quinasas cadena arriba. Además, la introducción de mutantes de PI3K o Akt/PKB constitutivamente activos promueve la supervivencia celular en condiciones en las que las células normalmente sufren muerte celular apoptótica (Kulik et al. 1997, Dudek et al. 1997).

El análisis de los niveles de Akt en tumores humanos mostró que Akt2 está sobreexpresada en un número significativo de cánceres de ovario (J. Q. Cheung et al. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 89:9267-9271(1992)) y de páncreas (J. Q. Cheung et al. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 93:3636-3641 (1996)). De igual modo, se encontró que Akt3 estaba sobreexpresada en líneas celulares de cánceres de mama y de próstata (Nakatani et al. *J. Biol.Chem.* 274:21528-21532 (1999). Se demostró que Akt-2 estaba sobreexpresada en el 12% de los carcinomas de ovario y que la amplificación de Akt era especialmente frecuente en el 50% de los tumores no diferenciados, sugiriendo que Akt puede también estar asociada con la agresividad tumoral (Bellacosa, et al., *Int. J. Cancer*, 64, pp. 280-285, 1995). Se ha descrito mayor actividad de la quinasa Akt1 en cánceres de mama, ovario y próstata (Sun et al. *Am. J. Pathol.* 159: 431-7 (2001)).

El supresor tumoral PTEN, una proteína y fosfatasa lipídica que elimina de forma específica 3' fosfato de PtdIns(3,4,5)-P3, es un regulador negativo de la vía de PI3K/Akt (Li et al. *Science* 275:1943-1947 (1997), Stambolic et al. *Cell* 95:29-39 (1998), Sun et al. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 96:6199-6204 (1999)). Mutaciones en la línea germinal de PTEN son responsables de síndromes de cánceres humanos tales como enfermedad de Cowden (Liaw et al. *Nature Genetics* 16:64-67 (1997)). PTEN está eliminado en un gran porcentaje de tumores humanos y líneas celulares tumorales humanas sin que PTEN funcional muestre niveles elevados de Akt activada (Li et al. supra, Guldberg et al. *Cancer Research* 57:3660-3663 (1997), Risinger et al. *Cancer Research*

57:4736-4738 (1997)).

Estas observaciones demuestran que la vía de PI3K/Akt desempeña funciones importantes para regular la supervivencia o apoptosis celular en tumorigenesis.

5 Se han identificado tres miembros de la subfamilia Akt/PKB de serina/treonina proteína quinasas reguladas por el segundo mensajero y se han denominado Akt1/ PKB α , Akt2/PKB β y Akt3/PKB γ respectivamente. Las isoformas son homólogas, en particular en regiones que codifican los dominios catalíticos. Las Akt/PKB se activan por sucesos de fosforilación que se
10 producen como respuesta a la señalización de PI3K. PI3K fosforila fosfolípidos de inositol de la membrana, generando los segundos mensajeros fosfatidilinositol 3,4,5-trisfosfato y fosfatidilinositol 3,4-bisfosfato, que han demostrado que se unen al dominio PH de Akt/PKB. El presente modelo de activación de Akt/PKB propone la atracción de la enzima a la membrana por
15 fosfoinositidas 3'-fosforiladas, donde se produce la fosforilación de los sitios de regulación de Akt/PKB por las quinasas cadena arriba (B.A. Hemmings, *Science* 275:628-630 (1997); B.A. Hemmings, *Science* 276:534 (1997); J. Downward, *Science* 279:673-674 (1998)).

La fosforilación de Akt1/PKB α se produce en dos sitios reguladores,
20 Thr³⁰⁸ en el lazo de activación del dominio catalítico y en Ser⁴⁷³ cerca del extremo carboxilo terminal (D. R. Alessi *et al.* *EMBO J.* 15:6541-6551 (1996) y R. Meier *et al.* *J. Biol. Chem.* 272:30491-30497 (1997)). Sitios reguladores equivalentes se producen en Akt2/PKB β y Akt3/PKB γ . La quinasa cadena arriba, que fosforila Akt/PKB en el sitio del lazo de activación se ha clonado y
25 denominado proteína quinasa 1 dependiente de 3'-fosfoinositida (PDK1). PDK1 fosforila no solo Akt/PKB, sino también la quinasa p70 ribosómica S6, p90RSK, quinasa regulada por suero y glucocorticoides (SGK) y proteína quinasa C. La quinasa cadena arriba que fosforila el sitio regulador de Akt/PKB cerca del carboxilo terminal no se ha identificado todavía, pero
30 estudios recientes le atribuyen una función para la quinasa ligada a integrina (ILK-1), una serina/treonina proteína quinasa, o autofosforilación.

La inhibición de la activación de Akt y su actividad se puede conseguir inhibiendo PI3K con inhibidores tales como LY294002 y wortmanina. No obstante, la inhibición de PI3K tiene la posibilidad de afectar de forma
35 indiscriminada no solo a las tres isozimas Akt sino también a otras moléculas señalizadoras que contienen el dominio PH que son dependientes de PtdIns(3,4,5)- P3, tales como la familia Tec de tirosina quinasas. Por otro lado,

se ha descrito que Akt puede ser activada por señales de crecimiento que son independientes de PI3K.

De forma alternativa, la actividad Akt se puede inhibir bloqueando la actividad de la quinasa PDK1 cadena arriba. El compuesto UCN-01 es un
5 inhibidor de PDK1 documentado. *Biochem. J.* 375(2):255 (2003). De nuevo, la inhibición de PDK1 daría como resultado la inhibición de varias proteína quinazas cuyas actividades dependen de PDK1, tales como isoformas de PKC atípicas, SGK y S6 quinazas (Williams et al. *Curr. Biol.* 10:439-448 (2000).

Inhibidores de Akt de molécula pequeña son útiles en el tratamiento de
10 tumores, en especial los que tienen Akt activada (por ejemplo, tumores sin PTEN y tumores con mutaciones ras. PTEN es un regulador negativo crítico de Akt y su función se pierde en muchos cánceres, incluyendo carcinomas de mama y de próstata, glioblastomas y varios síndromes cancerosos incluyendo síndrome de Bannayan-Zonana (Maehama, T. et al. *Annual Review of*
15 *Biochemistry*, 70: 247 (2001)), enfermedad de Cowden (Parsons, R.; Simpson, L. *Methods in Molecular Biology* (Totowa, NJ, United States), 222 (Tumor Suppressor Genes, Volumen 1): 147 (2003)) y enfermedad de Lhermitte-Duclos (Backman, S. et al. *Current Opinion in Neurobiology*, 12(5): 516 (2002)). La inhibición de Akt también se ha implicado en el tratamiento de leucemias,
20 (J.C. Byrd, S. Stilgenbauer and I.W. Flinn "Chronic lymphocytic leukemia." *Hematology / the Education Program of the American Society of Hematology*. American Society of Hematology. Education Program (2004), 163-83). Los niveles de Akt3 se elevan en cánceres de mama deficientes en receptor de estrógenos y líneas celulares de cáncer de próstata independientes de
25 andrógenos y Akt2 está sobreexpresada en carcinomas de páncreas y de ovario. Akt1 está amplificada en cánceres gástricos (Staal, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 84: 5034-7 (1987) y con mayores niveles en cánceres de mama (Stal et al. *Breast Cancer Res.* 5: R37-R44 (2003)). Por tanto, es de esperar que un inhibidor de Akt de molécula pequeña sea útil para el tratamiento de estos tipos
30 de cáncer, así como para otros tipos de cáncer. Los inhibidores de Akt también son útiles en combinación con otros agentes quimioterápicos.

Un objeto de la presente invención es proporcionar nuevos compuestos que sean inhibidores de Akt/PKB.

También es objeto de la presente invención proporcionar composiciones
35 farmacéuticas que comprenden un vehículo farmacéutico y compuestos útiles en los procedimientos de la invención.

También es objeto de la presente invención proporcionar un

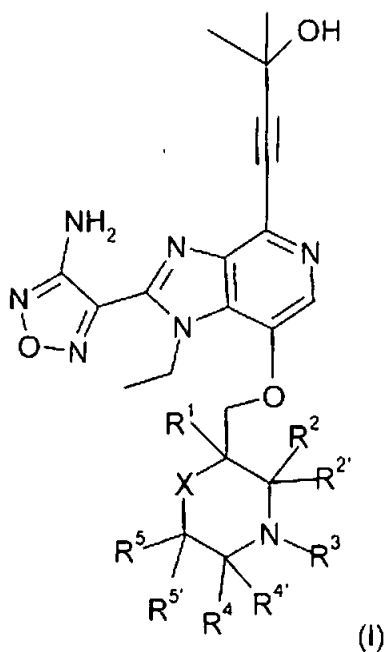
45

procedimiento para tratar cáncer que comprende administrar tales inhibidores de la actividad Akt/PKB.

También es objeto de la presente invención proporcionar un procedimiento para tratar artritis que comprende administrar tales inhibidores de la actividad Akt/PKB.

SUMARIO DE LA INVENCION

Esta invención se refiere a nuevos compuestos de Fórmula (I):



en la que:

X no está presente o se selecciona de grupo consistente en: O, S y CR²⁰R²¹, seleccionándose R²⁰R²¹ independientemente de: hidrógeno, flúor, ciclopropilo, ciclopropilo sustituido, ciclobutilo, ciclobutilo sustituido, ciclopentilo, ciclopentilo sustituido, -alquil C₁-C₄ y alquil C₁-C₄ sustituido,

o R²⁰R²¹ tomados junto con el carbono al que están unidos forman ciclopropilo, ciclopropilo sustituido, ciclobutilo, ciclobutilo sustituido, ciclopentilo o ciclopentilo sustituido;

R²⁰R²¹ se seleccionan independientemente de: hidrógeno, flúor, ciclopropilo, ciclopropilo sustituido, ciclobutilo, ciclobutilo sustituido,

86

ciclopentilo, ciclopentilo sustituido, -alquil C₁-C₄ y -alquil C₁-C₄ sustituido,

5 o R²R^{2'} tomados junto con el carbono al que están unidos forman ciclopropilo, ciclopropilo sustituido, ciclobutilo, ciclobutilo sustituido, ciclopentilo o ciclopentilo sustituido;

10 R³ se selecciona del grupo consistente en: hidrógeno, ciclopropilo, ciclopropilo sustituido, ciclobutilo, ciclobutilo sustituido, ciclopentilo, ciclopentilo sustituido, ciclopropilmetilo, ciclopropilmetilo sustituido, -alquil C₁-C₄ y -alquil C₁-C₄ sustituido;

15 R⁴R^{4'} se seleccionan independientemente de: hidrógeno, flúor, ciclopropilo, ciclopropilo sustituido, ciclobutilo, ciclobutilo sustituido, ciclopentilo, ciclopentilo sustituido, -alquil C₁-C₄ y -alquil C₁-C₄ sustituido,

o R⁴R^{4'} tomados junto con el carbono al que están unidos forman ciclopropilo, ciclopropilo sustituido, ciclobutilo, ciclobutilo sustituido, ciclopentilo o ciclopentilo sustituido;

20 R⁵R^{5'} se seleccionan independientemente de: hidrógeno, flúor, ciclopropilo, ciclopropilo sustituido, ciclobutilo, ciclobutilo sustituido, ciclopentilo, ciclopentilo sustituido, -alquil C₁-C₄ y -alquil C₁-C₄ sustituido,

25 o R⁵R^{5'} tomados junto con el carbono al que están unidos forman ciclopropilo, ciclopropilo sustituido, ciclobutilo, ciclobutilo sustituido, ciclopentilo o ciclopentilo sustituido; y

30 R¹ se selecciona del grupo consistente en: hidrógeno, -alquil C₁-C₄ y -alquil C₁-C₄ sustituido; y

cuando X no está presente o es CR²⁰R²¹, R¹ puede ser además flúor;

y/o sus sales, hidratos, solvatos y profármacos farmacéuticamente aceptables.

35 Esta invención se refiere a un procedimiento para tratar cáncer, que comprende administrar a un sujeto que lo necesite una cantidad eficaz de un compuesto inhibidor de Akt/PKB de Fórmula (I).

Esta invención se refiere a un procedimiento para tratar artritis, que comprende administrar a un sujeto que lo necesite una cantidad eficaz de un compuesto inhibidor de Akt/PKB de Fórmula (I).

5

La presente invención también se refiere al descubrimiento de que los compuestos de Fórmula (I) son activos como inhibidores de Akt/PKB.

En otro aspecto de la invención se proporcionan nuevos procedimientos
10 útiles en la preparación de los compuestos que inhiben Akt/PKB de la presente invención.

Se incluyen en la presente invención composiciones farmacéuticas que comprenden un vehículo farmacéutico y compuestos útiles en los
15 procedimientos de la invención.

También se incluyen en la presente invención procedimientos para la administración combinada de los compuestos que inhiben Akt/PKB de la presente invención con otros ingredientes activos.

20

DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCION

La solicitud internacional número PCT/US2004/024340, que tiene una fecha de presentación internacional de 28 de julio de 2004; número de publicación internacional WO 2005/011700 y una fecha de publicación
25 internacional de 10 de febrero de 2005, cuyos esquemas, procedimientos y ensayos se incorporan en la presente memoria como referencia, describe y reivindica compuestos que contienen 1H-imidazo[4,5-c]piridin-2-ilo, junto con sales, hidratos, solvatos y profármacos de los mismos farmacéuticamente aceptables, por ser útiles como inhibidores de serina/treonina quinasa, Akt
30 (también conocida como proteína quinasa B), en particular en el tratamiento de cáncer y artritis. La solicitud internacional nº PCT/US2004/024340 no describe de forma específica ninguno de los compuestos dentro del alcance de esta solicitud.

Se ha descubierto ahora que los compuestos de Fórmula (I) presentan
35 ventajas sobre los que se considera son los compuestos estructuralmente más relacionados descritos en la solicitud internacional nº PCT/US2004/024340.

Por ejemplo, los compuestos de los Ejemplos 1, 3, 4 y 9 de la presente

88

invención presentan por lo general una actividad mejorada y selectividad mejorada para la inhibición de crecimiento de células tumorales con respecto a la inhibición de crecimiento de células normales cuando se comparan con los que se considera son los compuestos estructuralmente más relacionados descritos en la solicitud internacional n° PCT/US2004/024340. Esta actividad mejorada y selectividad mejorada se espera que de como resultado una mayor ventana terapéutica. Además, los compuestos descritos en la solicitud internacional n° PCT/US2004/024340 presentan por lo general una baja solubilidad en agua. Un aspecto de esta baja solubilidad es que afecta de forma adversa la capacidad de estos compuestos para formularse en formas de dosificación farmacéuticas para administración intravenosa (en lo sucesivo IV). Además de la actividad mejorada y la selectividad mejorada de forma general para la inhibición de crecimiento de células tumorales con respecto a la inhibición de crecimiento celular normal, los compuestos de los Ejemplos 1, 3, 4 y 9 de la presente invención presentan una solubilidad que se considera adecuada para la formulación en formas de dosificación para administración IV. La administración intravenosa es un procedimiento ventajoso para administrar los compuestos de la presente invención.

Aunque los compuestos de la solicitud internacional n° PCT/US2004/024340 son útiles como inhibidores de serina/treonina quinasa, AKT (también conocida como proteína quinasa B), los compuestos de Fórmula (I), en particular los compuestos de los Ejemplos 1, 3, 4 y 9, presentan de forma general propiedades ventajosas, tales como una solubilidad, actividad, selectividad, depuración y exposición mejoradas, lo que los hace en general ventajosos sobre los que se considera son los compuestos estructuralmente más relacionados descritos en la solicitud internacional n° PCT/US2004/024340.

Esta invención se refiere a compuestos de Fórmula (I) como se han descrito antes.

Los compuestos de Fórmula (I) de la presente invención inhiben la actividad de Akt/PKB. En particular, los compuestos descritos en la presente memoria inhiben cada una de las tres isoformas de Akt/PKB.

Entre los compuestos de Fórmula (I) de la presente invención se incluyen aquellos en los que:

X no está presente o se selecciona del grupo consistente en: O, S y CR²⁰R²¹, seleccionándose R²⁰R²¹ independientemente de: hidrógeno, flúor, ciclopropilo, ciclobutilo, ciclopentilo y -alquil C₁.C₄.

89

o $R^{20}R^{21}$ tomados junto con el carbono al que están unidos forman ciclopropilo, ciclobutilo o ciclopentilo;

5 $R^2R^{2'}$ se seleccionan independientemente de: hidrógeno, flúor, ciclopropilo, ciclobutilo, ciclopentilo y -alquil C_1-C_4 ,

o $R^2R^{2'}$ tomados junto con el carbono al que están unidos forman ciclopropilo, ciclobutilo o ciclopentilo;

10 R^3 se selecciona del grupo consistente en: hidrógeno, ciclopropilo, ciclobutilo, ciclopentilo y -alquil C_1-C_4 ;

$R^4R^{4'}$ se seleccionan independientemente de: hidrógeno, flúor, ciclopropilo, ciclobutilo, ciclopentilo y -alquil C_1-C_4 ,

15 o $R^4R^{4'}$ tomados junto con el carbono al que están unidos forman ciclopropilo, ciclobutilo o ciclopentilo;

$R^5R^{5'}$ se seleccionan independientemente de: hidrógeno, flúor, ciclopropilo, ciclobutilo, ciclopentilo y -alquil C_1-C_4 ,

20 o $R^5R^{5'}$ tomados junto con el carbono al que están unidos forman ciclopropilo, ciclobutilo o ciclopentilo; y

R^1 se selecciona del grupo consistente en: hidrógeno y -alquil C_1-C_4 ; y

25 cuando X no está presente o es $CR^{20}R^{21}$, R^1 puede ser además flúor;

y/o sus sales, hidratos, solvatos y profármacos farmacéuticamente aceptables.

Entre los compuestos de Fórmula (I) de la presente invención se incluyen aquellos en los que:

30 X no está presente o se selecciona del grupo consistente en: O, S y $CR^{20}R^{21}$, seleccionándose $R^{20}R^{21}$ independientemente de: hidrógeno, flúor, ciclopropilo, ciclopropilo sustituido, ciclobutilo, ciclobutilo sustituido, ciclopentilo, ciclopentilo sustituido, -alquil C_1-C_4 y -alquil C_1-C_4 sustituido,

35 o $R^{20}R^{21}$ tomados junto con el carbono al que están unidos forman ciclopropilo, ciclopropilo sustituido, ciclobutilo, ciclobutilo sustituido, ciclopentilo o ciclopentilo sustituido;

90

5 R^2R^2' se seleccionan independientemente de: hidrógeno, flúor, ciclopropilo, ciclopropilo sustituido, ciclobutilo, ciclobutilo sustituido, ciclopentilo, ciclopentilo sustituido, -alquil C_1-C_4 y -alquil C_1-C_4 sustituido;

o R^2R^2' tomados junto con el carbono al que están unidos forman ciclopropilo, ciclopropilo sustituido, ciclobutilo, ciclobutilo sustituido, ciclopentilo o ciclopentilo sustituido;

10 R^3 se selecciona del grupo consistente en: hidrógeno, ciclopropilo, ciclopropilo sustituido, ciclobutilo, ciclobutilo sustituido, ciclopentilo, ciclopentilo sustituido, -alquil C_1-C_4 y -alquil C_1-C_4 sustituido;

15 R^4R^4' se seleccionan independientemente de: hidrógeno, flúor, ciclopropilo, ciclopropilo sustituido, ciclobutilo, ciclobutilo sustituido, ciclopentilo, ciclopentilo sustituido, -alquil C_1-C_4 y -alquil C_1-C_4 sustituido;

20 o R^4R^4' tomados junto con el carbono al que están unidos forman ciclopropilo, ciclopropilo sustituido, ciclobutilo, ciclobutilo sustituido, ciclopentilo o ciclopentilo sustituido;

25 R^5R^5' se seleccionan independientemente de: hidrógeno, flúor, ciclopropilo, ciclopropilo sustituido, ciclobutilo, ciclobutilo sustituido, ciclopentilo, ciclopentilo sustituido, -alquil C_1-C_4 y -alquil C_1-C_4 sustituido;

o R^5R^5' tomados junto con el carbono al que están unidos forman ciclopropilo, ciclopropilo sustituido, ciclobutilo, ciclobutilo sustituido, ciclopentilo o ciclopentilo sustituido; y

30 R^1 se selecciona del grupo consistente en: hidrógeno, -alquil C_1-C_4 y -alquil C_1-C_4 sustituido; y

cuando X no está presente o es $CR^{20}R^{21}$, R^1 puede ser además flúor;

35 y/o sus sales, hidratos, solvatos y profármacos farmacéuticamente aceptables.

Entre los compuestos de Fórmula (I) de la presente invención se

91

incluyen aquellos en los que:

X no está presente o se selecciona del grupo consistente en: O, S y CR²⁰R²¹, seleccionándose R²⁰R²¹ independientemente de: hidrógeno, flúor, ciclopropilo, ciclobutilo, ciclopentilo y -alquil C₁-C₄;

5

R²R^{2'} se seleccionan independientemente de: hidrógeno, flúor, ciclopropilo, ciclobutilo, ciclopentilo y -alquil C₁-C₄;

10

R³ se selecciona del grupo consistente en: hidrógeno, ciclopropilo, ciclobutilo, ciclopentilo y -alquil C₁-C₄;

R⁴R^{4'} se seleccionan independientemente de: hidrógeno, flúor, ciclopropilo, ciclobutilo, ciclopentilo y -alquil C₁-C₄;

15

R⁵R^{5'} se seleccionan independientemente de: hidrógeno, flúor, ciclopropilo, ciclobutilo, ciclopentilo y -alquil C₁-C₄; y

R¹ se selecciona del grupo consistente en: hidrógeno y -alquil C₁-C₄; y

20

cuando X no está presente o es CR²⁰R²¹, R¹ puede ser además flúor;

y/o sus sales, hidratos, solvatos y profármacos farmacéuticamente aceptables

25

Entre los compuestos de Fórmula (I) de la presente invención se incluyen aquellos en los que:

X no está presente o se selecciona del grupo consistente en: O, S y CR²⁰R²¹, seleccionándose R²⁰R²¹ independientemente de: hidrógeno, flúor, ciclopropilo, ciclopropilo sustituido, ciclobutilo, ciclobutilo sustituido, ciclopentilo, ciclopentilo sustituido, -alquil C₁-C₄ y -alquil C₁-C₄ sustituido;

30

R²R^{2'} se seleccionan independientemente de: hidrógeno, flúor, ciclopropilo, ciclopropilo sustituido, ciclobutilo, ciclobutilo sustituido, ciclopentilo, ciclopentilo sustituido -alquil C₁-C₄ y -alquil C₁-C₄ sustituido;

35

R³ se selecciona del grupo consistente en: hidrógeno, ciclopropilo,

92

ciclopropilo sustituido, ciclobutilo, ciclobutilo sustituido, ciclopentilo, ciclopentilo sustituido, -alquil C₁-C₄ y -alquil C₁-C₄ sustituido,

5 R⁴R^{4'} se seleccionan independientemente de: hidrógeno, flúor, ciclopropilo, ciclopropilo sustituido, ciclobutilo, ciclobutilo sustituido, ciclopentilo, ciclopentilo sustituido, -alquil C₁-C₄ y -alquil C₁-C₄ sustituido;

10 R⁵R^{5'} se seleccionan independientemente de: hidrógeno, flúor, ciclopropilo, ciclopropilo sustituido, ciclobutilo, ciclobutilo sustituido, ciclopentilo, ciclopentilo sustituido, -alquil C₁-C₄ y -alquil C₁-C₄ sustituido; y

15 R¹ se selecciona del grupo consistente en: hidrógeno, -alquil C₁-C₄ y -alquil C₁-C₄ sustituido; y

cuando X no está presente o es CR²⁰R²¹, R¹ puede ser además flúor,

y/o sus sales, hidratos, solvatos y profármacos farmacéuticamente aceptables.

20

Entre los compuestos de Fórmula (I) de la presente invención se incluyen aquellos en los que,

4-(2-(4-amino-1,2,5-oxadiazol-3-il)-1-etil-7-(((3S)-3-pipendinilmetil)oxi)-1H-imidazo[4,5-c]piridin-4-il)-2-metil-3-butin-2-ol;

25 4-(2-(4-amino-1,2,5-oxadiazol-3-il)-1-etil-7-[(2-morfolinilmetil)oxi]-1H-imidazo[4,5-c]piridin-4-il)-2-metil-3-butin-2-ol;

4-(2-(4-amino-1,2,5-oxadiazol-3-il)-1-etil-7-[(2S)-2-tiomorfolinilmetil]oxi)-1H-imidazo[4,5-c]piridin-4-il)-2-metil-3-butin-2-ol,

30 4-(2-(4-amino-1,2,5-oxadiazol-3-il)-1-etil-7-[(2S)-2-morfolinilmetil]oxi)-1H-imidazo[4,5-c]piridin-4-il)-2-metil-3-butin-2-ol;

4-(2-(4-amino-1,2,5-oxadiazol-3-il)-1-etil-7-[(3-pirrolidinilmetil)oxi]-1H-imidazo[4,5-c]piridin-4-il)-2-metil-3-butin-2-ol;

35 4-[2-(4-amino-1,2,5-oxadiazol-3-il)-1-etil-7-(((3S)-1-metil-3-piperidinil)metil)oxi]-1H-imidazo[4,5-c]piridin-4-il]-2-metil-3-butin-2-ol,

4-[2-(4-amino-1,2,5-oxadiazol-3-il)-1-etil-7-(((2S)-4-metil-2-tiomorfolinil)metil)oxi]-1H-imidazo[4,5-c]piridin-4-il]-2-metil-3-butin-2-ol;

93

4-[2-(4-amino-1,2,5-oxadiazol-3-il)-1-etil-7-(((2S)-4-metil-2-morfolinil)metil)oxi)-1H-imidazo[4,5-c]piridin-4-il]-2-metil-3-butin-2-ol;

4-[2-(4-amino-1,2,5-oxadiazol-3-il)-1-etil-7-(((2R)-6-metil-2-morfolinil)metil)oxi)-1H-imidazo[4,5-c]piridin-4-il]-2-metil-3-butin-2-ol; y

5 4-[2-(4-amino-1,2,5-oxadiazol-3-il)-1-etil-7-(((2S)-4-etil-2-morfolinil)metil)oxi)-1H-imidazo[4,5-c]piridin-4-il]-2-metil-3-butin-2-ol;

y/o sus sales, hidratos, solvatos y profármacos farmacéuticamente aceptables.

10 Los compuestos de Fórmula (I) se incluyen en las composiciones farmacéuticas de la invención y se usan en los procedimientos de la invención.

Tal y como se usa en la presente memoria, los sustituyentes ciclopropilo, ciclopropilmetilo, ciclobutilo, ciclopentilo y -alquil C₁-C₄, están opcionalmente sustituidos con desde 1 átomo de flúor hasta cuando el
15 sustituyente está perfluorado. De forma adecuada, el sustituyente está opcionalmente sustituido con 1 a 8 átomos de flúor. De forma adecuada, el sustituyente está opcionalmente sustituido con 1 a 5 átomos de flúor. De forma adecuada, el sustituyente está opcionalmente sustituido con 1 a 3 átomos de flúor.

20 El término "perfluorado" tal y como se usa en la presente memoria se refiere a un sustituyente en el que todos los átomos de hidrógeno se han reemplazado por átomos de flúor.

El término "sustituido" tal y como se usa en la presente memoria, a no ser que se indique de otro modo, se refiere a que el resto químico objeto está
25 sustituido con desde 1 átomo de flúor hasta cuando el resto químico está perfluorado. De forma adecuada, el resto químico está sustituido con 1 a 8 átomos de flúor. De forma adecuada, el resto químico está sustituido con 1 a 5 átomos de flúor. De forma adecuada, el resto químico está sustituido con 1 a 3 átomos de flúor.

30 El término "-alquil C₁-C₄" tal y como se usa en la presente memoria, se refiere a una cadena hidrocarbonada lineal o ramificada, saturada o insaturada, que contiene de 1 a 4 átomos de carbono. Ejemplos de -alquil C₁-C₄ tal y como se usa en la presente memoria incluyen: -CH₃, -CH₂-CH₃, -CH₂-CH₂-CH₃, -CH(CH₃)₂, -CH₂-CF₃, -C(CH₃)₃, -(CH₂)₃-CH₃, -CH₂-CH(CH₃)₂,
35 -CH(CH₃)-CH₂-CH₃, -CH=CH₂ y -C≡C-CH₃.

A no ser que se indique de otro modo, los compuestos descritos en la presente memoria también incluyen todas las formas estereoquímicas de la

94

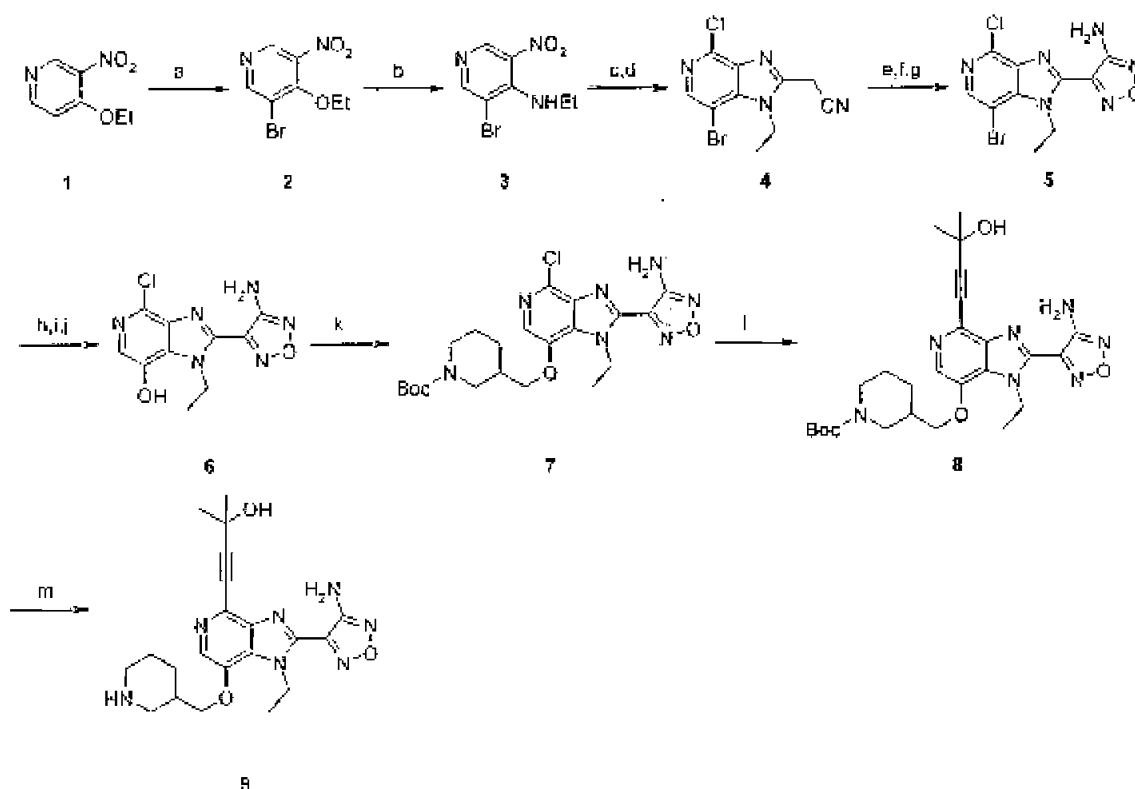
estructura; es decir, las configuraciones R y S para cada centro asimétrico. Por tanto, están dentro del alcance de la invención los isómeros estereoquímicos aislados así como las mezclas enantioméricas y diastereoisoméricas de los presentes compuestos.

- 5 El término "tratar" y sus derivados tal y como se usa en la presente memoria, se refiere a tratamiento profiláctico y terapéutico.

- Tal y como se usa en la presente memoria, el término "cantidad eficaz" y sus derivados se refiere a la cantidad de un fármaco o agente farmacéutico que originará la respuesta biológica o médica de un tejido, sistema, animal o humano que se busca, por ejemplo, por un investigador o médico. Por otro lado, el término "cantidad terapéuticamente eficaz" y sus derivados, se refiere a cualquier cantidad que al comparar con un sujeto correspondiente que no ha recibido dicha cantidad, origina un tratamiento, curación, prevención o alivio mejorado de la enfermedad, trastorno o efecto secundario, o una disminución en la velocidad de avance de la enfermedad o trastorno. El término también incluye en su alcance cantidades eficaces para mejorar la función fisiológica normal.
- 10
- 15

- Los nuevos compuestos de Fórmula I se preparan como se muestra en el Esquema 1, más adelante, o por procedimientos análogos. Todos los materiales de partida están disponibles de forma comercial o se pueden preparar fácilmente a partir de materiales de partida disponibles de forma comercial por los expertos en la técnica
- 20

Esquema 1



- 5 (a) Br_2 , NaOAc ; (b) EtNH_2 ; (c) SnCl_2 , HCl ; (d) cianoacetato de etilo, 190°C ; (e) NaNO_2 , HCl ; (f) NH_2OH (g) Et_3N , dioxano; (h) $n\text{-BuLi}$, THF, (i) B(OMe)_3 ; (j) H_2O_2 , NaOH ; (k) 3-(hidroximetil)-1-piperidincarboxilato de 1,1-dimetiletilo, DEAD, PPh_3 unido a polímero, CH_2Cl_2 ; (l) $\text{Pd(PPh}_3)_4$, $i\text{Pr}_2\text{NH}$, dioxano, 100°C ; (m) TFA, CH_2Cl_2 .

10

Los compuestos de Fórmula (I) se pueden preparar de una forma análoga a la mostrada en el Esquema 1. La bromación de 3-nitro-4-etoxi piridina (1-Esquema 1) usando bromo tamponado en acetato sódico da 3-bromo-4-(etiloxi)-5-nitropiridina (2-Esquema 1). Para llevar a cabo esta transformación existen otros procedimientos alternativos y son conocidos por los expertos en la técnica. Una compilación de estos procedimientos se puede encontrar en textos de química orgánica convencionales tales como Larock, "Comprehensive Organic Transformations," VCH, N.Y (1989). El grupo etoxi se desplaza entonces por una amina primaria tal como etilamina en un disolvente polar tal como etanol dando compuestos como 3-Esquema 1. En el caso de aminas líquidas, la reacción se puede llevar a cabo en ausencia de disolvente.

20

96

La reducción del grupo nitro con introducción concomitante del grupo cloro se consigue usando cloruro de estaño(II) de acuerdo con el procedimiento descrito por Kelley et al J. Med. Chem. 1995, 38(20), 4131-34. La 5-bromo-2-cloro diaminopiridina correspondiente se condensa con un ácido o éster
5 apropiado tal como cianoacetato de etilo. El calentamiento continuado afecta a la reacción de ciclodeshidratación dando imidazopiridinas como 4-Esquema 1. La reacción con NaNO_2 en HCl concentrado después de la reacción con hidroxilamina da una bis-oxima que se ciclodeshidrata en presencia de una base apropiada tal como trietilamina dando un aminofurazano como 5-
10 Esquema 1. El grupo hidroxilo se introduce generando un anión arilo por intercambio halógeno-metal usando una base adecuada tal como n-butil litio, haciendo reaccionar el anión con un electrófilo de boro adecuado como trimetilborato y oxidando el boronato de arilo resultante con un agente oxidante adecuado tal como peróxido de hidrógeno en base acuosa dando
15 imidazopiridinoles como 6-Esquema 1. También se pueden usar otras bases tales como reactivos de Grignard para efectuar el intercambio halógeno-metal. La eterificación del imidazopiridinol se lleva a cabo con un alcohol apropiado tal como 3-(hidroximetil)-1-piperidincarboxilato de 1,1-dimetiletilo usando los procedimientos descritos por Mitsunobu, Synthesis 1981, 1 dando ésteres tales
20 como 7-Esquema 1. Como alternativa, la eterificación se puede llevar a cabo haciendo reaccionar un haluro apropiado como 3-(clorometil)-1-piperidincarboxilato de 1,1-dimetiletilo con un alcohol adecuado como 6-Esquema 1 en presencia de una base adecuada como carbonato potásico. El tratamiento de un haluro de arilo apropiado como 7-Esquema 1 con un
25 catalizador apropiado tal como tetrakis(trifenilfosfina) paladio y un alquino terminal en presencia de una base adecuada tal como di-isopropilamina en un disolvente apropiado como dioxano da el aril alquino correspondiente como 8-Esquema 1. La retirada de los grupos protectores se consigue usando un ácido prótico o de Lewis como ácido trifluoroacético en un disolvente polar
30 como cloruro de metileno dando compuestos de Fórmula (I) como 9-Esquema 1.

El término "administración combinada" y sus derivados tal y como se usa en la presente memoria se refiere a la administración simultánea o a cualquier modo de administración secuencial separada de un compuesto
35 inhibidor de AKT, como se describe en la presente memoria, y un ingrediente o ingredientes activo(s) adicional(es), conocido(s) por su utilidad en el tratamiento de cáncer, incluyendo quimioterapia y radioterapia, o por su utilidad

99

- en el tratamiento de artritis. El término ingrediente o ingredientes activo(s) adicional(es), tal y como se usa en la presente memoria, incluye cualquier compuesto o agente terapéutico conocido por, o que demuestra propiedades ventajosas cuando se administra a un paciente que necesita tratamiento del
- 5 cáncer o artritis. Con preferencia, si la administración no es simultánea, los compuestos se administran en intervalos de tiempo próximos entre si. Además, no importa si los compuestos se administran en la misma forma de dosificación, por ejemplo, un compuesto se puede administrar por vía tópica y otro compuesto se puede administrar oralmente.
- 10 De forma típica, se puede administrar de forma combinada cualquier agente antineoplásico que tenga actividad frente a un tumor susceptible que se esté tratando en el tratamiento de cáncer en la presente invención. Ejemplos de tales agentes se pueden encontrar en Cancer Principles and Practice of Oncology de V.T. Devita and S. Hellman (editores), 6ª edición (15 de febrero
- 15 de 2001), Lippincott Williams & Wilkins Publishers. Un experto en la técnica podrá discernir qué combinaciones de agentes serían útiles en base a las características particulares de los fármacos y el cáncer en cuestión. Agentes antineoplásicos típicos útiles en la presente invención incluyen, aunque sin quedar limitados a los mismos, agentes antimicrotúbulo tales como
- 20 diterpenoides y alcaloides de la vinca; complejos de coordinación de platino; agentes alquilantes como mostazas nitrogenadas, oxazafosforinas, alquilsulfonatos, nitrosureas y triazenos; antibióticos tales como antraciclinas, actinomicinas y bleomicinas, inhibidores de topoisomerasa II como epipodofilotoxinas; antimetabolitos como análogos de purina y pirimidina y
- 25 compuestos antifolato; inhibidores de topoisomerasa I como camptotecinas; hormonas y análogos de hormonas; inhibidores de la vía de traducción de señal; inhibidores de la angiogénesis tirosina quinasa no receptor; agentes inmunoterapéuticos; agentes proapoptóticos; e inhibidores de la señalización del ciclo celular.
- 30 Ejemplos de otro ingrediente o ingredientes activos (agente antineoplásico) para usar en combinación o en administración combinada con los compuestos inhibidores de AKT de la presente invención son agentes quimioterápicos.

- Agentes antimicrotúbulo o antimitóticos son agentes específicos de fase
- 35 activos contra los microtúbulos de células tumorales durante la fase M o la mitosis del ciclo celular. Ejemplos de agente antimicrotúbulo incluyen, aunque sin quedar limitados a los mismos, diterpenoides y alcaloides de la vinca.

q8

Diterpenoides que derivan de fuentes naturales son agentes anticáncer específicos de fase que funcionan en las fases G₂/M del ciclo celular. Se cree que los diterpenoides estabilizan la subunidad β -tubulina de los microtúbulos mediante unión a esta proteína. La separación de la proteína parece estar
5 inhibida entonces deteniéndose la mitosis y siguiendo la muerte celular. Ejemplos de diterpenoides incluyen, aunque sin quedar limitados a los mismos, paclitaxel y su análogo docetaxel.

Paclitaxel, 4,10-diacetato 2-benzoato 5 β ,20-epoxi-1,2 α ,4,7 β ,10 β ,13 α -hexa-hidroxitax-11-en-9-ona, 13-éster con (2R,3S)-N-benzoil-3-fenilisoserina;
10 es un producto diterpeno natural aislado del tejo del Pacífico *Taxus brevifolia* y está disponible comercialmente como solución inyectable TAXOL®. Es un miembro de la familia taxano de terpenos. Se aisló por primera vez en 1971 por Wani et al. J. Am. Chem. Soc., 93:2325. 1971), quienes caracterizaron su estructura por procedimientos químicos y cristalográficos de rayos X. Un
15 mecanismo para su actividad se refiere a la capacidad de paclitaxel de unirse a tubulina, inhibiendo de este modo el crecimiento de células cancerosas. Schiff et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 77:1561-1565 (1980); Schiff et al., Nature, 277:665-667 (1979); Kumar, J. Biol. Chem, 256: 10435-10441 (1981). Para una revisión de la síntesis y la actividad anticancerosa de algunos derivados de
20 paclitaxel véase: D. G. I. Kingston et al., Studies in Organic Chemistry vol. 26, titulado "New trends in Natural Products Chemistry 1986", Attaur-Rahman, P.W. Le Quesne, Eds. (Elsevier, Ámsterdam, 1986) páginas 219-235.

Paclitaxel ha sido aprobado para uso clínico en el tratamiento de cáncer de ovario resistente al tratamiento en los Estados Unidos (Markman et al., Yale
25 Journal of Biology and Medicine, 64:583, 1991; McGuire et al., Ann. Intern. Med., 111:273,1989) y para el tratamiento de cáncer de mama (Holmes et al., J. Nat. Cancer Inst., 83:1797,1991.) Es un posible candidato para el tratamiento de neoplasias cutáneas (Einzig et. al., Proc. Am. Soc. Clin. Oncol., 20:46) y carcinomas de cabeza y cuello (Forastire et. al., Sem. Oncol., 20:56,
30 1990). El compuesto también muestra posibilidades para el tratamiento de enfermedad renal poliquística (Woo et. al., Nature, 368:750. 1994), cáncer de pulmón y malaria. El tratamiento de pacientes con paclitaxel da lugar a supresión de la médula ósea (varias líneas celulares, Ignoff, R.J. et. al, Cancer Chemotherapy Pocket Guide, 1998) relacionada con la duración de la
35 dosificación por encima de una concentración umbral (50 nM) (Kearns, C.M. et. al., Seminars in Oncology, 3(6) páginas 16-23, 1995).

Docetaxel, éster N-*terc*-butilico de (2R,3S)-N-carboxi-3-fenilisoserina,

ad

13-éster con 5 β -20-epoxi-1,2 α ,4,7 β ,10 β ,13 α -hexahidroxitax-11-en-9-ona 4-acetato 2-benzoato, trihidratado; está disponible comercialmente como una solución inyectable como TAXOTERE®. Docetaxel está indicado para el tratamiento de cáncer de mama. Docetaxel es un derivado semisintético de paclitaxel, q.v., preparado usando un precursor natural, 10-desacetil-bacatina III, extraída de las hojas del tejo europeo. La toxicidad limitante de la dosis de docetaxel es neutropenia.

Los alcaloides de la vinca son agentes antineoplásicos específicos de fase derivados de la planta vinvapervinca. Los alcaloides de la vinca actúan en la fase M (mitosis) del ciclo celular uniéndose específicamente a la tubulina. Por consiguiente, la molécula de tubulina unida es incapaz de polimerizarse en los microtúbulos. Se cree que la mitosis es detenida en metafase con la posterior muerte celular. Ejemplos de alcaloides de la vinca incluyen, aunque sin quedar limitados a los mismos, vinblastina, vincristina y vinorelbina.

Vinblastina, sulfato de vincaleucoblastina, está disponible de forma comercial como VELBAN® como una solución inyectable. Aunque, tiene una posible indicación como tratamiento de segunda línea de diversos tumores sólidos, está indicado fundamentalmente en el tratamiento de cáncer testicular y diversos linfomas que incluyen enfermedad de Hodgkin; y linfomas linfocíticos e histiocíticos. El efecto secundario limitante de la dosis de vinblastina es mielosupresión.

Vincristina, vincaleucoblastina, 22-oxo-, sulfato, está disponible de forma comercial como ONCOVIN® como una solución inyectable. Vincristina está indicada para el tratamiento de leucemias agudas y también ha encontrado uso en pautas de tratamiento para linfomas malignos de Hodgkin y no hodgkinianos. La alopecia y efectos neurológicos son los efectos secundarios más comunes de vincristina y en menor grado se presenta mielosupresión y efectos de mucositis gastrointestinal.

Vinorelbina, 3',4'-dideshidro -4'-desoxi-C'-norvincaleucoblastina [(sal) R-(R*,R*)-2,3-dihidroxibutanodioato (1:2)], disponible comercialmente como una solución inyectable de tartrato de vinorelbina (NAVELBINE®), es un alcaloide de la vinca semisintético. Vinorelbina está indicado como único agente o en combinación con otros agentes quimioterápicos, tales como cisplatino, en el tratamiento de diversos tumores sólidos, en particular, cánceres de pulmón amicrocíticos, de mama avanzado y de próstata resistentes al tratamiento. El efecto secundario limitante de la dosis de vinorelbina más común es mielosupresión.

1190

Los complejos de coordinación de platino son agentes anticancerosos no específicos de fase, que interaccionan con el ADN. Los complejos de platino entran en las células tumorales, sufren reacción de acuación (*Aquation*) y forman reticulaciones entre cadenas e intercadenas con ADN causando efectos biológicos adversos al tumor. Ejemplos de complejos de coordinación de platino incluyen, aunque sin quedar limitados a los mismos, cisplatino y carboplatino.

Cisplatino, cis-diaminadichloroplatino, está disponible comercialmente como PLATINOL® como una solución inyectable. Cisplatino está indicado fundamentalmente en el tratamiento de cáncer testicular y de ovarios metastásico y cáncer de vejiga avanzado. Los principales efectos limitantes de la dosis de cisplatino son nefrotoxicidad, que se puede controlar por hidratación y diuresis, y ototoxicidad.

Carboplatino, platino, diamina [1,1-ciclobutano-dicarboxilato(2-)-O,O'], está disponible comercialmente como PARAPLATIN® como una solución inyectable. Carboplatino está indicado principalmente en el tratamiento de primera y segunda línea de carcinoma de ovario avanzado. La toxicidad limitante de la dosis de carboplatino es supresión de la médula ósea.

Agentes alquilantes son agentes anticancerosos no específicos de fase y potentes electrófilos. De forma típica, los agentes alquilantes forman enlaces covalentes, por alquilación, con ADN a través de restos nucleófilos de la molécula de ADN tales como grupos fosfato, amino, sulfhidrilo, hidroxilo, carboxilo e imidazol. Dicha alquilación rompe la función ácido nucleico conduciendo a la muerte celular. Ejemplos de agentes alquilantes incluyen, aunque sin quedar limitados a los mismos, mostazas nitrogenadas tales como ciclofosfamida, melfalán y clorambucilo; alquil sulfonatos tales como busulfano; nitrosoureas como carmustina; y triazenos como dacarbazina.

Ciclofosfamida, 2-[bis(2-cloroetil)amino]tetrahydro-2H-1,3,2-oxazafosforina 2-óxido monohidratado, está disponible comercialmente como una solución inyectable o comprimidos como CYTOXAN®. Ciclofosfamida está indicada como único agente o en combinación con otros agentes quimioterápicos en el tratamiento de linfomas malignos, mieloma múltiple y leucemias. Los efectos secundarios más comunes limitantes de la dosis de ciclofosfamida son alopecia, náuseas, vómitos y leucopenia.

Melfalán, 4-[bis(2-cloroetil)amino]-L-fenilalanina, está disponible comercialmente como una solución inyectable o comprimidos como ALKERAN®. Melfalán está indicado para el tratamiento paliativo de mieloma

101

múltiple y carcinoma epitelial no resecable del ovario. El efecto secundario limitante de la dosis más común de melfalán es supresión de la médula ósea.

Clorambucilo, ácido 4-[bis(2-cloroetil)amino]bencenobutanoico, está disponible comercialmente como comprimidos como LEUKERAN®.

- 5 Clorambucilo está indicado para el tratamiento paliativo de leucemia linfopática crónica y linfomas malignos como linfossarcoma, linfoma folicular gigante y enfermedad de Hodgkin. El efecto secundario limitante de la dosis más común de clorambucilo es supresión de la médula ósea.

- 10 Busulfano, dimetanosulfonato de 1,4-butanodiol, está disponible comercialmente como comprimidos como MYLERAN®. Busulfano está indicado para el tratamiento paliativo de leucemia mielógena crónica. El efecto secundario limitante de la dosis más común de busulfano es supresión de la médula ósea.

- 15 Carmustina, 1,3-[bis(2-cloroetil)-1-nitrosourea, está disponible comercialmente como viales aislados de material liofilizado como BiCNU®. Carmustina está indicada en el tratamiento paliativo como único agente o en combinación con otros agentes para tumores cerebrales, mieloma múltiple, enfermedad de Hodgkin y linfomas no hodgkinianos. El efecto secundario limitante de la dosis más común de carmustina es mielosupresión retardada.

- 20 Dacarbazina, 5-(3,3-dimetil-1-triazeno)-imidazol-4-carboxamida, está disponible comercialmente como viales aislados de material como DTIC-Dome®. Dacarbazina está indicada para el tratamiento de melanoma maligno metastásico y en combinación con otros agentes para el tratamiento de segunda línea de enfermedad de Hodgkin. Los efectos secundarios limitantes de la dosis más comunes de dacarbazina son náuseas, vómitos y anorexia.

- 25 Los antibióticos antineoplásicos son agentes no específicos de fase, que se unen o intercalan con ADN. De forma típica, dicha acción da lugar a complejos estables de ADN o a la ruptura de la cadena, que trastoca la función normal de los ácidos nucleicos conduciendo a la muerte celular. Ejemplos de agentes antineoplásicos antibióticos incluyen, aunque sin quedar limitados a los mismos, actinomicinas tales como dactinomicina, antroclinas tales como daunorubicina y doxorubicina; y bleomicinas.

- 30 Dactinomicina, también conocida como Actinomicina D, está disponible comercialmente en forma inyectable como COSMEGEN®. Dactinomicina está indicada para el tratamiento de tumor de Wilm y rhabdomyosarcoma. Los efectos secundarios limitantes de la dosis más comunes de dactinomicina son náuseas, vómitos y anorexia.

Daunorubicina, (8S-cis-)-8-acetil-10-[(3-amino-2,3,6-tridesoxi- α -L-lixo-hexopiranosil)oxi]-7,8,9,10-tetrahidro-6,8,11-trihidroxi-1-metoxi-5,12

naftacenodiona hidrocloreto, está disponible comercialmente como una forma inyectable liposomal como DAUNOXOME® o como un inyectable como CERUBIDINE®. Daunorubicina está indicada para inducir la remisión en el tratamiento de leucemia no linfocítica aguda y sarcoma de Kaposi asociado a VIH avanzado. El efecto secundario limitante de la dosis más común de daunorubicina es mielosupresión.

Doxorubicina, (8S, 10S)-10-[(3-amino-2,3,6-tridesoxi- α -L-lixo-hexopiranosil)oxi]-8-glicolil, 7,8,9,10-tetrahidro-6,8,11-trihidroxi-1-metoxi-5,12 naftacenodiona hidrocloreto, está disponible comercialmente como una forma inyectable como RUBEX® o ADRIAMYCIN RDF®. Doxorubicina está indicada principalmente para el tratamiento de leucemia linfoblástica aguda y leucemia mieloblástica aguda, pero también es un componente útil en el tratamiento de algunos tumores sólidos y linfomas. El efecto secundario limitante de la dosis más común de doxorubicina es mielosupresión.

Bleomicina, una mezcla de antibióticos glucopeptídicos citotóxicos aislados de una cepa de *Streptomyces verticillus*, está disponible comercialmente como BLENOXANE®. Bleomicina está indicada como tratamiento paliativo como único agente o en combinación con otros agentes, de carcinoma de célula escamosa, linfomas y carcinomas testiculares. Los efectos secundarios limitantes de la dosis más comunes de bleomicina son toxicidades pulmonares y cutáneas.

Los inhibidores de topoisomerasa II incluyen, aunque sin quedar limitados a los mismos, epipodofilotoxinas.

Las epipodofilotoxinas son agentes antineoplásicos específicos de fase derivados de la mandrágora. Las epipodofilotoxinas afectan típicamente las células en las fases S y G₂ del ciclo celular formando un complejo ternario con topoisomerasa II y ADN que causa la ruptura de la cadena de ADN. Se acumulan rupturas de la cadena y sigue la muerte celular. Ejemplos de epipodofilotoxinas incluyen, aunque sin quedar limitadas a las mismas etopósido y tenipósido.

Etopósido, 4'-desmetil-epipodofilotoxina 9[4,6-O-(R)-etiliden- β -D-glucopiranosido], está disponible comercialmente como una solución inyectable o cápsulas como VePESID® y se conoce corrientemente como VP-16. Etopósido está indicado como único agente o en combinación con otros agentes quimioterápicos en el tratamiento de cánceres testiculares y de

103

pulmón amicrocíticos. El efecto secundario limitante de la dosis más común de etopósido es mielosupresión. La incidencia de leucopenia tiende a ser más grave que la trombocitopenia.

Tenipósido, 4'-desmetil-epipodofilotoxina 9[4,6-O-(R)-teniliden-β-D-glucopiranosido], está disponible comercialmente como una solución inyectable como VUMON® y se conoce corrientemente como VM-26. Tenipósido está indicado como agente único o en combinación con otros agentes quimioterápicos en el tratamiento de leucemia aguda en niños. El efecto secundario limitante de la dosis más común de tenipósido es mielosupresión.

10 Tenipósido puede inducir leucopenia y trombocitopenia.

Los agentes neoplásicos antimetabolito son agentes antineoplásicos específicos de fase que actúan en la fase S (síntesis de ADN) del ciclo celular inhibiendo la síntesis de ADN o inhibiendo la síntesis de bases purina o pirimidina y por tanto limitando la síntesis de ADN. Por consiguiente, la fase S

15 no avanza y sigue la muerte celular. Ejemplos de agentes antineoplásicos antimetabolitos incluyen, aunque sin quedar limitados a los mismos, fluorouracilo, metotrexato, citarabina, mecaptopurina, tioguanina y gemcitabina.

5-fluorouracilo, 5-fluoro-2,4- (1H,3H) pirimidindiona, está disponible comercialmente como fluorouracilo. La administración de 5-fluorouracilo

20 conduce a la inhibición de la síntesis de timidilato y también se incorpora en el ARN y ADN. El resultado es típicamente la muerte celular. 5-fluorouracilo está indicado como agente único o en combinación con otros agentes quimioterápicos en el tratamiento de carcinomas de mama, colon, recto, estómago y páncreas. Los efectos secundarios limitantes de la dosis más

25 comunes de 5-fluorouracilo son mielosupresión y mucositis. Otros análogos de fluoropirimidina incluyen 5-fluoro desoxiuridina (floxuridina) y 5-fluorodesoxiuridina monofosfato.

Citarabina, 4-amino-1-β-D-arabinofuranosil-2 (1H)-pirimidinona, está disponible comercialmente como CYTOSAR-U® y se conoce corrientemente

30 como Ara-C. Se cree que citarabina presenta especificidad de fase celular en la fase S inhibiendo la prolongación de la cadena de ADN por incorporación terminal de citarabina en la cadena de ADN en crecimiento. Citarabina está indicada como agente único o en combinación con otros agentes quimioterápicos en el tratamiento de leucemia aguda. Otros análogos de

35 citidina incluyen 5-azacitidina y 2',2'-difluorodesoxicitidina (gemcitabina). Citarabina induce leucopenia, trombocitopenia y mucositis.

Mercaptopurina, 1,7-dihidro-6H-purina-6-tiona monohidrato, está

104

disponible comercialmente como PURINETHOL®. Mercaptopurina presenta especificidad de fase celular en la fase S inhibiendo la síntesis de ADN por un mecanismo hasta ahora no especificado. Mercaptopurina está indicada como agente único o en combinación con otros agentes quimioterápicos en el

5 tratamiento de leucemia aguda. Los efectos secundarios limitantes de la dosis más comunes de mercaptopurina son mielosupresión y mucositis gastrointestinal en dosis elevadas. Un análogo de mercaptopurina útil es azatrioprina.

Tioguanina, 2-amino-1,7-dihidro-6H-purina-6-tiona, está disponible

10 comercialmente como TABLOID®. Tioguanina presenta especificidad de la fase celular en la fase S inhibiendo la síntesis de ADN por un mecanismo hasta ahora no especificado. Tioguanina está indicada como agente único o en combinación con otros agentes quimioterápicos en el tratamiento de leucemia aguda. El efecto secundario limitante de la dosis más común de la

15 administración de tioguanina es mielosupresión, incluyendo leucopenia, trombocitopenia y anemia. No obstante, se producen efectos secundarios gastrointestinales y pueden ser limitantes de la dosis. Otros análogos de purina incluyen pentostatina, eritrohidroxinoniladenina, fludarabina fosfato y cladribina.

Gemcitabina, 2'-desoxi-2', 2'-difluorocitidina monohidrocloreto (β -isómero), está disponible comercialmente como GEMZAR®. Gemcitabina

20 presenta especificidad de fase celular en la fase S y mediante el bloqueo de la progresión de células a través de los límites G1/S. Gemcitabina está indicada en combinación con cisplatino en el tratamiento de cáncer de pulmón amicrocítico localmente avanzado y solo en el tratamiento de cáncer

25 pancreático localmente avanzado. El efecto secundario limitante de la dosis más común de la administración de gemcitabina es mielosupresión, incluyendo leucopenia, trombocitopenia y anemia.

Metotrexato, ácido N-[4[[[(2,4-diamino-6-pteridinil) metil]metilamino] benzoil]-L-glutámico, está disponible comercialmente como metotrexato sódico.

30 Metotrexato presenta efectos de fase celular específicamente en la fase S inhibiendo la síntesis de ADN, reparación y/o replicación a través de la inhibición de ácido dihidrofólico reductasa que es necesaria para la síntesis de nucleótidos y timidilato. Metotrexato está indicado como agente único o en combinación con otros agentes quimioterápicos en el tratamiento de

35 coriocarcinoma, leucemia meníngea, linfomas no hodgkinianos y carcinomas de mama, cabeza, cuello, ovario y vejiga. Los efectos secundario esperados de la administración de metotrexano son mielosupresión (leucopenia,

105

trombocitopenia y anemia) y mucositis.

Camptotecinas, incluyendo camptotecina y derivados de camptotecina están disponibles o en desarrollo como inhibidores de topoisomerasa I. La actividad citotóxica de camptotecinas se cree que está relacionada con su
5 actividad inhibidora de topoisomerasa I. Ejemplos de camptotecinas incluyen, aunque sin quedar limitados a los mismos, irinotecan, topotecan y las diversas formas de 7-(4-metilpiperazino-metileno)-10,11-etilenodioxi-20-camptotecina descrita más adelante.

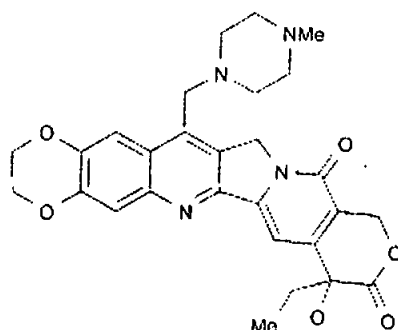
Irinotecan HCl, (4S)-4,11-dietil-4-hidroxi-9-[(4-piperidinopiperidino) carbonilo]-1H-pirano[3',4',6,7]indolizino[1,2-b]quinolina-3,14(4H,12H)-diona
10 hidrocloreto, está disponible comercialmente como la solución inyectable CAMPTOSAR®.

Irinotecan es un derivado de camptotecina que se une, a lo largo de su metabolito activo SN-38, al complejo topoisomerasa I – ADN. Se cree que se
15 produce citotoxicidad como resultado de la ruptura irreparable de la doble cadena causada por interacción del complejo ternario topoisomerasa I : ADN : irinotecan o SN-38 con enzimas de replicación. Irinotecan está indicado para el tratamiento de cáncer metastásico del colon o recto. Los efectos limitantes de la dosis de irinotecan HCl son mielosupresión, incluyendo neutropenia y
20 efectos GI, incluyendo diarrea.

Topotecan HCl, (S)-10-[(dimetilamino)metil]-4-etil-4,9-dihidroxi-1H-pirano[3',4',6,7]indolizino[1,2-b]quinolina-3,14-(4H,12H)-diona monohidrocloreto, está disponible comercialmente como la solución inyectable HYCAMTIN®. Topotecan es un derivado de camptotecina que se une al
25 complejo topoisomerasa I – ADN y evita la nueva unión de los cortes de cadenas sencillas causados por topoisomerasa I como respuesta a la tensión torsional de la molécula de ADN. Topotecan está indicado para el tratamiento de segunda línea de carcinoma metastásico de ovario y cáncer de pulmón de células pequeñas. El efecto limitante de la dosis de topotecan HCl es
30 mielosupresión, principalmente neutropenia.

También de interés, es el derivado de camptotecina de fórmula A, actualmente en desarrollo, que incluye la forma de mezcla racémica (R,S) así como los enantiómeros R y S:

106



A

conocido por el nombre químico "7-(4-metilpiperazino-metileno)-10,11-etilenodioxi-20(R,S)-camptotecina (mezcla racémica) o "7-(4-metilpiperazino-metileno)-10,11-etilenodioxi-20(R)-camptotecina (enantiómero R) o "7-(4-metilpiperazino-metileno)-10,11-etilenodioxi-20(S)-camptotecina (enantiómero S). Dicho compuesto, así como los compuestos relacionados se describen, incluyendo los procedimientos de preparación, en las patentes de Estados Unidos números 6.063.923; 5.342.947; 5.559.235; 5.491.237 y la solicitud de patente de Estados Unidos en trámite número 08/977.217 presentada el 24 de noviembre de 1997.

Hormonas y análogos de hormonas son compuestos útiles para tratar cánceres en los que hay una relación entre la(s) hormona(s) y el crecimiento y/o falta de crecimiento del cáncer. Ejemplos de hormona y análogos de hormonas útiles en el tratamiento del cáncer incluyen, aunque sin quedar limitados a los mismos, adrenocorticosteroides tales como prednisona y prednisolona que son útiles en el tratamiento de linfoma maligno y leucemia aguda en niños; aminoglutetimida y otros inhibidores de aromatasa tales como anastrozol, letrozol, vorazol y exemestano útiles en el tratamiento de carcinoma adrenocortical y carcinoma de mama dependiente de hormonas que contiene receptores de estrógenos; progestágenos tales como acetato de megestrol útil en el tratamiento de cáncer de mama dependiente de hormonas y carcinoma endometrial; estrógenos, andrógenos y antiandrógenos como flutamida, nilutamida, bicalutamida, acetato de ciproterona y 5 α -reductasas tales como finasterida y dutasterida, útiles en el tratamiento de carcinoma prostático e hipertrofia prostática benigna; antiestrógenos como tamoxifeno, toremifeno, raloxifeno, droloxifeno, yodoxifeno, así como moduladores de receptor de estrógenos selectivos (SERMS) tales como los descritos en las patentes de Estados Unidos números 5.681.835, 5.877.219 y 6.207.716, útiles en el tratamiento de carcinoma de mama dependiente de hormona y otros cánceres

107

susceptibles; y hormona liberadora de gonadotropina (GnRH) y sus análogos que estimulan la liberación de hormona leutinizante (LH) y/o hormona estimulante del foliculo (folitropina) (FSH) para el tratamiento de carcinoma prostático, por ejemplo, agonistas y antagonistas de LHRH tales como acetato de goserelina y luprolida.

Los inhibidores de la vía de traducción de señal son los inhibidores que bloquean o inhiben un proceso químico que provoca un cambio intracelular. Tal y como se usa en la presente memoria este cambio es proliferación o diferenciación celular. Los inhibidores de traducción de señal útiles en la presente invención incluyen inhibidores de tirosina quinasas receptoras, tirosina quinasas no receptoras, bloqueadores del dominio SH2/SH3, serina/treonina quinasas, fosfotidil inositol-3 quinasas, señalizadores de mioinositol y oncogenes Ras.

Varias proteína tirosina quinasas catalizan la fosforilación de residuos tirosilo específicos en diversas proteínas implicadas en la regulación del crecimiento celular. Tales proteínas tirosina quinasas se pueden clasificar de forma general como quinasas receptores y no receptores.

Las tirosina quinasas receptores son proteínas transmembrana que tienen un dominio de unión a ligando extracelular, un dominio transmembrana y un dominio tirosina quinasa. Las tirosina quinasas receptores están involucradas en la regulación del crecimiento celular y por lo general se denominan receptores de factores de crecimiento. La activación inapropiada o incontrolada de muchas de estas quinasas, es decir, la actividad quinasa receptor de factor de crecimiento aberrante, por ejemplo, sobreexpresión o mutación ha mostrado dar como resultado crecimiento celular incontrolado. Por consiguiente, la actividad aberrante de tales quinasas se ha asociado con crecimiento de tejido maligno. Por consiguiente, los inhibidores de tales quinasas podrían proporcionar procedimientos de tratamiento del cáncer. Los receptores de factores de crecimiento incluyen, por ejemplo, receptor del factor de crecimiento epidérmico (EGFr), receptor del factor de crecimiento derivado de las plaquetas (PDGFr), erbB2, erbB4, receptor del factor de crecimiento endotelial vascular (VEGFr), tirosina quinasa con dominios de homología de factor de crecimiento similar a inmunoglobulina y epidérmico (TIE-2), receptor del factor de crecimiento de insulina -I (IGFI), factor estimulador de colonias de macrófagos (cfms), BTK, ckit, cmet, receptores del factor de crecimiento de fibroblastos (FGF), receptores Trk (TrkA, TrkB y TrkC), receptores ephrin (eph) y el protooncogén RET. Varios inhibidores de receptores de crecimiento están

108

en desarrollo e incluyen antagonistas de ligandos, anticuerpos, inhibidores de tirosina quinasa y oligonucleótidos antisentido. Los receptores de factores de crecimiento y los agentes que inhiben la función del receptor del factor de crecimiento se describen, por ejemplo, en Kath, John C., Exp. Opin. Ther. Patents (2000) 10(6):803-818; Shawver et al DDT Vol 2, N° 2, febrero de 1997; y Loftis, F. J. et al, "Growth factor receptors as targets", New Molecular Targets for Cancer Chemotherapy, ed. Workman, Paul and Kerr, David, CRC press 1994, Londres.

Las tirosina quinasas que no son quinasas receptor de factores de crecimiento se denominan tirosina quinasas no receptores. Las tirosina quinasas no receptores para usar en la presente invención, que son dianas o dianas potenciales de fármacos anticancerosos, incluyen cSrc, Lck, Fyn, Yes, Jak, cAbl, FAK (quinasa de adhesión focal), tirosina quinasa Brutons y Bcr-Abl. Tales quinasas no receptores y agentes que inhiben la función tirosina quinasa no receptor se describen en Sinh, S. and Corey, S.J., (1999) Journal of Hematotherapy and Stem Cell Research 8 (5): 465 – 80; y Bolen, J.B., Brugge, J.S., (1997) Annual review of Immunology. 15: 371-404.

Los bloqueantes del dominio SH2/SH3 son agentes que interrumpen la unión al dominio SH2 o SH3 en una diversidad de enzimas o proteínas adaptadoras que incluyen, subunidad PI3-K p85, quinasas de la familia Src, moléculas adaptadoras (Shc, Crk, Nck, Grb2) y Ras-GAP. Los dominios SH2/SH3 como dianas para fármacos anticancerosos se describen en Smithgall, T.E. (1995), Journal of Pharmacological and Toxicological Methods. 34(3) 125-32.

Los inhibidores de serina/treonina quinasas que inhiben los bloqueadores de la cascada de MAP quinasa que incluyen bloqueadores de Raf quinasas (rafk), quinasa regulada por mitógeno o extracelularmente (MEKs) y quinasas reguladas extracelularmente (ERKs); y los bloqueadores miembros de la familia de la proteína quinasa C incluyendo bloqueadores de PKCs (alfa, beta, gamma, epsilon, mu, lambda, iota, zeta). La familia de quinasas Ikb (IKKa, IKKb), quinasas de la familia PKB, miembros de la familia de quinasas akt y quinasas del receptor TGF beta. Tales serina/treonina quinasas y sus inhibidores se describen en Yamamoto, T., Taya, S., Kaibuchi, K., (1999), Journal of Biochemistry. 126 (5) 799-803; Brodt, P, Samani, A., and Navab, R. (2000), Biochemical Pharmacology, 60. 1101-1107; Massague, J., Weis-Garcia, F. (1996) Cancer Surveys. 27:41-64; Philip, P.A., and Harris, A.L. (1995), Cancer Treatment and Research. 78: 3-27, Lackey, K. et al Bioorganic

109

and Medicinal Chemistry Letters, (10), 2000, 223-226; patente de Estados Unidos nº 6.268.391; y Martínez-lacaci, L., et al, Int. J. Cancer (2000), 88(1), 44-52.

Los inhibidores de los miembros de la familia de fosfatidil inositol-3
5 quinasa incluyendo bloqueadores de PI3-quinasa, ATM, DNA-PK y Ku también
pueden ser útiles en la presente invención. Tales quinasas se describen en
Abraham, R.T. (1996), Current Opinion in Immunology. 8 (3) 412-8; Canman,
C.E., Lim, D.S. (1998), Oncogene 17 (25) 3301-3308; Jackson, S.P. (1997),
International Journal of Biochemistry and Cell Biology. 29 (7):935-8; y Zhong,
10 H. et al, Cancer res, (2000) 60(6), 1541-1545.

También son de interés en la presente invención inhibidores de
señalización de Mioinositol tales como bloqueadores de fosfolipasa C y
análogos de mioinositol. Tales inhibidores de señal se describen en Powis, G.,
and Kozikowski A., (1994) New Molecular Targets for Cancer Chemotherapy
15 ed., Paul Workman and David Kerr, CRC press 1994, Londres.

Otro grupo de inhibidores de la vía de traducción de señal son
inhibidores del oncogen Ras. Tales inhibidores incluyen inhibidores de
farnesiltransferasa, geranil-geranil transferasa y proteasas CAAX, así como
oligonucleótidos antisentido, ribozimas e inmunoterapia. Tales inhibidores han
20 mostrado que bloquean la activación de ras en células que contienen ras
mutante tipo salvaje, actuando de este modo como agentes antiproliferación.
La inhibición del oncogen ras se describe en Scharovsky, O.G., Rozados, V.R.,
Gervasoni, S.I. Matar, P. (2000), Journal of Biomedical Science. 7(4) 292-8;
Ashby, M.N. (1998), Current Opinion in Lipidology. 9 (2) 99 – 102; y BioChim.
25 Biophys. Acta, (1989) 1423(3):19-30.

Como se ha citado antes, antagonistas anticuerpos frente a la unión a
ligandos de quinasa receptor también pueden servir como inhibidores de la
traducción de señal. Este grupo de inhibidores de la vía de traducción de señal
incluye el uso de anticuerpos humanizados frente al dominio de unión al
30 ligando extracelular de tirosina quinasas receptores. Por ejemplo, el anticuerpo
específico EGFR Imclone C225 (véase Green, M.C. et al, Monoclonal Antibody
Therapy for Solid Tumors, Cancer Treat. Rev., (2000), 26(4), 269-286);
anticuerpo erbB2 Herceptin ® (véase Tyrosine Kinase Signalling in Breast
cancer:erbB Family Receptor Tyrosine Kinases, Breast cancer Res., 2000,
35 2(3), 176-183); y anticuerpo específico VEGFR2 2CB (véase Brekken, R.A. et
al, Selective Inhibition of VEGFR2 Activity by a monoclonal Anti-VEGF antibody
blocks tumor growth in mice, Cancer Res. (2000) 60, 5117-5124).

110

Los inhibidores de la angiogénesis de quinasas de no receptor también pueden ser útiles en la presente invención. Inhibidores de VEGFR y TIE2 relacionados con la angiogénesis se describen antes con respecto a los inhibidores de traducción de señal (tanto tirosina quinasas receptores como no receptores). La angiogénesis en general está asociada con la señalización de erbB2/EGFR puesto que los inhibidores de erbB2 y EGFR han mostrado inhibir la angiogénesis, principalmente la expresión de VEGF. Por consiguiente, los inhibidores de tirosina quinasa de no receptor se pueden usar en combinación con los compuestos de la presente invención. Por ejemplo, anticuerpos anti-VEGF, que no reconocen VEGFR (la tirosina quinasa receptor), pero se unen al ligando; inhibidores de moléculas pequeñas de integrina ($\alpha_v\beta_3$) que inhibirán angiogénesis; endostatina y angiostatina (no-RTK) pueden también demostrar ser útiles en combinación con los compuestos descritos. (Véase Bruns CJ et al (2000), *Cancer Res.*, 60: 2926-2935; Schreiber AB, Winkler ME, and Derynck R. (1986), *Science*, 232: 1250-1253; Yen L et al. (2000), *Oncogene* 19: 3460-3469).

Agentes usados en pautas inmunoterapéuticas también pueden ser útiles en combinación con los compuestos de Fórmula (I). Hay una serie de estrategias inmunológicas para generar una respuesta inmune. Estas estrategias están generalmente en el terreno de las vacunas contra tumores. La eficacia de estas técnicas puede mejorarse enormemente mediante la inhibición combinada de vías de señalización que usan un inhibidor de moléculas pequeñas. La discusión de la técnica inmunológica/vacuna tumoral contra erbB2/EGFR se encuentra en Reilly RT et al. (2000), *Cancer Res.* 60: 3569-3576; y Chen Y, Hu D, Eling DJ, Robbins J, and Kipps TJ. (1998), *Cancer Res.* 58: 1965-1971.

Agentes usados en pautas proapoptóticas (por ejemplo oligonucleóticos antisentido bcl-2) también se pueden usar en la combinación de la presente invención. Los miembros de la familia Bcl-2 de proteínas bloquean la apoptosis. La regulación de bcl-2 a niveles superiores se ha asociado por tanto a quimioresistencia. Los estudios han mostrado que el factor del crecimiento epidérmico (EGF) estimula miembros antiapoptóticos de la familia bcl-2 (es decir, mcl-1). Por tanto, estrategias diseñadas para regular a niveles inferiores la expresión de bcl-2 en tumores ha demostrado beneficio clínico y son ahora ensayos en Fase II/III, a saber oligonucleótido antisentido bcl-2 G3139 de Genta. Tales estrategias proapoptóticas que usan la estrategia del oligonucleótido antisentido para bcl-2 se describen en Water JS et al. (2000), J.

Clin. Oncol. 18: 1812-1823; y Kitada S et al. (1994), Antisense Res. Dev. 4: 71-79.

Los inhibidores de señalización del ciclo celular inhiben moléculas implicadas en el control del ciclo celular. Una familia de proteína quinasas denominada quinasas dependientes de ciclina (CDKs) y su interacción con una familia de proteínas denominadas ciclinas controla la progresión a través del ciclo celular eucariótico. La activación e inactivación coordinada de diferentes complejos ciclina/CDK es necesaria para la progresión normal a través del ciclo celular. Están en desarrollo varios inhibidores de la señalización del ciclo celular. Por ejemplo, ejemplos de quinasas dependientes de ciclina incluyendo CDK2, CDK4 y CDK6 e inhibidores para las mismas se describen, por ejemplo, en Rosania et al, Exp. Opin. Ther. Patents (2000) 10(2):215-230.

En una realización, el procedimiento de tratamiento de cáncer de la invención reivindicada incluye la administración combinada de un compuesto de fórmula I y/o una sal, hidrato, solvato o profármaco farmacéuticamente aceptable del mismo y al menos un agente antineoplásico, tal como uno seleccionado de grupo consistente en agentes antimicrotúbulo, complejos de coordinación de platino, agentes alquilantes, antibióticos, inhibidores de topoisomerasa II, antimetabolitos, inhibidores de topoisomerasa I, hormonas y análogos de hormonas, inhibidores de la vía de traducción de señales, tirosina quinasas no receptores inhibidores de la angiogénesis, agentes inmunoterapéuticos, agentes proapoptóticos e inhibidores de la señalización del ciclo celular.

Debido a que los compuestos farmacéuticamente activos de la presente invención son activos como inhibidores de AKT, éstos presentan utilidad terapéutica en el tratamiento de cáncer y artritis.

De forma adecuada, la presente invención se refiere a un procedimiento para tratar o reducir la gravedad de un cáncer seleccionado de cerebro (gliomas), glioblastomas, leucemias, síndrome de Bannayan-Zonana, enfermedad de Cowden, enfermedad de Lhermitte-Duclos, mama, colon, cabeza y cuello, riñón, pulmón, hígado, melanoma, ovario, pancreático, sarcoma y tiroides.

De forma adecuada, la presente invención se refiere a un procedimiento para tratar o reducir la gravedad de un cáncer seleccionado de mama, ovario, pancreático y de próstata.

Aislamiento y purificación de AKT1 marcada con His (aa 136-480)

Se lisaron células de insecto que expresan AKT1 marcada con His (aa 136-480) en HEPES 25 mM, NaCl 100 mM, imidazol 20 mM; pH 7,5 usando un politrón (5 ml de tampón de lisis/g de células). Los restos celulares se separaron por centrifugación a 28.000 x g durante 30 minutos. El líquido sobrenadante se filtró a través de un filtro de 4,5 micrómetros y luego se cargó en una columna quelatante de níquel preequilibrada con tampón de lisis. La columna se lavó con 5 volúmenes de columna (VC) de tampón de lisis y luego con 5 VC de tampón B al 20%, donde el tampón B es HEPES 25 mM, NaCl 100 mM, imidazol 300 mM; pH 7,5. AKT1 marcada con His (aa 136-480) eluyó con un gradiente lineal del 20-100% de tampón B durante 10 VC. Las fracciones de elución de AKT1 marcada con His (136-480) se agruparon y diluyeron tres veces con tampón C, donde el tampón C es HEPES 25 mM, pH 7,5. La muestra se sometió a continuación a cromatografía en una columna Q-Sepharose HP preequilibrada con tampón C. La columna se lavó con 5 VC de tampón C y luego eluyó con 5 VC de D al 10%, 5 VC de D al 20%, 5 VC de D al 30%, 5 VC de D al 50% y 5 VC de D al 100%; donde el tampón D es HEPES 25 mM, NaCl 1000 mM; pH 7,5. Las fracciones que contienen AKT1 marcada con His (aa 136-480) se agruparon y concentraron en un concentrador de peso molecular con un corte de 10-kDa. AKT1 marcada con His (aa 136-480) se sometió a cromatografía en una columna de filtración de gel Superdex 75 preequilibrada con HEPES 25 mM, NaCl 200 mM, DTT 1 mM; pH 7,5. Las fracciones de AKT1 marcada con His (aa 136-480) se examinaron usando SDS-PAGE y espectrometría de masas. La proteína se agrupó, se concentró y se congeló a -80°C.

25

AKT2 marcada con His (aa 138-481) y AKT3 marcada con His (aa 135-479) se aislaron y purificaron de una forma similar.

Ensayo de enzima AKT marcada con His

Se ensayaron los compuestos de la presente invención para determinar la actividad inhibidora de proteína serina quinasa AKT 1, 2 y 3 en ensayos de fosforilación de sustratos. Este ensayo examina la capacidad de compuestos orgánicos de molécula pequeña para inhibir la fosforilación de serina de un sustrato peptídico. Los ensayos de fosforilación de sustrato usan dominios catalíticos de AKT 1, 2 ó 3. AKT 1, 2 y 3 también están disponibles comercialmente de Upstate USA, Inc. El procedimiento mide la capacidad de enzima aislada de catalizar la transferencia de gamma-fosfato del ATP al

residuo serina de un péptido sintético biotinilado SEQ. ID N°: 1 (Biotina-ahx-ARKRERAYSFGHHA-amida). La fosforilación de sustrato se detectó por el siguiente procedimiento:

Los ensayos se llevaron a cabo en placas blancas de fondo en U de 384 pocillos. Se incubó enzima AKT activada 10 nM durante 40 minutos a temperatura ambiente en un volumen de ensayo de 20 ul que contenía MOPS 50 mM, pH 7,5, MgCl₂ 20 mM, ATP 4uM, péptido 8 uM, [g-³³P] ATP 0,04 uCi / pocillo, CHAPS 1 mM, DTT 2 mM y 1 ul de compuesto de ensayo en DMSO al 100%. La reacción se interrumpió mediante la adición de 50 ul de mezcla de microesferas SPA (PBS de Dulbecco sin Mg²⁺ y Ca²⁺, Triton X-100 al 0,1%, EDTA 5 mM, ATP 50 uM, 2,5 mg/ml de microesferas SPA revestidas de estreptavidina). La placa se selló, las microesferas se dejaron sedimentar durante la noche y luego se realizó el recuento de la placa en un contador de centelleo Packard Topcount Microplate Scintillation Counter (Packard Instrument Co., Meriden, CT).

Los datos para las respuestas a la dosis se representaron como % de control calculado con la fórmula de reducción de datos $100 \cdot (U1 - C2) / (C1 - C2)$ frente a la concentración de compuesto, donde U es el valor desconocido, C1 es el valor de control medio obtenido para DMSO y C2 es el valor de control medio obtenido para EDTA 0,1 M. Los datos se ajustan a una curva descrita por: $y = ((V_{max} \cdot x) / (K + x))$ donde Vmax es la asíntota superior y K es la Cl₅₀.

Clonación de AKT1 humana de longitud completa (LC):

Se amplificó el gen de AKT1 humana de longitud completa por PCR a partir de un plásmido que contenía AKT1-ER miristilada (cortesía de Robert T. Abraham, Duke University under MTA, descrito en Klippel et al. en Molecular and Cellular Biology 1998 Volumen 18 página 5699) usando el cebador 5': SEQ. ID N°: 2 5' TATATAGGATCCATGAGCGACGTGGC 3' y el cebador 3': SEQ. ID N°: 3 AAATTTCTCGAGTCAGGCCGTGCTGCTGG 3'. El cebador 5' incluye un sitio BamHI y el cebador 3' incluye un sitio XhoI a efectos de clonación. El producto de PCR resultante se subclonó en pcDNA3 como fragmento BamHI / XhoI. Una mutación de la secuencia (TGC) que codifica Cisteína²⁵ se convirtió en la secuencia AKT1 de tipo salvaje (CGC) que codifica una Arginina²⁵ por mutagénesis dirigida al sitio usando el kit QuikChange® Site Directed Mutagenesis Kit (Stratagene). El cebador mutagénico de AKT1: SEQ. ID N°: 4 5' ACCTGGCGGCCACGCTACTTCCTCC y el cebador de selección:

114

SEQ. ID Nº: 5 5' CTCGAGCATGCAACTAGAGGGCC (diseñado para destruir un sitio XbaI en el sitio de clonación múltiple de pcDNA3) se usaron de acuerdo con las instrucciones del fabricante. Para la expresión/purificación, se aisló AKT1 como fragmento BamHI / XhoI y se clonó en los sitios BamHI / XhoI de pFastbacHTb (Invitrogen).

Expresión de AKT1 humana de LC:

La expresión se realizó usando el sistema de expresión de baculovirus BAC-to-BAC Baculovirus Expression System de Invitrogen (nº de catálogo 10359-016). De forma resumida 1) se transfirió el ADNc desde el vector FastBac al ADN bácmido, 2) el ADN bácmido se aisló y se usó para transfectar células de insecto Sf9, 3) el virus se produjo en las células Sf9, 4) se infectaron células T. ni con este virus y se enviaron a purificación.

Purificación de AKT1 humana LC:

Para la purificación de AKT1 de longitud completa, se resuspendieron 130 g de células sf9 (número de lote 41646W02) en tampón de lisis (tampón A, 1 l, pH 7,5) que contenía HEPES 25 mM, NaCl 100 mM e imidazol 20 mM. La lisis celular se llevó a cabo por Avestina (2 pases a 1,8 - 1,39 x 10⁵ kPa). Los restos celulares se separaron centrifugando a 16K rpm durante 1 hora y el líquido sobrenadante se unió en lote a 10 ml de microesferas Nickel Sepharose HP a 4°C durante la noche. Las microesferas se transfirieron entonces a la columna y el material ligado se eluyó con tampón B (HEPES 25 mM, NaCl 100 mM, imidazol 300 mM, pH 7,5). Las fracciones de elución de AKT se agruparon y se diluyeron 3 veces usando tampón C (HEPES 25 mM, DTT 5 mM; pH 7,5). La muestra se filtró y se sometió a cromatografía en una columna 10 ml Q-HP preequilibrada con tampón C a 2 ml/min.

La columna Q-HP se lavó con 3 VC de tampón C, después de esta etapa eluyó con 5 VC de D al 10%, 5 VC de D al 20%, 5 VC de D al 30%, 5 VC de D al 50% y 5 VC de D al 100%; donde el tampón D es HEPES 25 mM, NaCl 1000 mM, DTT 5 mM; pH 7,5. Se recogieron fracciones de 5 ml. Las fracciones que contenían AKT se agruparon y concentraron hasta 5 ml. La proteína se cargó seguidamente en una columna de clasificación de 120 ml Superdex 75 que se preequilibró con HEPES 25 mM, NaCl 200 mM, DTT 5 mM; pH 7,5. Se recogieron fracciones de 2,5 ml.

MS

Se agruparon las fracciones que eluían con AKT 1, se tomaron alícuotas (1 ml) y se almacenaron a -80°C. El espectro de masas y el análisis SDS-PAGE se usaron para confirmar la pureza e identidad de AKT1 de longitud completa purificada.

5

AKT2 de longitud completa (LC) y AKT3 (LC) se aislaron y purificaron de una forma similar.

Ensayo de enzima AKT de longitud completa

- 10 Los compuestos de la presente invención se ensayaron para determinar la actividad inhibidora de proteína serina quinasa AKT 1, 2 y 3 en ensayos de fosforilación de sustrato. Este ensayo examina la capacidad de compuestos orgánicos de molécula pequeña para inhibir la fosforilación de serina de un sustrato peptídico. Los ensayos de fosforilación de sustrato usan los dominios
- 15 catalíticos de AKT 1, 2 ó 3. El procedimiento mide la capacidad de la enzima aislada de catalizar la transferencia de gamma-fosfato de ATP sobre el residuo serina de un péptido sintético biotinilado SEQ. ID N°: 1 (Biotina-ahx-ARKRERAYSFGHHA-amida). La fosforilación de sustrato se detectó por el siguiente procedimiento.
- 20 Los ensayos se llevaron a cabo en placas blancas de fondo en U de 384 pocillos. Se incubó enzima AKT activada 10 nM durante 40 minutos a temperatura ambiente en un volumen de ensayo de 20 µl que contenía MOPS 50 mM, pH 7,5, MgCl₂ 20 mM, ATP 4 µM, péptido 8 µM, [γ-33P] ATP 0,04 µCi / pocillo, CHAPS 1 mM, DTT 2 mM, y 1 µl de compuesto de ensayo en DMSO al
- 25 100%. La reacción se detuvo mediante la adición de 50 µl de mezcla de microesferas SPA (PBS de Dulbecco sin Mg²⁺ y Ca²⁺, Triton X-100 al 0,1%, EDTA 5 mM, ATP 50 µM, 2,5 mg/ml de microesferas SPA revestidas de Estreptavidina. La placa se selló, se dejaron sedimentar las microesferas durante la noche y luego se realizó el recuento de la placa en un contador de
- 30 centelleo Packard Topcount Microplate Scintillation Counter (Packard Instrument Co., Meriden, CT). Los datos para respuestas a la dosis se representaron como % de control calculado con la fórmula de reducción de datos $100 \cdot (U1 - C2) / (C1 - C2)$ frente a la concentración de compuesto, donde U es el valor desconocido, C1 es el valor de control medio obtenido para DMSO y
- 35 C2 es el valor de control medio obtenido para EDTA 0,1 M. Los datos se ajustan a una curva descrita por: $y = (V_{max} \cdot x) / (K + x)$ donde V_{max} es la asíntota superior y K es la CI₅₀.

El compuesto del Ejemplo 1 demostró una actividad CI_{50} (uM) de: 0,003 um, AKT1 LC; 0,016 um, AKT2 LC; y 0,016, AKT3 LC en el ensayo de enzima AKT de longitud completa anterior.

La actividad frente a líneas de células tumorales y una línea de células
5 normales y las solubilidades de los compuestos de los Ejemplos 1 a 10 de esta invención se compararon con lo que se considera son los compuestos estructuralmente más relacionados preparados en la solicitud internacional n° PCT/US2004/024340. De forma específica, el compuesto del Ejemplo 140 en la solicitud internacional n° PCT/US2004/024340 (compuesto trifluoroacetato
10 de 4-(1-etil-7-{{3-(4-morfolinil)propil}oxi}-4-fenil-1H-imidazo[4,5-c]piridin-2-il)-1,2,5-oxadiazol-3-amina, en lo sucesivo Compuesto R), el compuesto del Ejemplo 151 en la solicitud internacional n° PCT/US2004/024340 (compuesto trifluoroacetato de 1-{{2-(4-amino-1,2,5-oxadiazol-3-il)-1-etil-4-fenil-1H-imidazo[4,5-c]piridin-7-il}oxi}-3-(4-morfolinil)-2-propanol, en lo sucesivo
15 Compuesto S), el compuesto del Ejemplo 152 en la solicitud internacional n° PCT/US2004/024340 (compuesto trifluoroacetato de 4-(1-etil-7-{{2-(4-morfolinil)etil}oxi}-4-fenil-1H-imidazo[4,5-c]piridin-2-il)-1,2,5-oxadiazol-3-amina, en lo sucesivo Compuesto T), el compuesto del Ejemplo 17 en la solicitud internacional n° PCT/US2004/024340 (compuesto trifluoroacetato de 4-[1-etil-7-(piperidin-4-iloxi)-1H-imidazo[4,5-c]piridin-2-il]-furazan-3-ilamina, en lo sucesivo
20 Compuesto U), el compuesto del Ejemplo 127 en la solicitud internacional n° PCT/US2004/024340 (compuesto trifluoroacetato de: 4-{1-etil-4-fenil-7-{{3-(piperidinilmetil)oxi}-1H-imidazo-[4,5-c]piridin-2-il)-1,2,5-oxadiazol-3-amina, en lo sucesivo Compuesto V), el compuesto del Ejemplo 215 en la solicitud internacional n° PCT/US2004/024340 (compuesto trifluoroacetato de 4-[7-{{4-aminobutil}oxi}-2-(4-amino-1,2,5-oxadiazol-3-il)-1-etil-1H-imidazo[4,5-c]piridin-4-il}-2-metil-3-butin-2-ol, en lo sucesivo Compuesto W), el compuesto del Ejemplo 222 en la solicitud internacional n° PCT/US2004/024340 (compuesto trifluoroacetato de 4-{2-(4-amino-1,2,5-oxadiazol-3-il)-7-{{3-(aminopropil)oxi}-1-etil-1H-imidazo[4,5-c]piridin-4-il}-2-metil-3-butin-2-ol, en lo sucesivo Compuesto
30 X), el compuesto del Ejemplo 223 en la solicitud internacional n° PCT/US2004/024340 (compuesto trifluoroacetato de 4-{2-(4-amino-1,2,5-oxadiazol-3-il)-1-etil-7-{{4-(piperidinilmetil)oxi}-1H-imidazo[4,5-c]piridin-4-il}-2-metil-3-butin-2-ol, en lo sucesivo Compuesto Y) y el compuesto del Ejemplo 265 en la solicitud internacional n° PCT/US2004/024340 (compuesto 4-(2-(4-amino-1,2,5-oxadiazol-3-il)-1-etil-7-{{3-{{2-[4-(metiloxi)fenil]etil}amino}propil}oxi}-1H-imidazo[4,5-c]piridin-4-il)-2-metil-3-butin-2-ol, en lo sucesivo Compuesto Z).

117

Los compuestos R, S, T, U, V, W, X, Y y Z se pueden preparar como se describe en la solicitud internacional n° PCT/US2004/024340.

Ensayos celulares: Ensayo de inhibición del crecimiento con azul de metileno

- 5 Las líneas de células tumorales usadas en este ensayo fueron BT474 (carcinoma de mama humano) y LNCaP (metástasis del ganglio linfático de cáncer de próstata). También se incluye HFF (fibroblasto de prepucio humano). Todas las líneas de células se cultivaron en medio RPMI 1640 (Invitrogen Corporation 22400-071) que contenía Suero Bovino Fetal al 10% (FBS) a 37°C
- 10 en un incubador de CO₂ al 5% humidificado. Las células se recolectaron usando tripsina/EDTA, se contaron usando un hemacitómetro y se cultivaron en placas de cultivo tisular de 96 pocillos (Costar 35-3075), 100 ul por pocillo, en las siguientes densidades: BT474 15.000 células/pocillo, LNCaP 5.000 células/pocillo y HFF 5.000 células/pocillo. Soluciones madre 10 mM de
- 15 compuestos en DMSO se diluyeron en serie en DMSO mediante nueve diluciones a la tercera parte en placas de 96 pocillos (Costar Corning 3363), y se almacenaron a -80°C. El día siguiente, se descongelaron las diluciones de los compuestos y se transfirieron 4 ul de cada una a 662 ul de RPMI 1640 + 100 ug/ml de gentamicina, dando lugar al doble de las concentraciones de
- 20 ensayo finales requeridas. Se añadieron a todas las líneas de células 100 ul de compuestos diluidos en RPMI 1640. La concentración final de DMSO en todos los pocillos, incluyendo los controles, fue de 0,3%. Las células se incubaron a 37°C, CO₂ al 5% durante 3 días. El medio se separó por aspiración. La biomasa celular se estimó tiñendo células con 80 ul de azul de metileno (Sigma
- 25 M9140, 0,5% en etanol:agua 50:50), e incubando a temperatura ambiente durante 1 hora. La tinción se aspiró y las placas se aclararon por inmersión en agua, luego se secaron al aire. La tinción se separó de las células añadiendo 100 ul de solución solubilizante (N-lauroil sarcosina al 1%, sal sódica, Sigma L5125, en PBS) e incubando a temperatura ambiente durante al menos 30
- 30 minutos. Las placas se agitaron y se midió la densidad óptica a 620 nm en un lector de microplacas. La inhibición porcentual del crecimiento celular se calculó con respecto a pocillos control tratados con vehículo. La concentración de compuesto que inhibe el 60% del crecimiento celular (CI₅₀) se interpoló usando regresión no lineal (Levenberg-Marquadt) y la ecuación, $y = V_{max} * (1 - (x^n / (K^n + x^n))) + Y_2$. [Ref: Mager, M. E. (1972) Data Analysis in Biochemistry and Biophysics. New York: Academic Press]
- 35

118

Ejemplos	Ensayo de Inhibición del Crecimiento con Azul de Metileno, CI_{50} (uM)			Solubilidad en tampón fosfato 50 mM a pH 7,4 (uM)
	BT474 (carcinoma de mama humano)	LNCaP (metástasis del ganglio linfático de cáncer de próstata)	HFF (fibroblasto de prepucio humano normal)	
Compuesto R	17,71	1,42	19,9	0
Compuesto S	>30	7,77	>30	No ensayado
Compuesto T	>30	>30	18,9	0
Compuesto U	4,51		6,47	200
Compuesto V	1,870	1,640	0,57	9
Compuesto W	8,211	0,836	22,07	210
Compuesto X	0,241	0,258	18,147	173
Compuesto Y	2,593	0,217	>30	159
Compuesto Z	0,266	0,048	5,507	37
Ejemplo 1	0,484	0,016	>20	210
Ejemplo 2	1,00	0,189	>30	188
Ejemplo 3	0,006	0,004	>30	110
Ejemplo 4	0,037	0,015	>25	154
Ejemplo 5	1,032	0,459	20,1	83
Ejemplo 6	0,324	0,053	16,8	44
Ejemplo 7	0,186	0,083	>30	23
Ejemplo 8	0,665	0,272	>30	34
Ejemplo 9	0,080	0,049	9,39	129
Ejemplo 10	No ensayado	No ensayado	No ensayado	6

Los compuestos farmacéuticamente activos dentro del alcance de esta invención son útiles como inhibidores de AKT en mamíferos, en particular en seres humanos, que lo necesitan.

Por tanto, la presente invención proporciona un procedimiento para tratar cáncer, artritis y otros estados patológicos que requieren inhibición de AKT, que comprende administrar una cantidad eficaz de un compuesto de Fórmula (I) o una de sus sales, hidratos, solvatos o profármacos farmacéuticamente aceptables. Los compuestos de Fórmula (I) también proporcionan un procedimiento para tratar los estados de enfermedad anteriormente indicados debido a su capacidad para actuar como inhibidores

de Akt. El fármaco se puede administrar a un paciente que lo necesite por una vía convencional de administración, incluyendo, aunque sin quedar limitada a las mismas, intravenosa, intramuscular, oral, subcutánea, intradérmica y parenteral.

- 5 Los compuestos farmacéuticamente activos de la presente invención se incorporan en formas de dosificación convenientes tales como cápsulas, comprimidos o preparaciones inyectables. Se emplean vehículos farmacéuticos sólidos o líquidos. Vehículos sólidos incluyen almidón, lactosa, sulfato de calcio dihidratado, alabastro, sacarosa, talco, gelatina, agar, pectina, goma arábiga, 10 estearato de magnesio y ácido esteárico. Vehículos líquidos incluyen sirope, aceite de cacahuete, aceite de oliva, solución salina y agua. De igual forma, el vehículo puede incluir cualquier material de liberación prolongada, tal como monoestearato de glicerilo o distearato de glicerilo, solo o con una cera. La cantidad de vehículo sólido varía ampliamente aunque preferiblemente variará 15 de aproximadamente 25 mg a aproximadamente 1 g por unidad de dosis. Cuando se usa un vehículo líquido, la preparación estará, por ejemplo, en forma de un jarabe, elixir, emulsión, cápsula de gelatina blanda, líquido inyectable estéril tal como una ampolla, o una suspensión líquida acuosa o no acuosa.
- 20 Las preparaciones farmacéuticas se preparan siguiendo técnicas convencionales de la química farmacéutica que requieren, mezcla, granulación y compresión, cuando sea necesario, para formas en comprimido, o mezcla, rellenado y disolución de los ingredientes, cuando sea apropiado, para dar los productos orales o parenterales deseados.
- 25 Las dosis de los compuestos farmacéuticamente activos de la presente invención en una unidad de dosis farmacéutica que se describen antes serán una cantidad eficaz, no tóxica, preferiblemente seleccionada del intervalo de 0,001 - 100 mg/kg de compuesto activo, preferiblemente 0,001 - 50 mg/kg. Cuando se trata un paciente humano que necesita un inhibidor de Akt, la dosis 30 seleccionada se administra preferiblemente de 1 a 6 veces al día, oral o parenteralmente. Formas preferidas de administración parenteral incluyen las vías tópica, rectal, transdérmica, por inyección y por infusión continua. Las unidades de dosificación oral y/o parenteral para administración humana contienen preferiblemente de 0,05 a 3500 mg de compuesto activo.
- 35 Las dosis óptimas que se administran se pueden determinar por los expertos en la técnica y variarán con el inhibidor de Akt particular usado, la potencia de la preparación, el modo de administración y el avance del estado

170

de enfermedad. Otros factores que dependen del paciente particular que se está tratando necesitarán un ajuste de la dosis, incluyendo la edad, peso, dieta del paciente y tiempo de administración.

El procedimiento de esta invención de inducir actividad inhibidora de Akt en mamíferos, incluyendo seres humanos, comprende administrar a un sujeto que necesita dicha actividad una cantidad inhibidora de Akt eficaz de un compuesto de la presente invención farmacéuticamente activo.

La invención también proporciona el uso de un compuesto de Fórmula (I) en la fabricación de un medicamento para usar como un Akt.

La invención también proporciona el uso de un compuesto de Fórmula (I) en la fabricación de un medicamento para usar en terapia.

La invención también proporciona el uso de un compuesto de Fórmula (I) en la fabricación de un medicamento para usar en el tratamiento de cáncer.

La invención también proporciona el uso de un compuesto de Fórmula (I) en la fabricación de un medicamento para usar en el tratamiento de artritis.

La invención también proporciona una composición farmacéutica para usar como un inhibidor de Akt que comprende un compuesto de Fórmula (I) y un vehículo farmacéuticamente aceptable.

La invención también proporciona una composición farmacéutica para usar en el tratamiento de cáncer, que comprende un compuesto de Fórmula (I) y un vehículo farmacéuticamente aceptable.

La invención también proporciona una composición farmacéutica para usar en el tratamiento de artritis que comprende un compuesto de Fórmula (I) y un vehículo farmacéuticamente aceptable.

No se esperan efectos toxicológicos inaceptables cuando se administran los compuestos de la invención de acuerdo con la presente invención.

Además, los compuestos farmacéuticamente activos de la presente invención se pueden administrar de forma combinada con otros ingredientes activos, tales como otros compuestos conocidos por tratar cáncer o artritis, o compuestos conocidos por tener utilidad cuando se usan en combinación con un inhibidor de Akt.

Sin elaboración adicional, se cree que un experto en la técnica puede, usando la descripción anterior, utilizar la presente invención en su grado máximo. Por tanto, los siguientes ejemplos se considerarán meramente ilustrativos y no como una limitación del alcance de la presente invención en modo alguno.

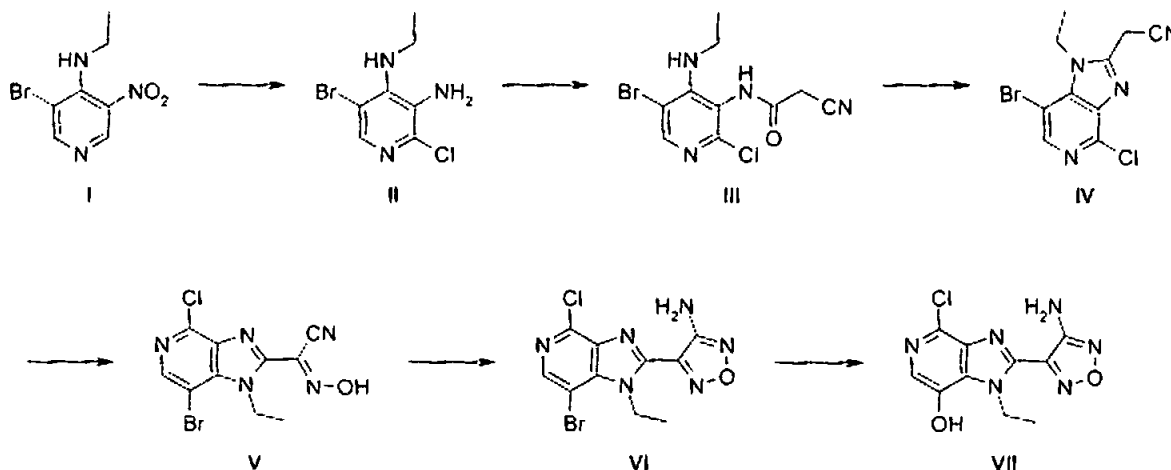
Detalles experimentales

121

Los compuestos de los Ejemplos 1 a 10 se preparan fácilmente de acuerdo con el Esquema 1 o por procedimientos análogos.

5

Intermedio VII



Preparación de 2-(4-amino-1,2,5-oxadiazol-3-il)-4-cloro-1-etil-1H-imidazo[4,5-c]piridin-7-ol

10

a) 5-Bromo-2-cloro-N⁴-etil-piridin-3,4-diamina (II)

Se disolvió 3-bromo-5-nitropiridin-4-il)amina (I, 700 g, 2,86 mol) en HCl concentrado (7 l) y se calentó hasta 85°C. Se añadió en porciones cloruro de estaño (II) (1626 g, 8,58 mol). La reacción se calentó a reflujo durante 1 hora y luego se dejó enfriar hasta temperatura ambiente durante la noche. El precipitado amarillo resultante se recogió por filtración, se suspendió en agua helada (5 l) y la mezcla se ajustó a pH 12 con NaOH 12N. La solución resultante se extrajo con CH₂Cl₂ (2 x 4 l) y los extractos orgánicos reunidos se secaron sobre Na₂SO₄. El disolvente se eliminó a presión reducida dando 550 g (77% de rendimiento) del compuesto deseado (II). Este se usó en la siguiente etapa sin purificación adicional. MS (ES⁺) m/z 250 (M+H)⁺.

20

b) N-[5-Bromo-2-cloro-4-(etilamino)-3-piridinil]-2-cianoacetamida(III)

Se añadieron hidrocloruro de 1-(3-dimetilaminopropil)-3-etilcarbodiimida (634,5 g, 3,31 mol), ácido cianoacético (282 g, 3,31 mol) y N-metilmorfolina (897 g, 8,84 mol) a una solución de 5-bromo-2-cloro-N⁴-etil-piridin-3,4-diamina (II, 550 g, 2,21 mol) en CH₂Cl₂ (5,5 l). Se observó una exotermia significativa

25

122

(~20°C) tras la adición del hidrocloreuro de 1-(3-dimetilaminopropil)-3-etilcarbodiimida y ácido cianoacético. Después de agitar a temperatura ambiente durante 2 horas, el disolvente se eliminó a presión reducida. El residuo resultante se extrajo con EtOAc caliente (40°C, 20 l) y agua (40°C, 8 l).

- 5 La fase acuosa se lavó con adición de EtOAc (10 l) y los extractos orgánicos reunidos se lavaron con agua (10 l). El extracto orgánico se concentró a presión reducida hasta una suspensión y se filtró. El sólido se lavó con EtOAc y se secó dando 534 g (76% de rendimiento) del compuesto deseado (III) como un sólido cristalino blanco. Este se usó en la siguiente etapa sin purificación
10 adicional. MS (ES+) m/z 317(M+H)⁺.

c) (7-Bromo-4-cloro-1-etil-1H-imidazo[4,5-c]piridin-2-il)-hidroxiimino-acetonitrilo (V)

- Se calentó hasta 100°C una solución de N-[5-bromo-2-cloro-4-
15 (etilamino)-3-piridinil]-2-cianoacetamida III, (458 g, 1,45 mol) en ácido acético glacial (4,6 l). Después de 3 h, el análisis por LC/MS indicó que la conversión a (7-bromo-4-cloro-1-etil-1H-imidazo[4,5-c]piridin-2-il)acetonitrilo (IV) era completa. Después de dejar enfriar hasta temperatura ambiente, la reacción se cargó con nitrato sódico (230 g, 3,34 mol) en porciones. Se observó generación
20 de gas vigorosa y espumación con una exotermia ~10°C. Después de agitar a temperatura ambiente durante 16 horas, el sólido se recogió por filtración y se secó hasta peso constante dando 545 g del producto deseado (V) como un sólido amarillo claro. Este se usó en la siguiente etapa sin purificación adicional. MS (ES+) m/z 328(M+H)⁺.

25

d) 4-(7-Bromo-4-cloro-1-etil-1H-imidazo[4,5-c]piridin-2-il)-1,2,5-oxadiazol-3-amina (VI)

- Se añadieron trietilamina (1 l) e hidroxilamina (143 g, 55% en agua) a una mezcla de (7-bromo-4-cloro-1-etil-1H-imidazo[4,5-c]piridin-2-il)-
30 hidroxiimino-acetonitrilo (V, 545 g, 1,45 mol) en dioxano (5 l). La reacción se calentó a reflujo durante 6 horas. Después de enfriar la reacción hasta temperatura ambiente, la mezcla se filtró y el filtrado se concentró a presión reducida dando un sólido marrón. El sólido se suspendió en metanol (1 l) y la suspensión se agitó a 65°C durante 0,5 h. El sólido se recogió por filtración y
35 se secó dando 321 g (70% de rendimiento) del compuesto deseado (VI). Este se usó en la siguiente etapa sin purificación adicional. MS (ES+) m/z 343(M+H)⁺.

e) 2-(4-Amino-1,2,5-oxadiazol-3-il)-4-cloro-1-etil-1H-imidazo[4,5-c]piridin-7-ol (VII)

Se enfrió en un baño de hielo seco/acetona hasta que la temperatura interna era inferior a -75°C una suspensión de 4-(7-bromo-4-cloro-1-etil-1H-imidazo[4,5-c]piridin-2-il)-1,2,5-oxadiazol-3-amina (VI, 50 g, 0,14 mol) en THF (1 l). Se añadió cloruro de isopropil magnesio (225 ml, 2M en éter, 0,45 mol) lentamente a una velocidad que mantenía la temperatura de reacción por debajo de -70°C. Después de otros 10 minutos, se añadió trimetil borato (54 ml, 0,48 mol) y la reacción se mantuvo en el baño de acetona y hielo seco durante 1 hora. El baño se retiró y se dejó que la reacción alcanzara la temperatura ambiente. Después de 18 horas, la suspensión amarilla resultante se enfrió hasta 0°C. Se añadió una solución de peróxido de hidrógeno al 30% (250 ml) y NaOH 3N (100 ml) a una velocidad que mantenía la temperatura de reacción por debajo de 40°C. El baño de hielo se retiró y la reacción se agitó vigorosamente a temperatura ambiente durante 2 horas. Se eliminó la mayor parte del disolvente orgánico a presión reducida y la fase acuosa se acidificó hasta pH 3 con HCl 1N. Después de agitar la suspensión resultante durante 30 minutos, se añadió acetato de etilo (200 ml). Después de agitar durante una hora más, el sólido se recogió por filtración. La torta del filtro se lavó secuencialmente con agua, acetato de etilo, tolueno y acetato de etilo. El sólido se secó hasta peso constante dando 35,9 g (88% de rendimiento) del compuesto deseado (VII) como un sólido amarillo pálido. Este se usó sin purificación adicional. MS (ES+) m/z 281,3 (M+H)⁺.

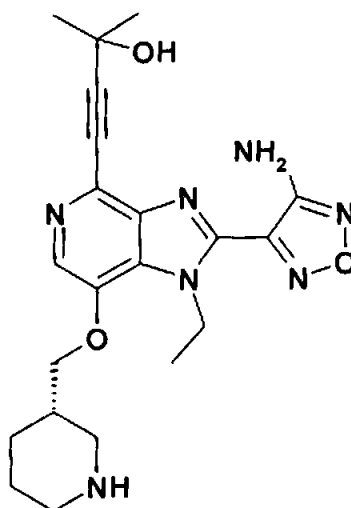
25

Ejemplo 1

Preparación de 4-(2-(4-amino-1,2,5-oxadiazol-3-il)-1-etil-7-((3S)-3-piperidinilmetil)oxi)-1H-imidazo[4,5-c]piridin-4-il)-2-metil-3-butin-2-ol

30

124



a) (3S)-3-(Bromometil)-1-piperidincarboxilato de 1,1-dimetiletilo

Se añadió gota a gota una solución de trifenil fosfina (42,4 g, 162 mmol) en cloruro de metileno (150 ml) a una solución de (3S)-3-(hidroximetil)-1-piperidincarboxilato de 1,1-dimetiletilo (30,0 g, 139 mmol) y tetrabromuro de carbono (72,0 g, 217 mmol) en cloruro de metileno (150 ml). Para mantener una temperatura interna entre 20 y 25°C se usó un baño de hielo durante la adición. Después de agitar la mezcla a temperatura ambiente durante 1 hora, se añadió ciclohexano (500 ml). Se eliminó aproximadamente la mitad del disolvente a presión reducida. La solución restante se enfrió en un baño de hielo y el precipitado resultante se eliminó por filtración. El filtrado se concentró a presión reducida y el residuo se sometió a cromatografía ultrarrápida (acetato de etilo de 0% a 25% /hexanos, gel de sílice) dando 35,1 g (91 % de rendimiento) del producto deseado como un sólido. MS (ES+) m/z 278 (M+H)⁺.

b) 3-([2-(4-Amino-1,2,5-oxadiazol-3-il)-4-cloro-1-etil-1H-imidazo[4,5-c]piridin-7-il]oxi)metil)-1-piperidincarboxilato de 1,1-dimetiletilo

Se agitó a 40°C durante 8 horas y luego a 35°C durante 18 horas una mezcla formada por el compuesto del intermedio VII (25,0 g, 89,1 mmol), carbonato de cesio (41,0 g, 126 mmol) y el compuesto del Ejemplo 1(a) (35,0 g, 126 mmol) en DMF (200 ml). La mezcla se vertió en agua helada agitada rápidamente (800 ml). Después de 10 minutos, se añadió acetato de etilo (300 ml) y la agitación continuó durante otros 20 minutos más. El sólido se recogió por filtración, se lavó con acetato de etilo (50 ml) y se secó dando 36 g (85% de

125

rendimiento) del compuesto deseado. MS (ES+) m/z 478 (M+H)⁺.

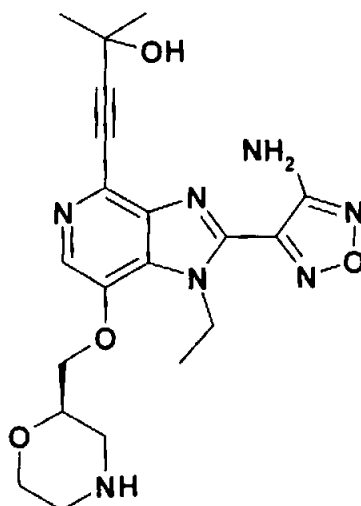
- 5 c) 3-([2-(4-amino-1,2,5-oxadiazol-3-il)-1-etil-4-(3-hidroxi-3-metil-1-butin-1-il)-1H-imidazo[4,5-c]piridin-7-il]oxi)metil)-1-piperidincarboxilato de 1,1-dimetiletilo

Se cargó un recipiente a presión de pared gruesa con el compuesto del Ejemplo 1(b) (36 g, 75,3 mmol), 2-metil-3-butin-2-ol (16 ml, 165 mmol), (Ph₃P)₄Pd (1 g, 0,86 mmol), polvo de Zn (1,0 g, 14,8 mmol), NaI (2,20 g, 14,8 mmol), DBU (16 ml, 107 mmol), trietilamina (15 ml, 109 mmol) y DMSO (300 ml). La mezcla se purgó con argón durante 10 minutos. El recipiente a presión se selló seguidamente y se calentó a 80°C durante 4 horas. La mezcla se vertió entonces en agua helada agitada rápidamente (1000 ml). Después de 10 minutos se añadió acetato de etilo (300 ml) y se continuó agitando durante otros 20 minutos. El sólido se recogió por filtración, se lavó con acetato de etilo (50 ml) y se secó dando 35,5 g (90% de rendimiento) del compuesto deseado. MS (ES+) m/z 526 (M+H)⁺.

- 20 d) 4-{2-(4-Amino-1,2,5-oxadiazol-3-il)-1-etil-7-[(3-piperidinilmetil)oxi]-1H-imidazo[4,5-c]piridin-4-il}-2-metil-3-butin-2-ol
- Se agitó a temperatura ambiente durante 2,5 horas el compuesto del Ejemplo 1(c) (35,0 g, 66,6 mmol) y TFA (350 ml de una solución al 20% en cloruro de metileno, 808 mmol). La solución se vertió lentamente en una mezcla agitada rápidamente de agua, NaOH (36 g, 900 mmol), acetato de etilo (200 ml) y THF (1000 ml). La fase orgánica se separó y la fase acuosa se extrajo con más acetato de etilo/THF (1:5 v/v, 150 ml). Los extractos orgánicos reunidos se lavaron con NaCl saturada, se secaron sobre Na₂SO₄. El disolvente se eliminó a vacío y el sólido resultante se recrystalizó en etanol caliente (1200 ml) dando 26,3 g (93% de rendimiento) del compuesto del epígrafe como un sólido cristalino blanco. MS (ES+) m/z 426 (M+H)⁺.

126

Ejemplo 2



5 Preparación de sal del ácido trifluoroacético de 4-(2-(4-amino-1,2,5-oxadiazol-3-il)-1-etil-7-((2R)-2-morfolinilmetil)oxi)-1H-imidazo[4,5-c]piridin-4-il)-2-metil-3-butin-2-ol

a) 2-(Hidroximetil)-4-morfolinacarboxilato de 1,1-dimetiletilo

10 Se enfrió hasta 0°C una solución de ácido 4-((1,1-dimetiletil)oxi)carbonil}-2-morfolinacarboxílico (2,0 g, 21,6 mmol) en THF (45 ml). Se añadió durante 25 minutos a través de un embudo de adición una solución de borano (39 ml, 39,0 mmol, 1M en THF). Después de calentar hasta temperatura ambiente, la reacción se inactivó mediante la adición gota a gota
15 de metanol/ácido acético (18 ml, 9:1 v/v). El disolvente se eliminó a presión reducida y el residuo se repartió entre acetato de etilo y HCl 1N. La fase acuosa se extrajo con acetato de etilo y los extractos reunidos se lavaron con agua, NaOH 1N, agua, salmuera y se secaron sobre sulfato sódico. La eliminación del disolvente a presión reducida proporcionó 1,83 g del material
20 deseado. RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ ppm 1,49 (s, 9 H) 2,30 (d ancho, J=11,37 Hz, 1H) 2,69 - 2,79 (m, J=9,51, 6,41, 3,28, 3,28 Hz, 1 H) 2,84 (ddd, J=13,77, 10,86, 3,16 Hz, 2 H) 3,27 - 3,38 (m, 1 H) 3,47 (s ancho, 1H) 3,63 - 3,75 (m, 2 H) 4,10 - 4,19 (m, 1 H) 4,27 (s ancho, 1H).

25 b) 2-(Bromometil)-4-morfolinacarboxilato de 1,1-dimetiletilo

Se añadió CBr₄ (5,50 g, 16,6 mmol) seguido por la adición gota a gota

127

de una solución de PPh_3 (4,60 g, 17,0 mmol) en diclorometano (80 ml) a una solución del compuesto del Ejemplo 2(a) (1,80 g, 8,30 mmol) en diclorometano (100 ml) a -20°C . Después de dejar que la mezcla se calentara hasta temperatura ambiente, el disolvente se eliminó a presión reducida. La cromatografía ultrarrápida (gel de sílice, EtOAc/hexanos) dio 2,40 g del compuesto deseado.

c) 2-({[2-(4-Amino-1,2,5-oxadiazol-3-il)-4-cloro-1-etil-1*H*-imidazo[4,5-*c*]piridin-7-il]oxi}metil)-4-morfolinacarboxilato de 1,1-dimetiletilo

Se agitaron a 35°C durante 22 horas el compuesto del intermedio VII (0,80 g, 2,90 mmol), el compuesto del Ejemplo 2(b) (0,80 g, 2,90 mmol) y carbonato de cesio (2,80g, 8,50 mmol) en DMF (50 ml). La reacción se inactivó con NH_4Cl saturado y se extrajo con EtOAc. Los extractos orgánicos se lavaron con agua, salmuera y se secaron sobre sulfato sódico. El disolvente se eliminó a presión reducida y el residuo se sometió a cromatografía ultrarrápida (gel de sílice, MeOH/ CH_2Cl_2) dando 0,57 g del compuesto deseado. MS (ES+) m/z 480 (M+H) $^+$.

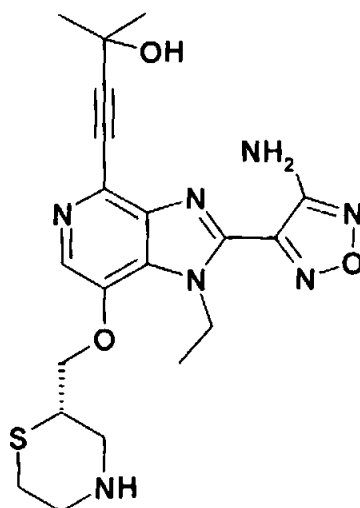
d) Sal del ácido ditrifluoroacético de 4-(2-(4-amino-1,2,5-oxadiazol-3-il)-1-etil-7-{{[2-morfolinilmetil]oxi}-1*H*-imidazo[4,5-*c*]piridin-4-il)-2-metil-3-butin-2-ol

Se cargó un recipiente a presión de paredes gruesas con el compuesto del Ejemplo 2(c) (0,50 g, 1,04 mmol), DBU (0,46 ml, 3,10 mmol), Et_3N (0,44 ml, 3,10 mmol), NaI (0,047 g, 0,31 mmol), polvo de zinc (0,020 g, 0,31 mmol) 2-metil-3-butin-2-ol (0,26 g, 3,10 mmol), $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$ (0,12 g, 0,10 mmol) y dioxano (20 ml). El recipiente a presión se selló seguidamente y se calentó hasta 80°C durante 17 horas. Después de enfriar hasta temperatura ambiente, la reacción se inactivó mediante la adición de NH_4Cl saturado. La fase acuosa se extrajo con EtOAc y los extractos reunidos se lavaron con agua, salmuera y se secaron sobre sulfato sódico. El disolvente se eliminó a presión reducida y el residuo se sometió a cromatografía ultrarrápida (gel de sílice, MeOH/ CH_2Cl_2) dando 2-({[2-(4-amino-1,2,5-oxadiazol-3-il)-1-etil-4-(3-hidroxi-3-metil-1-butin-1-il)-1*H*-imidazo[4,5-*c*]piridin-7-il]oxi}metil)-4-morfolinacarboxilato de 1,1-dimetiletilo. Este se disolvió en diclorometano (4 ml) y se trató con TFA (2 ml) a temperatura ambiente durante 1 hora. El disolvente se eliminó a presión reducida y el residuo se sometió a HPLC de fase inversa (YMC Combiscreen ODS-A 50 x 20mm, 20 ml/min, gradiente, A: acetonitrilo-TFA al 0,1%, B: agua-TFA al 0,1%, 10-80% de A durante 7 min, detección UV a 214) dando 0,15 g

MS

del compuesto del epígrafe. MS (ES+) m/z 428 (M+H)⁺.

Ejemplo 3



5

Preparación de dihidrocloruro de 4-(2-(4-amino-1,2,5-oxadiazol-3-il)-1-etil-7- {[(2S)-2-tiomorfolinilmetil]oxi}-1H-imidazo[4,5-c]piridin-4-il)-2-metil-3-butin-2-ol

- 10 a) (2S)-2-([2-(4-Amino-1,2,5-oxadiazol-3-il)-4-cloro-1-etil-1H-imidazo[4,5-c]piridin-7-il]oxi)metil)-4-tiomorfolinacarboxilato de 1,1-dimetiletilo

Se añadió carbonato de cesio anhidro (8,32 g, 25,0 mmol) y (2S)-2-(bromometil)-4-tiomorfolinacarboxilato de 1,1-dimetiletilo (2,50 g, 8,40 mmol) a una solución del compuesto del intermedio VII (2,36 g, 8,40 mmol) en DMF
15 (160 ml). Después de agitar a temperatura ambiente durante 16 horas, se añadió NH₄Cl saturado y la reacción se extrajo con EtOAc. Los extractos orgánicos reunidos se lavaron con agua, salmuera y se secaron sobre sulfato sódico. El disolvente se eliminó a presión reducida y el residuo se sometió a cromatografía ultrarrápida (MeOH/CH₂Cl₂, gel de sílice) dando 2,3 g del
20 compuesto deseado contaminados con 6-([2-(4-amino-1,2,5-oxadiazol-3-il)-4-cloro-1-etil-1H-imidazo[4,5-c]piridin-7-il]oxi)tetrahydro-1,4-tiazepin-4(5H)-carboxilato de 1,1-dimetiletilo. Este se usó sin purificación adicional en la siguiente etapa. MS (ES+) m/z 496 (M+H)⁺.

- 25 b) 4-(2-(4-Amino-1,2,5-oxadiazol-3-il)-1-etil-7-{[(2S)-2-tiomorfolinilmetil]oxi}-1H-imidazo[4,5-c]piridin-4-il)-2-metil-3-butin-2-ol

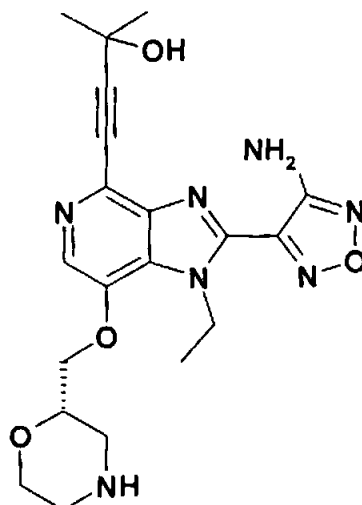
Se cargó un recipiente a presión de pared gruesa con los compuestos del Ejemplo 3(a) (0,18 g, 1,35 mmol), polvo de Zn (0,03 g, 0,40 mmol), NaI (0,06 g, 0,40 mmol), DBU (0,61 ml, 4,00 mmol), TEA (0,56 ml, 4,00 mmol), 2-metil-3-butin-2-ol (0,48 ml, 5,70 mmol), $(\text{Ph}_3\text{P})_4\text{Pd}$ (0,08 g, 0,08 mmol) y dioxano (35 ml). Después de purgar la mezcla con nitrógeno durante 10 minutos, el recipiente se selló y se calentó a 80°C durante 2,5 h. Después de dejar que la reacción se enfriara hasta temperatura ambiente, se añadió NH_4Cl saturado y la reacción se extrajo con EtOAc. Los extractos orgánicos reunidos se lavaron con agua, salmuera y se secaron sobre sulfato sódico. El disolvente se eliminó a presión reducida y el residuo se sometió a cromatografía ultrarrápida ($\text{MeOH}/\text{CH}_2\text{Cl}_2$, gel de sílice). El producto protegido con Boc se disolvió en TFA al 25%/CH₂Cl₂ (10 ml). Después de 30 minutos, el disolvente se eliminó a presión reducida. El residuo se repartió entre NaOH 1N y acetato de etilo. La fase acuosa se extrajo con más acetato de etilo. Los extractos orgánicos reunidos se lavaron con salmuera, se secaron sobre sulfato sódico. El disolvente se eliminó a presión reducida. La cromatografía ultrarrápida ($\text{MeOH}/\text{CH}_2\text{Cl}_2$, gel de sílice) dio 0,22 g (37% de rendimiento) del compuesto deseado. MS (ES+) m/z 444 (M+H)⁺.

20 c) Dihidrocloreuro de 4-(2-(4-amino-1,2,5-oxadiazol-3-il)-1-etil-7-(((2S)-2-tiomorfolinilmetil)oxi))-1H-imidazo[4,5-c]piridin-4-il)-2-metil-3-butin-2-ol

Se trató con HCl 4N en dioxano (0,25 ml, 1,00 mmol) una solución del compuesto del Ejemplo 3(b) (0,22 g, 5,00 mmol) en diclorometano (5 ml). Después de 30 minutos, el precipitado se aisló por filtración dando 0,21 g (82% de rendimiento) del compuesto del epígrafe como un sólido amarillo pálido. MS (ES+) m/z 444 (M+H)⁺.

130

Ejemplo 4



5 Preparación de 4-(2-(4-amino-1,2,5-oxadiazol-3-il)-1-etil-7-(((2S)-2-morfolinilmetil]oxi)-1H-imidazo[4,5-c]piridin-4-il)-2-metil-3-butin-2-ol

a) Hidrogenosulfato de 2-[(fenilmetil)amino]etilo

Se añadió ácido clorosulfónico (13,3 ml, 0,2 mol) muy lentamente a (2-
 10 [(fenilmetil)amino]etanol (30,2 g, 0,2 mol) en tetracloruro de carbono (100 ml) en un baño de hielo. La suspensión blanca espesa resultante se agitó a temperatura ambiente durante la noche. La suspensión se diluyó con cloroformo y etanol, se calentó hasta 45°C y luego se enfrió en un baño de hielo. El precipitado se recogió por filtración, se lavó con etanol y se secó a
 15 vacío durante 16 horas a 40°C proporcionando el compuesto deseado (34 g, 74%). MS(ES)⁺ m/z 232 [M+H]⁺.

b) (2S)-4-(Fenilmetil)-2-(((fenilmetil)oxi]metil)morfolina

Se añadió el compuesto del Ejemplo 4(a) (28,1 g, 0,116 mol) a (2S)-2-
 20 (((fenilmetil)oxi]metil)oxirano (19 g, 0,122 mol) en metanol/agua (75 ml/75 ml) en un baño de hielo. Se añadió hidróxido sódico (6M, 29 ml) durante 5 minutos y una vez completado se retiró el baño y se dejó agitando a temperatura ambiente durante 15 minutos. La reacción se agitó entonces a 40°C en un baño de aceite durante 3 horas. La reacción se enfrió rápidamente en un baño
 25 de hielo y se añadieron hidróxido sódico (28 g, 0,7 mol) y tolueno (150 ml). Después de 10 minutos, la reacción se calentó hasta 65°C durante 3 horas.

131

Después de dejar que la reacción se enfriara hasta temperatura ambiente, se separó la fase orgánica y la fase acuosa se extrajo de nuevo con tolueno. Los extractos orgánicos reunidos se lavaron con salmuera, se secaron con sulfato sódico, se filtraron y se concentraron a vacío. El residuo se purificó por
5 cromatografía ultrarrápida (gel de sílice, gradiente, acetato de etilo de 15% a 30% en hexano) proporcionando el compuesto deseado como un aceite (22,4 g, 65%). MS(ES)⁺ m/e 298 [M+H]⁺.

c) (2S)-2-(Hidroximetil)-4-morfolinacarboxilato de 1,1-dimetiletilo

10 Se añadió paladio al 10% sobre carbón (2,4 g) y ácido trifluoroacético (7,0 ml, 0,09 mol) a una solución del compuesto del Ejemplo 4(b) (22,4 g, 0,075 mol) en etanol (400 ml). La mezcla se agitó en hidrógeno a $3,47 \times 10^5$ Pa durante 24 horas. La reacción se filtró y se concentró a vacío. Se añadió una
15 solución de carbonato potásico (26 g) en agua (260 ml) al residuo, seguido por una solución de dicarbonato de di-*tert*-butilo (17 g) en acetato de etilo (500 ml). Después de 1 hora, la fase acuosa se separó y la fase orgánica se lavó con salmuera, se secó con sulfato sódico, se filtró y se concentró a vacío. El residuo se purificó por cromatografía ultrarrápida (gel de sílice, gradiente, acetato de etilo de 15% a 100% en hexano) proporcionando el compuesto
20 deseado como un aceite (8 g, 50%). MS(ES)⁺ m/e 218 [M+H]⁺.

d) (2S)-2-(Bromometil)-4-morfolinacarboxilato de 1,1-dimetiletilo

Se disolvieron en cloruro de metileno (100 ml) el compuesto del Ejemplo 4(c) (6,9 g, 0,032 mol) y tetrabromuro de carbono (15,8 g, 0,048 mol) y se
25 enfrió en un baño de hielo. Se añadió gota a gota durante 30 minutos una solución de trifenilfosfina (12,2 g, 0,046 mol) en cloruro de metileno (100 ml). Después de 1 hora a 0°C, se dejó que la reacción se calentara hasta temperatura ambiente y se agitó durante la noche. El volumen de reacción se redujo en ½ a vacío y se vertió sobre una almohadilla de gel de sílice y el
30 producto eluyó con acetato de etilo al 15% en hexano. El filtrado se concentró a vacío proporcionando el compuesto deseado como un aceite (8 g, 90%). MS(ES)⁺ m/e 281 [M+H]⁺.

e) (2S)-2-([2-(4-Amino-1,2,5-oxadiazol-3-il)-4-cloro-1-etil-1*H*-imidazo[4,5-
35 c]piridin-7-il]oxi}metil)-4-morfolinacarboxilato de 1,1-dimetiletilo

Se añadieron intermedio VII (7,8 g, 0,028 mol) y carbonato de cesio (11 g, 0,034 mol) a una solución del compuesto del Ejemplo 4(d) (10,9 g, 0,039

mol) en dimetilformamida (150 ml). Después de 72 h a 45°C, la reacción se vertió en cloruro amónico y agua (1,5 l) con agitación. El precipitado resultante se recogió por filtración y se lavó con NaOH 1M y agua. El sólido se disolvió en tetrahidrofurano y acetato de etilo (caliente) y se secó con sulfato sódico, se
5 filtró y se concentró a la mitad del volumen a vacío y se enfrió en un baño de hielo. El precipitado resultante se recogió, se lavó con acetato de etilo y se secó a vacío durante 2 horas a 40°C proporcionando el compuesto deseado (10,2 g, 76%). MS(ES)⁺ m/e 480 [M+H]⁺.

- 10 f) (2S)-2-((2-(4-Amino-1,2,5-oxadiazol-3-il)-1-etil-4-(3-hidroxi-3-metil-1-butin-1-il)-1H-imidazo[4,5-c]piridin-7-il)oxi)metil)-4-morfolinacarboxilato de 1,1-dimetiletilo

Se cargó un recipiente de reacción de pared gruesa con el compuesto del Ejemplo 4(e) (10,1 g, 0,021 mol), 2-metil-3-butin-2-ol (10,2 ml, 100 mmol),
15 zinc (0,27 g, 4,2 mmol), yoduro sódico (0,63 g, 4,2 mmol), trietilamina (5,8 ml, 0,42 mmol), 1,8-diazabicyclo[5,4,0]undec-7-eno (5,8 ml, 42 mmol), tetrakis(trifenilfosfina) paladio (0) (1,0 g, 0,84 mmol) y dimetilsulfóxido (100 ml). El recipiente de reacción se selló y se calentó a 80°C durante 3 horas. Después de enfriar hasta temperatura ambiente, la reacción se inactivó
20 vertiéndola en cloruro amónico saturado (1 l) y agitando durante 30 minutos. El sólido se recogió por filtración. La purificación por cromatografía ultrarrápida (gel de sílice, gradiente, metanol al 1% a 10% en cloroformo) dio el compuesto deseado como un sólido (10,5 g, 95%). MS(ES)⁺ m/z 528 [M+H]⁺.

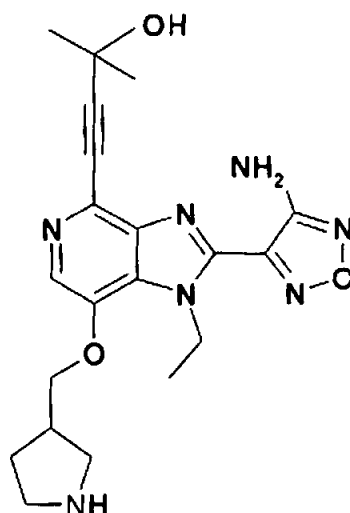
- 25 g) 4-(2-(4-Amino-1,2,5-oxadiazol-3-il)-1-etil-7-(((2S)-2-morfolinilmetil)oxi)-1H-imidazo[4,5-c]piridin-4-il)-2-metil-3-butin-2-ol

Se añadió ácido trifluoroacético (40 ml) a una suspensión del compuesto del Ejemplo 4(f) (14,2 g, 0,027 mol) en cloruro de metileno (150 ml). Después de 1 hora, el disolvente se eliminó a vacío. El residuo se evaporó en acetato de
30 etilo (2x) dando un sólido. El residuo se suspendió en agua y se trató con NaOH 1N en un baño de hielo hasta que la mezcla fue básica (pH 8). El precipitado se aisló por filtración, se lavó con agua, acetato de etilo y se secó en un horno a vacío a 40°C durante 4 horas. El sólido resultante se suspendió en etanol (1,5 l). Se añadió carbón activado Darco G60 (3,9 g) y la mezcla se
35 calentó a reflujo durante 90 minutos y se filtró mientras estaba caliente a través de Celite. El disolvente se eliminó y el sólido resultante se secó a alto vacío durante 24 horas a 40°C proporcionando el compuesto del epígrafe (78,5 g,

133

68%). MS(ES)⁺ m/e 428 [M+H]⁺.

Ejemplo 5



Preparación de sal del ácido bis-trifluoroacético de 4-{2-(4-amino-1,2,5-oxadiazol-3-yl)-1-etil-7-[(3-pirrolidinilmetil)oxi]-1H-imidazo[4,5-c]piridin-4-yl}-2-metil-3-butin-2-ol

a) 3-(Bromometil)-1-pirrolidinacarboxilato de 1,1-dimetiletilo

Se añadió gota a gota una solución de trifenilfosfina (0,73 g, 2,8 mmol en 5 ml de cloruro de metileno) a una solución de 3-(hidroximetil)-1-pirrolidinacarboxilato de 1,1-dimetiletilo (0,56 g, 2,8 mmol) con tetrabromuro de carbono (1,39 g, 4,2 mmol) en cloruro de metileno (10 ml). Tras completarse la mezcla se agitó 18 horas a temperatura ambiente. El disolvente se eliminó a presión reducida y el residuo se agitó en acetato de etilo al 10% - hexano al 90%. La mezcla se filtró y la solución resultante se sometió a cromatografía sobre gel de sílice eluyendo con un gradiente de EtOAc al 0 - 25% en hexano, proporcionando el compuesto deseado (0,41 g, 55%). MS (ES⁺) m/z 264 (M+H)⁺.

b) 3-([2-(4-Amino-1,2,5-oxadiazol-3-yl)-4-cloro-1-etil-1H-imidazo[4,5-c]piridin-7-yl]oxi)metil)-1-pirrolidinacarboxilato de 1,1-dimetiletilo.

Se agitó a temperatura ambiente durante 44 horas una mezcla compuesta por intermedio VII (100 mg, 0,35mmol) en DMF (2 ml) con

134

carbonato de cesio (290 mg, 0,9 mmol) y el compuesto del Ejemplo 5(a) (290 mg, 1,1 mmol). La mezcla se vertió en agua helada agitada rápidamente (7 ml) y continuó la agitación durante 10 minutos. Se añadió a esta mezcla ciclohexano (7 ml) y continuó la agitación durante otros 20 minutos. El sólido se
5 recogió por filtración y luego se lavó con ciclohexano y se secó a vacío proporcionando el compuesto deseado (111 mg, 69%). MS (ES+) m/z 464 (M+H)⁺.

c) 3-([2-(4-Amino-1,2,5-oxadiazol-3-il)-1-etil-4-(3-hidroxi-3-metil-1-butin-1-il)-1*H*-imidazo[4,5-*c*]piridin-7-il]oxi)metil)-1-pirrolidinacarboxilato de 1,1-dimetiletilo.
10

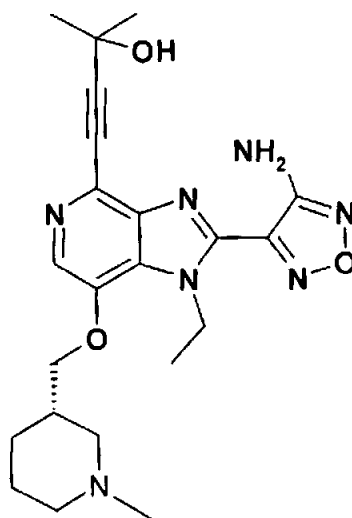
Se cargó un recipiente a presión de pared gruesa con el compuesto del Ejemplo 5(b) (100 mg, 0,22 mmol), 2-metil-3-butin-2-ol (0,25 ml, 2,6 mmol), (Ph₃P)₄Pd (30 mg), diisopropilamina (0,4 ml) y dioxano (4 ml). El recipiente se
15 selló y se agitó en atmósfera de argón a 100°C durante 6 horas. La mezcla se concentró a presión reducida y luego se trituró con acetato de etilo (4 ml) proporcionando el compuesto deseado (82 mg, 75%). MS (ES+) m/z 512 (M+H)⁺.

20 d) Sal del ácido bis-trifluoroacético de 4-{2-(4-amino-1,2,5-oxadiazol-3-il)-1-etil-7-[(3-pirrolidinilmetil)oxi]-1*H*-imidazo[4,5-*c*]piridin-4-il}-2-metil-3-butin-2-ol

Se agitó en una solución al 20% de TFA en cloruro de metileno (3 ml) a temperatura ambiente durante 20 minutos el compuesto del Ejemplo 5(c) (75 mg, 0,15 mmol). Se añadió tolueno (3 ml) y se eliminaron todos los volátiles a
25 presión reducida. El residuo se purificó por HPLC de fase inversa preparativa proporcionando el compuesto de epígrafe como la sal di-TFA (40 mg, 43%). MS (ES+) m/z 412 (M+H)⁺.

Ejemplo 6

135



5 Preparación de dihidrocloruro de 4-[2-(4-amino-1,2,5-oxadiazol-3-il)-1-etil-7-(((3S)-1-metil-3-piperidinil)metil)oxi]-1H-imidazo[4,5-c]piridin-4-il]-2-metil-3-butin-2-ol

a) [(3S)-1-Metil-3-piperidinil]metanol

10 Se añadió gota a gota a una solución agitada de hidruro de litio y aluminio (10,5 ml de solución 1M en THF, 10,5 mmol) en éter (15 ml) a 20°C una solución de (3S)-3-(hidroximetil)-1-piperidincarboxilato de 1,1-dimetiletilo (1,50 g, 7,0 mmol) en THF (5 ml). Después de 1,5 horas a temperatura ambiente, se añadió agua (0,4 ml) seguido por solución acuosa de hidróxido
15 sódico al 15% (0,4 ml) y luego agua (1,2 ml). Esta se agitó 20 minutos y luego se filtró. El filtrado se concentró a presión reducida dando 0,87 g usados en la siguiente etapa sin purificación adicional. MS (ES+) m/z 130,2 (M+H)⁺.

20 b) 4-[4-Cloro-1-etil-7-(((3S)-1-metil-3-piperidinil)metil)oxi]-1H-imidazo[4,5-c]piridin-2-il]-1,2,5-oxadiazol-3-amina

Se añadió gota a gota una solución de azodicarboxilato de dietilo (0,33 ml, 2,2 mmol) en cloruro de metileno (5 ml) a una mezcla agitada compuesta por el compuesto del Ejemplo 6(a) (0,260 g, 2 mmol) con polímero unido a
25 trifenilfosfina (1,56 g de 1,6 mmol/g polímero, 2,5 mmol) a 0°C. Se retiró el baño de enfriamiento y se continuó la agitación durante 20 minutos. Se añadió a esta mezcla a temperatura ambiente una solución del compuesto del

136

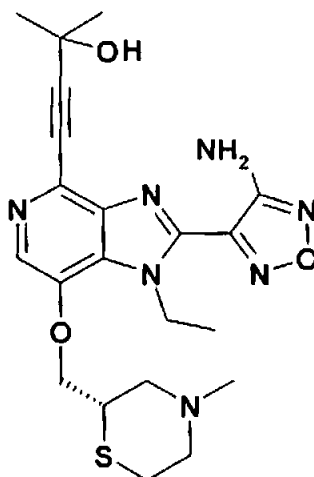
intermedio VII (280 mg, 1 mmol) en THF (40 ml). La mezcla se filtró y se añadió al filtrado acetato de etilo (60 ml). La solución resultante se lavó con agua (50 ml) y luego salmuera (50 ml). El extracto orgánico se secó sobre MgSO_4 , se filtró y el disolvente se eliminó a presión reducida dando 0,40 g de sólido bruto que se usó en la siguiente etapa sin purificación adicional. MS (ES+) m/z 392,3 (M+H)⁺.

c) Sal dihidrocloruro de 4-[2-(4-amino-1,2,5-oxadiazol-3-il)-1-etil-7-(((3S)-1-metil-3-piperidinil)metil)oxi)-1H-imidazo[4,5-c]piridin-4-il]-2-metil-3-butin-2-ol

Se cargó un recipiente a presión de pared gruesa con el compuesto del Ejemplo 1(b) (0,140 g, 0,35 mmol), polvo de Zn (0,02 g, 0,30 mmol), NaI (0,04 g, 0,27 mmol), DBU (0,10 ml, 0,66 mmol), TEA (0,075 ml, 0,53 mmol), 2-metil-3-butin-2-ol (0,40 ml, 4,14 mmol) y $(\text{Ph}_3\text{P})_4\text{Pd}$ (0,04 g, 0,03 mmol) en DMSO (2 ml). La mezcla se vertió en agua agitada rápidamente (10 ml) con acetato de etilo (5 ml) y ciclohexano (5 ml). El sólido resultante se recogió y luego cristalizó en etanol. El sólido cristalino se disolvió en etanol caliente y luego se añadió HCl (0,175 ml de solución 4M en dioxano, 0,70 mmol). El precipitado se recogió y se secó a presión reducida proporcionando el compuesto del epigrafe (0,148 g) MS (ES+) m/z 440,3 (M+H)⁺.

20

Ejemplo 7

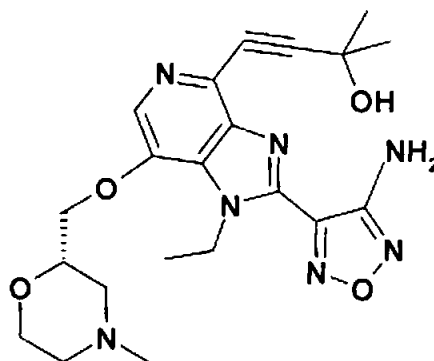


25 Preparación de 4-[2-(4-amino-1,2,5-oxadiazol-3-il)-1-etil-7-(((2S)-4-metil-2-tiomorfolinil)metil)oxi)-1H-imidazo[4,5-c]piridin-4-il]-2-metil-3-butin-2-ol

137

Se añadieron NaCNBH_3 (0,14 g, 2,20 mmol) y ácido acético (0,57 ml) a una solución del compuesto del Ejemplo 3(b) (0,88 g, 1,98 mmol) en MeOH (38 ml) a 0°C . Esto fue seguido por la adición gota a gota de formaldehído (0,25 ml). La reacción se dejó calentar hasta temperatura ambiente. Después de 18 horas, la reacción se vertió en NaHCO_3 acuoso al 50%. La solución se enfrió hasta 0°C y el precipitado resultante se recogió dando 0,90 g del compuesto deseado. MS(ES+) m/z 458,4 ($\text{M}+\text{H}$)⁺.

Ejemplo 8

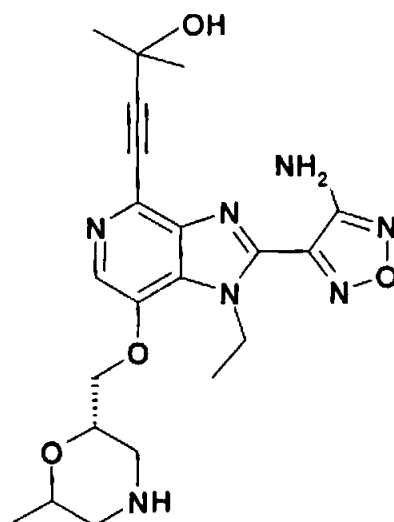


Preparación de 4-[2-(4-amino-1,2,5-oxadiazol-3-il)-1-etil-7-((2S)-4-metil-2-morfolinil)metil]oxi)-1H-imidazo[4,5-c]piridin-4-il]-2-metil-3-butin-2-ol

Se añadió formaldehído (37% en agua, 0,045 ml, 0,6 mmol) al compuesto del Ejemplo 4 (0,13 g, 0,30 mmol) suspendido en metanol (2 ml). Después de 5 minutos se añadió ácido acético (0,051 ml, 0,9 mmol) seguido por triacetoxiborohidruro sódico (0,16 g, 0,75 mmol). Después de 1 hora, el disolvente se eliminó a vacío y el residuo se suspendió en NaOH 1N y se extrajo con acetato de etilo/tetrahidrofurano. Los extractos orgánicos reunidos se lavaron con salmuera y se secaron sobre sulfato sódico. La eliminación del disolvente dio 0,10 g del compuesto deseado como un sólido. MS(ES+) m/z 442 [$\text{M}+\text{H}$]⁺.

138

Ejemplo 9



5 Preparación de dihidrocloruro de 4-[2-(4-amino-1,2,5-oxadiazol-3-il)-1-etil-7-
(((2R)-6-metil-2-morfolinil)metil)oxi)-1H-imidazo[4,5-c]piridin-4-il]-2-metil-3-
butin-2-ol

a) (2S)-1-(((2,4-Bis(metiloxi)fenil)metil)amino)-3-((fenilmetil)oxi)-2-propanol

Se añadió éter bencil (S)-(+)-glicídico (0,88 g, 5,40 mmol) a una
10 solución agitada de 2,4-dimetoxibencilamina (1,00 g, 5,99 mmol) en MeOH (30
ml) a temperatura ambiente. Después de 12 horas la reacción se concentró a
vacío. El residuo se disolvió en acetato de etilo (75 ml) y se lavó
secuencialmente con HCl 1N (25 ml) y salmuera (25 ml). La solución se secó
sobre MgSO₄, se filtró y el disolvente se eliminó a presión reducida dando 1,35
15 g del aceite bruto que se usó en la siguiente etapa sin purificación adicional.
MS (ES+) m/z 332,2 (M+H)⁺.

b) N-([2,4-Bis(metiloxi)fenil]metil)-2-bromo-N-((2R)-2-hidroxi-3-
((fenilmetil)oxi)propil)propanamida

20 Se añadió cloruro de 2-bromopropionilo (0,280 g, 1,65 mmol) a una
solución agitada del compuesto del Ejemplo 9(a) (0,50 g, 1,50 mmol) y
triethylamina (0,25 ml, 3,0 mmol) en CH₂Cl₂ (30 ml) a 0°C. Después de 12 horas
a temperatura ambiente, el disolvente se eliminó a presión reducida. Se
disolvió el residuo en acetato de etilo (75 ml) y se lavó secuencialmente con
25 HCl 1N (25 ml) y salmuera (25 ml). La solución se secó sobre MgSO₄, se filtró y
el disolvente se eliminó a presión reducida dando 0,51 g del aceite bruto que

139

se usó en la siguiente etapa sin purificación adicional. MS (ES+) m/z 467,2 (M+H)⁺.

5 c) (6R)-4-([2,4-Bis(metiloxi)fenil]metil)-2-metil-6-([(fenilmetil)oxi]metil)-3-morfolinona

Se agitó en nitrógeno a temperatura ambiente durante 16 horas una mezcla del compuesto del Ejemplo 9(b) (0,40 g, 0,86 mmol) e hidruro sódico (0,067 g, 1,37 mmol) en THF (15 ml). La reacción se diluyó con acetato de etilo (50 ml), se lavó con agua (3x15 ml) y salmuera (20 ml). La solución se secó sobre MgSO₄, se filtró y el disolvente se eliminó a presión reducida dando el
10 producto deseado. La HPLC preparativa (columna YMC-Pack ODS-A, 30 mm de d.i. x 75 mm, 20 ml/min, gradiente, A: agua-ácido trifluoroacético al 0,1%, B: acetonitrilo-ácido trifluoroacético al 0,1%, acetonitrilo al 10-90% durante 12 min, detección UV a 254 nm) dio 0,245 g (74% de rendimiento) del compuesto
15 del epigrafe. MS (ES+) m/z 386,2 (M+H)⁺.

d) (6R)-4-([2,4-Bis(metiloxi)fenil]metil)-2-metil-6-([(fenilmetil)oxi]metil)-morfolina

Se añadió LAH (1M, 0,60 ml) a 0°C en nitrógeno a una solución del
20 compuesto del Ejemplo 9(c) (0,200 g, 0,51 mmol) en THF. La reacción se calentó hasta temperatura ambiente y se agitó durante 12 horas. Se añadió a la reacción agua (0,02 ml), lentamente a 0°C y NaOH 1N (0,02 ml), se dejó la mezcla agitando a temperatura ambiente durante 1 hora. Se añadió más agua (0,07 ml) y se agitó durante 30 min. La mezcla se filtró. Los sólidos se lavaron
25 varias veces con acetato de etilo. El filtrado se concentró a presión reducida dando 0,12 g del aceite bruto que se usó en la siguiente etapa sin purificación adicional. MS (ES+) m/z 372,2 (M+H)⁺.

e) (6R)-2-Metil-6-([(fenilmetil)oxi]metil)morfolina

30 Se trató con cloroformiato de 1-cloroetilo (0,10 ml, 1,4 mmol) una solución del compuesto del Ejemplo 9(d) (0,12 g, 0,32 mmol) en CH₂Cl₂ (5 ml) a temperatura ambiente. La reacción se agitó a reflujo durante 2 horas, el disolvente se eliminó a presión reducida dando un residuo bruto. El residuo se disolvió en MeOH (5 ml) y se agitó a reflujo durante 1 hora. El disolvente se
35 eliminó a presión reducida dando un residuo bruto, 0,51 g del aceite bruto que se usó en la siguiente etapa sin purificación adicional. MS (ES+) m/z 222,2 (M+H)⁺.

MP

f) (6R)-2-Metil-6-(((fenilmetil)oxi)metil)-4-morfolinacarboxilato de 1,1-dimetiletilo

Se trató con dicarbonato de di-*tert*-butilo (0,22 g, 1,0 mmol) una
5 solución del compuesto del Ejemplo 9(e) (0,20 g, 0,90 mmol) en CH₃CN (5 ml)
a temperatura ambiente. La eliminación de los orgánicos dio un residuo bruto.
La HPLC preparativa (columna YMC-Pack ODS-A, 30 mm de d.i. x 75 mm, 20
ml/min, gradiente, A: agua-ácido trifluoroacético al 0,1%, B: acetonitrilo-ácido
trifluoroacético al 0,1%, acetonitrilo al 10-90% durante 12 min, detección UV a
10 254 nm) dio 0,214 g (79% de rendimiento) del compuesto del epígrafe. MS
(ES+) m/z 322,2 (M+H)⁺.

g) (2R)-2-(Hidroximetil)-6-metil-4-morfolinacarboxilato de 1,1-dimetiletilo

Se trató con hidróxido de paladio (0,10 g) una solución del compuesto
15 del Ejemplo 9(f) (0,20 g, 0,62 mmol) en EtOH (5 ml). La mezcla se colocó en
un aparato de Parr y se agitó durante 16 horas en una atmósfera de $3,81 \times 10^5$
Pa de H₂. La mezcla se filtró sobre una almohadilla de Celite y se lavó con
MeOH (25 ml). El filtrado se concentró a presión reducida dando 0,15 g del
aceite bruto que se usó en la siguiente etapa sin purificación adicional. MS
20 (ES+) m/z 232,2 (M+H)⁺.

h) (6R)-2-Metil-6-(((4-metilfenil)sulfonil)oxi)metil)-4-morfolinacarboxilato de 1,1-dimetiletilo

Se añadieron trietilamina (0,10 ml), dimetilaminopiridina (0,02 g) y
25 cloruro de tosilo (0,15 g, 0,79 mmol) a una solución del compuesto del Ejemplo
9(g) (0,15 g, 0,65 mmol) en CH₂Cl₂ (5 ml). Después de 12 horas la reacción se
concentró a vacío. El residuo se disolvió en acetato de etilo (75 ml) y se lavó
secuencialmente con HCl 1N (25 ml) y salmuera (25 ml). La solución se secó
sobre MgSO₄, se filtró y el disolvente se eliminó a presión reducida dando un
30 residuo bruto. El residuo bruto se sometió a cromatografía ultrarrápida (EtOAc
al 25-100%/Hex, gel de sílice) dando 0,14 g del compuesto deseado como un
sólido amarillo claro. MS (ES+) m/z 286,2 (M+H-BOC)⁺, no se observó ion
principal.

35 i) (2S)-2-({[2-(4-Amino-1,2,5-oxadiazol-3-il)-4-cloro-1-etil-1H-imidazo[4,5-
c]piridin-7-il]oxi)metil}-6-metil-4-morfolinacarboxilato de 1,1-dimetiletilo

Se agitó en nitrógeno a 50°C durante 16 horas una mezcla del

MI

compuesto del Ejemplo 9(h) (0,14 g, 0,36 mmol), el compuesto del intermedio VII (0,11 g, 0,40 mmol) y carbonato de cesio (0,20 g, 0,55 mmol) en DMF (9 ml). Después de dejar que la reacción se enfriara a temperatura ambiente, la mezcla se diluyó con acetato de etilo (50 ml), se lavó con agua (3x15 ml) y salmuera (20 ml). La solución se secó sobre MgSO_4 , se filtró y el disolvente se eliminó a presión reducida dando el producto deseado. La HPLC preparativa (columna YMC-Pack ODS-A, 30 mm de d.i. x 75 mm, 20 ml/min, gradiente, A: agua-ácido trifluoroacético al 0,1%, B: acetonitrilo-ácido trifluoroacético al 0,1%, acetonitrilo al 10-90% durante 12 min, detección UV a 254 nm) dio 0,124 g (70% de rendimiento) del compuesto del epígrafe como un sólido blanco. MS (ES+) m/z 494,2 (M+H)⁺.

j) (2S)-2-({[2-(4-Amino-1,2,5-oxadiazol-3-il)-1-etil-4-(3-hidroxi-3-metil-1-butin-1-il)-1H-imidazo[4,5-c]piridin-7-il]oxi}metil)-6-metil-4-morfolinacarboxilato de 1,1-dimetiletilo

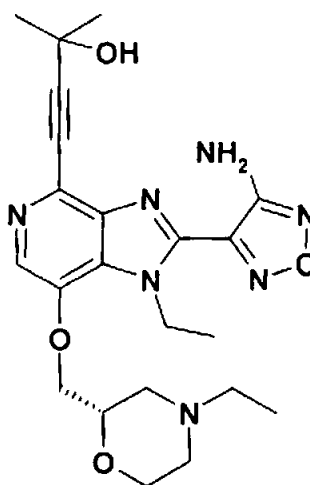
Se cargó un recipiente a presión de pared gruesa con el compuesto del Ejemplo 9(i) (0,124 g, 0,25 mmol), polvo de Zn (0,02 g, 0,30 mmol), NaI (0,04 g, 0,27 mmol), DBU (0,20 ml, 1,32 mmol), TEA (0,15 ml, 1,07 mmol), 2-metil-3-butin-2-ol (0,20 ml, 2,07 mmol) y $(\text{Ph}_3\text{P})_4\text{Pd}$ (0,04 g, 0,03 mmol) en DMSO (5 ml). Después de purgar con nitrógeno durante 10 minutos, el recipiente de reacción se selló y se calentó a 80°C durante 3 horas. La mezcla de reacción se diluyó con agua y se extrajo con acetato de etilo. Los extractos orgánicos se lavaron con agua, salmuera y se secaron sobre sulfato sódico. El disolvente se eliminó a presión reducida proporcionando un residuo amarillo claro. El residuo bruto se sometió a cromatografía ultrarrápida (MeOH al 0-10% / CHCl_3 , gel de sílice) dando otros 0,10 g más del compuesto deseado como un sólido amarillo claro. MS (ES+) m/z 541 (M+H)⁺.

k) Sal dihidrocloruro de 4-[2-(4-amino-1,2,5-oxadiazol-3-il)-1-etil-7-({[(2S)-6-metil-2-morfolinil]metil}oxi)-1H-imidazo[4,5-c]piridin-4-il]-2-metil-3-butin-2-ol

Se añadió HCl 4N en 1,4-dioxano (3,5 ml, 0,18 mmol) a una solución del compuesto del Ejemplo 9(j) (0,10 g, 0,18 mmol) en metanol (5 ml). Después de tres horas a temperatura ambiente, el disolvente se eliminó a presión reducida. El residuo se trituró con diclorometano y el sólido se recogió por filtración dando 0,063 g del compuesto del epígrafe como sólido amarillo claro. MS (ES+) m/z 441 (M+H)⁺.

142

Ejemplo 10



5 Preparación de 4-[2-(4-amino-1,2,5-oxadiazol-3-il)-1-etil-7-({[(2S)-4-etil-2-morfolinil]metil}oxi)-1H-imidazo[4,5-c]piridin-4-il]-2-metil-3-butin-2-ol

Se añadieron acetaldehído (0,034 ml, 0,61 mmol) y ácido acético (0,052 ml, 0,90 mmol) a una solución del compuesto del Ejemplo 4 (0,13 g, 0,30 mmol) en MeOH (4 ml) a 0°C. Esto fue seguido por la adición de NaCNBH₃ (0,048 g, 0,76 mmol). Se dejó que la reacción se calentara hasta temperatura ambiente. Después de 18 horas, la reacción se vertió en NaHCO₃ acuoso al 50%. La solución se enfrió hasta 0°C y el precipitado resultante se recogió dando 0,10 g del compuesto deseado. MS (ES+) m/z 456,4 (M+H)⁺.

15 Ejemplo 11 - Composición de cápsula

Se produce una forma de dosificación oral para administrar la presente invención llenando una cápsula de gelatina de dos piezas convencional con los ingredientes en las proporciones mostradas a continuación en la Tabla I.

20

Tabla I

<u>INGREDIENTES</u>	<u>CANTIDADES</u>
4-(2-(4-Amino-1,2,5-oxadiazol-3-il)-1-etil-7-({[(3S)-3-piperidinilmetil]oxi}-1H-imidazo[4,5-c]piridin-4-il)-2-metil-3-butin-2-ol	25 mg
Lactosa	55 mg
Talco	16 mg
Estearato de magnesio	4 mg

M3

Ejemplo 12 - Composición parenteral inyectable

Se produce una forma inyectable para administrar la presente invención agitando 1,5% en peso de 4-(2-(4-amino-1,2,5-oxadiazol-3-il)-1-etil-7-(((2S)-2-tiomorfolinilmetil]oxi)-1H-imidazo[4,5-c]piridin-4-il)-2-metil-3-butin-2-ol, en 10% en volumen de propilenglicol en agua.

Ejemplo 13 - Composición de comprimido

Se mezclan la sacarosa, el sulfato de calcio dihidratado y un inhibidor de Akt como se muestra en la Tabla II, a continuación, y se granulan en las proporciones mostradas con una solución de gelatina al 10%. Los gránulos húmedos se tamizan, se secan, se mezclan con el almidón, el talco y el ácido esteárico, se tamizan y se comprimen en un comprimido.

Tabla II

<u>INGREDIENTES</u>	<u>CANTIDADES</u>
Dihidrocloruro de 4-(2-(4-amino-1,2,5-oxadiazol-3-il)-1-etil-7-(((2S)-2-tiomorfolinilmetil]oxi)-1H-imidazo[4,5-c]piridin-4-il)-2-metil-3-butin-2-ol	20 mg
Sulfato de calcio deshidratado	30 mg
Sacarosa	4 mg
Almidón	2 mg
Talco	1 mg
Acido esteárico	0,5 mg

Aunque las realizaciones preferidas de la invención se ilustran en la descripción anterior, se sobreentiende que la invención no queda limitada por las instrucciones precisas descritas en la presente memoria y que se reserva el derecho a todas las modificaciones que puedan encontrarse dentro del alcance de las siguientes reivindicaciones.



REIVINDICACIONES

1. A compuesto seleccionado de:

- 5 4-(2-(4-amino-1,2,5-oxadiazol-3-il)-1-etil-7-(((3S)-3-piperidinilmetil)oxi)-
1H-imidazo[4,5-c]piridin-4-il)-2-metil-3-butin-2-ol;
 4-(2-(4-amino-1,2,5-oxadiazol-3-il)-1-etil-7-(((2S)-2-tiomorfolinilmetil)oxi)-
1H-imidazo[4,5-c]piridin-4-il)-2-metil-3-butin-2-ol;
 4-(2-(4-amino-1,2,5-oxadiazol-3-il)-1-etil-7-(((2S)-2-morfolinilmetil)oxi)-
10 1H-imidazo[4,5-c]piridin-4-il)-2-metil-3-butin-2-ol; y
 4-[2-(4-amino-1,2,5-oxadiazol-3-il)-1-etil-7-(((2R)-6-metil-2-
morfolinil)metil)oxi)-1H-imidazo[4,5-c]piridin-4-il)-2-metil-3-butin-2-ol;

y/o sus sales, hidratos, solvatos y profármacos farmacéuticamente aceptables.

15

2. Un compuesto de la reivindicación 1, que es:

 4-(2-(4-amino-1,2,5-oxadiazol-3-il)-1-etil-7-(((3S)-3-piperidinilmetil)oxi)-
1H-imidazo[4,5-c]piridin-4-il)-2-metil-3-butin-2-ol;

20 y/o sus sales, hidratos, solvatos y profármacos farmacéuticamente aceptables.

3. Un compuesto de la reivindicación 1, que es:

 4-(2-(4-amino-1,2,5-oxadiazol-3-il)-1-etil-7-(((2S)-2-tiomorfolinilmetil)oxi)-
1H-imidazo[4,5-c]piridin-4-il)-2-metil-3-butin-2-ol;

25

y/o sus sales, hidratos, solvatos y profármacos farmacéuticamente aceptables.

4. Un compuesto de la reivindicación 1, que es:

 4-(2-(4-amino-1,2,5-oxadiazol-3-il)-1-etil-7-(((2S)-2-morfolinilmetil)oxi)-
30 1H-imidazo[4,5-c]piridin-4-il)-2-metil-3-butin-2-ol;

y/o sus sales, hidratos, solvatos y profármacos farmacéuticamente aceptables.

5. Un compuesto de la reivindicación 1, que es:

35 4-[2-(4-amino-1,2,5-oxadiazol-3-il)-1-etil-7-(((2R)-6-metil-2-
morfolinil)metil)oxi)-1H-imidazo[4,5-c]piridin-4-il)-2-metil-3-butin-2-ol;

y/o sus sales, hidratos, solvatos y profármacos farmacéuticamente aceptables.

5 6. Una composición farmacéutica que comprende un compuesto según la reivindicación 1, y/o una de sus sales, hidratos, solvatos o profármacos farmacéuticamente aceptables y un vehículo farmacéuticamente aceptable.

10 7. Una composición farmacéutica que comprende un compuesto según la reivindicación 2, y/o una de sus sales, hidratos, solvatos o profármacos farmacéuticamente aceptables y un vehículo farmacéuticamente aceptable.

15 8. Un procedimiento para preparar una composición farmacéutica que contiene un vehículo farmacéuticamente aceptable y una cantidad eficaz de un compuesto de la reivindicación 1 y/o una de sus sales, hidratos, solvatos o profármacos farmacéuticamente aceptables, comprendiendo dicho procedimiento poner el compuesto de Fórmula (I) y/o una de sus sales, hidratos, solvatos o profármacos farmacéuticamente aceptables en asociación con un vehículo farmacéuticamente aceptable.

20

25 9. Un procedimiento para tratar o reducir la gravedad de una enfermedad o estado patológico seleccionado de cáncer y artritis en un mamífero que lo necesita, que comprende administrar a dicho mamífero una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de Fórmula I, como se describe en la reivindicación 1 y/o una de sus sales, hidratos, solvatos o profármacos farmacéuticamente aceptables.

30 10. El procedimiento de la reivindicación 9, en el que el mamífero es un ser humano.

30

35 11. Un procedimiento para tratar o reducir la gravedad de una enfermedad o estado patológico seleccionado de cáncer y artritis en un mamífero que lo necesita, que comprende administrar a dicho mamífero una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de la reivindicación 2 y/o una de sus sales, hidratos, solvatos o profármacos farmacéuticamente aceptables.



12. El procedimiento de la reivindicación 11, en el que el mamífero es un ser humano.

13. Procedimiento según la reivindicación 9, en el que dicho cáncer se selecciona de cerebro (gliomas), glioblastomas, síndrome de Bannayan-Zonana, enfermedad de Cowden, enfermedad de Lhermitte-Duclos, mama, colon, cabeza y cuello, riñón, pulmón, hígado, melanoma, ovario, pancreático, próstata, sarcoma y tiroides.

14. Procedimiento según la reivindicación 11, en el que dicho cáncer se selecciona de cerebro (gliomas), glioblastomas, síndrome de Bannayan-Zonana, enfermedad de Cowden, enfermedad de Lhermitte-Duclos, mama, colon, cabeza y cuello, riñón, pulmón, hígado, melanoma, ovario, pancreático, próstata, sarcoma y tiroides.

15. Uso de un compuesto de Fórmula (I), como se describe en la reivindicación 1 y/o una de sus sales, hidratos, solvatos o profármacos farmacéuticamente aceptables, en la fabricación de un medicamento para usar en el tratamiento o reducción de la gravedad de una enfermedad o estado patológico seleccionado de cáncer y artritis.

16. Procedimiento para inhibir la actividad de Akt en un mamífero que lo necesita, que comprende administrar a dicho mamífero una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de Fórmula I, como se describe en la reivindicación 1 y/o una de sus sales, hidratos, solvatos o profármacos farmacéuticamente aceptables.

17. El procedimiento de la reivindicación 16, en el que el mamífero es un ser humano.

18. Un procedimiento para tratar cáncer en un mamífero que lo necesita, que comprende: administrar de forma combinada a dicho mamífero una cantidad terapéuticamente eficaz de

- a) un compuesto de la reivindicación 1 y/o una de sus sales, hidratos, solvatos o profármacos farmacéuticamente aceptables; y
- b) al menos un agente antineoplásico.

19. Procedimiento según la reivindicación 18, en el que el al menos un agente antineoplásico se selecciona del grupo consistente esencialmente en agentes antimicrotúbulos, complejos de coordinación de platino, agentes alquilantes, antibióticos, inhibidores de topoisomerasa II, antimetabolitos,
- 5 inhibidores de topoisomerasa I, hormonas y análogos hormonales, inhibidores de la vía de traducción de señal; inhibidores de la angiogénesis tirosina quinasa no receptor; agentes inmunoterapéuticos; agentes proapoptóticos; e inhibidores de la señalización del ciclo celular.
- 10 20. Procedimiento según la reivindicación 18, en el que el al menos un agente antineoplásico es un agente antimicrotúbulos seleccionado de diterpenoides y alcaloides de la vinca.
21. Procedimiento según la reivindicación 18, en el que el al menos
- 15 un agente antineoplásico es un diterpenoide.
22. Procedimiento según la reivindicación 18, en el que el al menos un agente antineoplásico es un alcaloide de la vinca.
- 20 23. Procedimiento según la reivindicación 18, en el que el al menos un agente antineoplásico es un complejo de coordinación de platino.
24. Procedimiento según la reivindicación 18, en el que el al menos un agente antineoplásico es paclitaxel, carboplatino o vinorelbina.
- 25 25. Procedimiento según la reivindicación 18, en el que el al menos un agente antineoplásico es paclitaxel.
26. Procedimiento según la reivindicación 18, en el que el al menos
- 30 un agente antineoplásico es carboplatino.
27. Procedimiento según la reivindicación 18, en el que el al menos un agente antineoplásico es vinorelbina.
- 35 28. Procedimiento según la reivindicación 18, en el que el al menos un agente antineoplásico es un inhibidor de la vía de traducción de señales.

29. Procedimiento según la reivindicación 28, en el que el inhibidor de la vía de traducción de señales es un inhibidor de una quinasa receptor del factor de crecimiento seleccionado del grupo consistente en VEGFR2, TIE2, PDGFR, BTK, IGFR-1, TrkA, TrkB, TrkC y c-fms.

5

30. Procedimiento según la reivindicación 28, en el que el inhibidor de la vía de traducción de señales es un inhibidor de una serina/treonina quinasa seleccionada del grupo consistente en rafk, akt y PKC-zeta.

10

31. Procedimiento según la reivindicación 28, en el que el inhibidor de la vía de traducción de señales es un inhibidor de una serina/treonina quinasa seleccionada de la familia src de quinasas.

15

32. Procedimiento según la reivindicación 31, en el que el inhibidor de la vía de traducción de señales es un inhibidor de c-src.

20

33. Procedimiento según la reivindicación 28, en el que el inhibidor de la vía de traducción de señales es un inhibidor del oncogen Ras seleccionado de inhibidores de farnesil transferasa y geranilgeranil transferasa.

25

34. Procedimiento según la reivindicación 28, en el que el inhibidor de la vía de traducción de señales es un inhibidor de una serina/treonina quinasa seleccionado del grupo consistente en PI3K.

35. Procedimiento según la reivindicación 18, en el que el al menos un agente antineoplásico es un inhibidor de la señalización del ciclo celular.

30

36. Procedimiento según la reivindicación 35, en el que el inhibidor de la señalización del ciclo celular se selecciona de inhibidores del grupo CDK2, CDK4 y CDK6.

37. Una combinación farmacéutica según la reivindicación 18 para usar en terapia.

35

38. El uso de una combinación farmacéutica según la reivindicación 18 para la preparación de un medicamento útil en el tratamiento de cáncer.

39. Un procedimiento de tratamiento o reducción de la gravedad de

una enfermedad o estado patológico seleccionado de cáncer y artritis en un mamífero que lo necesite, que comprende administrar a dicho mamífero una cantidad terapéuticamente eficaz de 4-(2-(4-amino-1,2,5-oxadiazol-3-il)-1-etil-7-
5 una de sus sales, hidratos, solvatos o profármacos farmacéuticamente aceptables.

40. Un procedimiento de tratamiento o reducción de la gravedad de una enfermedad o estado patológico seleccionado de cáncer y artritis en un
10 mamífero que lo necesite, que comprende administrar a dicho mamífero una cantidad terapéuticamente eficaz de 4-(2-(4-amino-1,2,5-oxadiazol-3-il)-1-etil-7-
15 {[(2S)-2-tiomorfolinilmetil]oxi}-1H-imidazo[4,5-c]piridin-4-il)-2-metil-3-butin-2-ol y/o una de sus sales, hidratos, solvatos o profármacos farmacéuticamente aceptables.

41. Un procedimiento de tratamiento o reducción de la gravedad de una enfermedad o estado patológico seleccionado de cáncer y artritis en un mamífero que lo necesite, que comprende administrar a dicho mamífero una cantidad terapéuticamente eficaz de 4-(2-(4-amino-1,2,5-oxadiazol-3-il)-1-etil-7-
20 {[(2S)-2-morfolinilmetil]oxi}-1H-imidazo[4,5-c]piridin-4-il)-2-metil-3-butin-2-ol y/o una de sus sales, hidratos, solvatos o profármacos farmacéuticamente aceptables.

42. Un procedimiento de tratamiento o reducción de la gravedad de una enfermedad o estado patológico seleccionado de cáncer y artritis en un
25 mamífero que lo necesite, que comprende administrar a dicho mamífero una cantidad terapéuticamente eficaz de 4-[2-(4-amino-1,2,5-oxadiazol-3-il)-1-etil-7-
30 {[(2R)-6-metil-2-morfolinil]metil]oxi}-1H-imidazo[4,5-c]piridin-4-il)-2-metil-3-butin-2-ol y/o una de sus sales, hidratos, solvatos o profármacos farmacéuticamente aceptables.

RESUMEN DE LA DESCRIPCIÓN

150

Se han inventado nuevos compuestos de 1H-imidazo[4,5-c]piridin-2-ilo,
el uso de tales compuestos como inhibidores de la actividad proteína quinasa B
5 y en el tratamiento de cáncer y artritis.

LISTADO DE SECUENCIAS

5 <110> Heerding, Dirk
Clark, Tammy
Leber, Jack
Safonov, Igor

10 <120> INHIBIDORES DE LA ACTIVIDAD AKT

<130> PU61676

<140> desconocido

15 <141> 10-11-2006

<150> 60/735955

<151> 10-11-2005

20 <150> 60/772289

<151> 10-02-2006

<150> 60/826928

<151> 26-09-2006

25 <160> 5

<170> FastSEQ for Windows Version 4,0

30 <210> 1

<211> 14

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

35 <220>

<223> Péptido sintético biotinilado

<400> 1

Ala Arg Lys Arg Glu Arg Ala Tyr Ser Phe Gly His His Ala

40 1 5 10

152

<210> 2
<211> 26
5 <212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Cebador
10
<400> 2
tatataggat ccatgagcga cgtggc 26

<210> 3
15 <211> 29
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
20 <223> Cebador

<400> 3
aaatttctcg agtcaggcgc tgcgtctgg 29

25 <210> 4
<211> 25
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

30 <220>
<223> Cebador mutagénico de AKT1

<400> 4
acctggcggc cagctactt cctcc 25
35
<210> 5
<211> 23
<212> ADN
<213> Secuencia artificial
40

153

<220>

<223> Cebador de selección

<400> 5

5 ctcgagcatg caactagagg gcc

23

2007 FEB 01 P 2:03

PCTNOTIFICATION OF THE RECORDING
OF A CHANGE(PCT Rule 92bis.1 and
Administrative Instructions, Section 422)

From the INTERNATIONAL BUREAU

To:

DUSTMAN, Wayne, J.
GLAXOSMITHKLINE
CORPORATE INTELLECTUAL PROPERTY,
UW2220
709 SWEDELAND ROAD, P.O. BOX 1539
King Of Prussia, PA 19406-0939
ETATS-UNIS D'AMERIQUE

Date of mailing (day/month/year) 13 February 2007 (13.02.2007)	IMPORTANT NOTIFICATION
Applicant's or agent's file reference PU61676	
International application No. PCT/US2006/043513	International filing date (day/month/year) 09 November 2006 (09.11.2006)

1. The following indications appeared on record concerning:

☒ the applicant ☒ the inventor ☐ the agent ☐ the common representative

Name and Address

CLARK, Tammy, J.
1139 COREY DRIVE
Blair, NV 68008
United States of America

State of Nationality

US

State of Residence

US

Telephone No.

Facsimile No.

Teleprinter No.

2. The International Bureau hereby notifies the applicant that the following change has been recorded concerning:

☐ the person ☐ the name ☒ the address ☐ the nationality ☐ the residence

Name and Address

CLARK, Tammy, J.
1139 COREY DRIVE
Blair, NE 68008
United States of America

State of Nationality

US

State of Residence

US

Telephone No.

Facsimile No.

Teleprinter No.

3. Further observations, if necessary:

4. A copy of this notification has been sent to:

☒ the receiving Office	☐ the designated Offices concerned
☒ the International Searching Authority	☐ the elected Offices concerned
☐ the International Preliminary Examining Authority	☐ other:

The International Bureau of WIPO
34, chemin des Colombettes
1211 Geneva 20, Switzerland

Authorized officer:

Mandallaz Stephane

Facsimile No. +41 22 338 89 95

PATENT COOPERATION TREATY

From the INTERNATIONAL SEARCHING AUTHORITY

RECEIVED
GLAXOSMITHKLINE

2008 MAR -4 P 3: 16

PCT

NOTIFICATION OF TRANSMITTAL OF
THE INTERNATIONAL SEARCH REPORT AND
THE WRITTEN OPINION OF THE INTERNATIONAL
SEARCHING AUTHORITY, OR THE DECLARATION

(PCT Rule 44.1)

To:
WAYNE J. DUSTMAN
GLAXOSMITHKLINE
CORPORATE INTELLECTUAL PROPERTY, UW2220
709 SWEDELAND ROAD, P.O. BOX 1539
KING OF PRUSSIA, PA 19406-0939

Date of mailing
(day/month/year) **29 FEB 2008**

Applicant's or agent's file reference
PU61676

FOR FURTHER ACTION See paragraphs 1 and 4 below

International application No.
PCT/US06/43513

International filing date
(day/month/year) 09 November 2006 (09.11.2006)

Applicant
HEERDING ET AL

1. ☒ The applicant is hereby notified that the international search report and the written opinion of the International Searching Authority have been established and are transmitted herewith.

Filing of amendments and statement under Article 19:

The applicant is entitled, if he so wishes, to amend the claims of the international application (see Rule 46):

When? The time limit for filing such amendments is normally two months from the date of transmittal of the international search report.

Where? Directly to the International Bureau of WIPO, 34 chemin des Colombettes
1211 Geneva 20, Switzerland, Facsimile No.: (41-22) 338.82.70.

For more detailed instructions, see the notes on the accompanying sheet.

2. ☐ The applicant is hereby notified that no international search report will be established and that the declaration under Article 17(2)(a) to that effect and the written opinion of the International Searching Authority are transmitted herewith.

3. ☐ With regard to the protest against payment of (an) additional fee(s) under Rule 40.2, the applicant is notified that:

☐ the protest together with the decision thereon has been transmitted to the International Bureau together with the applicant's request to forward the texts of both the protest and the decision thereon to the designated Offices.

☐ no decision has been made yet on the protest; the applicant will be notified as soon as a decision is made.

4. Reminders

Shortly after the expiration of 18 months from the priority date, the international application will be published by the International Bureau. If the applicant wishes to avoid or postpone publication, a notice of withdrawal of the international application, or of the priority claim, must reach the International Bureau as provided in Rules 90bis.1 and 90bis.3, respectively, before the completion of the technical preparations for international publication.

The applicant may submit comments on an informal basis on the written opinion of the International Searching Authority to the International Bureau. The International Bureau will send a copy of such comments to all designated Offices unless an international preliminary examination report has been or is to be established. These comments would also be made available to the public but not before the expiration of 30 months from the priority date.

Within 19 months from the priority date, but only in respect of some designated Offices, a demand for international preliminary examination must be filed if the applicant wishes to postpone the entry into the national phase until 30 months from the priority date (in some Offices even later); otherwise, the applicant must, within 20 months from the priority date, perform the prescribed acts for entry into the national phase before those designated Offices.

In respect of other designated Offices, the time limit of 30 months (or later) will apply even if no demand is filed within 19 months.

See the Annex to Form PCT/IB/301 and, for details about the applicable time limits, Office by Office, see the PCT Applicant's Guide, Volume II, National Chapters and the WIPO Internet site.

Name and mailing address of the ISA/ US
Mail Stop PCT, Attn: ISA/US
Commissioner for Patents
P.O. Box 1450
Alexandria, Virginia 22313-1450
Facsimile No. (571) 273-3201

Authorized official
James Wilson
Telephone No. (571) 272-9046

Form PCT/ISA/220 (January 2004)

(See notes on accompanying sheet)

PATENT COOPERATION TREATY

PCT

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

(PCT Article 18 and Rules 43 and 44)

156

Applicant's or agent's file reference PU61676	FOR FURTHER ACTION see Form PCT/ISA/220 as well as, where applicable, item 5 below.	
International application No. PCT/US06/43513	International filing date (day/month/year) 09 November 2006 (09.11.2006)	(Earliest) Priority Date (day/month/year) 10 November 2005 (10.11.2005)
Applicant HEERDING ET AL.		

This international search report has been prepared by this International Searching Authority and is transmitted to the applicant according to Article 18. A copy is being transmitted to the International Bureau.

This international search report consists of a total of 3 sheets.

☐ It is also accompanied by a copy of each prior art document cited in this report.

1. Basis of the Report

a. With regard to the language, the international search was carried out on the basis of:

- ☒ the international application in the language in which it was filed.
☐ a translation of the international application into _____, which is the language of a translation furnished for the purposes of international search (Rules 12.3(a) and 23.1(b))

b. ☐ This international search report has been established taking into account the rectification of an obvious mistake authorized by or notified to this Authority under Rule 91 Rule 43.6 bis(a)

c. ☐ With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application, see Box No. I.

2. ☒ Certain claims were found unsearchable (See Box No. II)

3. ☐ Unity of invention is lacking (See Box No. III)

4. With regard to the title,

- ☒ the text is approved as submitted by the applicant.
☐ the text has been established by this Authority to read as follows:

5. With regard to the abstract,

- ☒ the text is approved as submitted by the applicant.
☐ the text has been established, according to Rule 38.2(b), by this Authority as it appears in Box No. IV. The applicant may, within one month from the date of mailing of this international search report, submit comments to this Authority.

6. With regard to the drawings,

- a. the figure of the drawings to be published with the abstract is Figure No. _____
☐ as suggested by the applicant.
☐ as selected by this Authority, because the applicant failed to suggest a figure.
☐ as selected by this Authority, because this figure better characterizes the invention.
b. ☒ none of the figures is to be published with the abstract.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/US06/43513

158

Box No. II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 2 of first sheet)

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. ☒ Claims Nos.: 15 and 18
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:
Claims 15 and 18 are nonstatutory claims "use" claims, and thus, not searchable.
2. ☐ Claims Nos.:
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:
3. ☐ Claims Nos.:
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

Box No. III Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 3 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
 2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying additional fees, this Authority did not invite payment of any additional fees.
 3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
 4. ☐ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:
- Remark on Protest ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest and, where applicable, the payment of a protest fee.
- ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest but the applicable protest fee was not paid within the time limit specified in the invitation.
- ☐ No protest accompanied the payment of additional search fees.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/US06/43513

158

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

IPC: C07D 471/04(2006.01), 413/12(2006.01), 411/12(2006.01); A61K 31/437(2006.01), 31/5377(2006.01), 31/541(2006.01); A61P 35/04(2006.01), 19/02(2006.01)

USPC: 546/118; 544/117.61; 514/303, 234.2, 227.8

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

U.S. : 546/118; 544/117.61; 514/303, 234.2, 227.8

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)
CAS online structure database

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y --- E	WO 2005/011700 A1 (HEERDING et al) 10 February 2005 (10.02.2005), entire document	1-14, 16-37, and 39-42



Further documents are listed in the continuation of Box C.



See patent family annex.

Special categories of cited documents:	
"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance	"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
"E" earlier application or patent published on or after the international filing date	"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
"I" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)	"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means	"&" document member of the same patent family
"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed	

Date of the actual completion of the international search

04 February 2008 (04.02.2008)

Date of mailing of the international search report

29 FEB 2008

Name and mailing address of the ISA/US

Mail Stop PCT, Attn: ISA/US
Commissioner for Patents
P.O. Box 1450
Alexandria, Virginia 22313-1450

Facsimile No. (571) 273-3201

Authorized officer

James Wilson

Telephone No. (571) 272-9046

PATENT COOPERATION TREATY

159

From the
INTERNATIONAL SEARCHING AUTHORITY

To:
WAYNE J. DUSTMAN
GLAXOSMITHKLINE
CORPORATE INTELLECTUAL PROPERTY, UW2220
709 SWEDELAND ROAD, P.O. BOX 1539
KING OF PRUSSIA, PA 19406-0939

PCT

WRITTEN OPINION OF THE
INTERNATIONAL SEARCHING AUTHORITY

(PCT Rule 43bis.1)

Date of mailing (day/month/year) 29 FEB 2008	
Applicant's or agent's file reference PU61676	
FOR FURTHER ACTION See paragraph 2 below	
International application No. PCT/US06/43513	International filing date (day/month/year) 09 November 2006 (09.11.2006)
Priority date (day/month/year) 10 November 2005 (10.11.2005)	
International Patent Classification (IPC) or both national classification and IPC IPC: Please See Continuation Sheet USPC: 546/118;544/117,61;514/303,234.2,227.8	
Applicant HEERDING ET AL.	

1. This opinion contains indications relating to the following items:

- ☒ Box No. I Basis of the opinion
- ☐ Box No. II Priority
- ☒ Box No. III Non-establishment of opinion with regard to novelty, inventive step and industrial applicability
- ☐ Box No. IV Lack of unity of invention
- ☒ Box No. V Reasoned statement under Rule 43bis.1(a)(i) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement
- ☐ Box No. VI Certain documents cited
- ☐ Box No. VII Certain defects in the international application
- ☒ Box No. VIII Certain observations on the international application

2. FURTHER ACTION

If a demand for international preliminary examination is made, this opinion will be considered to be a written opinion of the International Preliminary Examining Authority ("IPEA") except that this does not apply where the applicant chooses an Authority other than this one to be the IPEA and the chosen IPEA has notified the International Bureau under Rule 66.1bis(b) that written opinions of this International Searching Authority will not be so considered.

If this opinion is, as provided above, considered to be a written opinion of the IPEA, the applicant is invited to submit to the IPEA a written reply together, where appropriate, with amendments, before the expiration of 3 months from the date of mailing of Form PCT/ISA/220 or before the expiration of 22 months from the priority date, whichever expires later.

For further options, see Form PCT/ISA/220.

3. For further details, see notes to Form PCT/ISA/220.

Name and mailing address of the ISA/US Mail Stop PCT, Attn: ISA/US Commissioner for Patents P.O. Box 1450 Alexandria, Virginia 22313-1450 Facsimile No. (571) 273-3201	Date of completion of this opinion 04 February 2008 (04.02.2008)	Authorized official Thomas Wilson Telephone No. (571) 272-9046
---	--	--

WRITTEN OPINION OF THE
INTERNATIONAL SEARCHING AUTHORITY

International application No.

PCT/US06/43513⁴¹—

Box No. 1 Basis of this opinion

1. With regard to the language, this opinion has been established on the basis of:
- ☒ the international application in the language in which it was filed
 - ☐ a translation of the international application into _____, which is the language of a translation furnished for the purposes of international search (Rules 12.3(a) and 23.1(b)).
2. ☐ This opinion has been established taking into account the rectification of an obvious mistake authorized by or notified to this Authority under Rule 91 (Rule 43bis.1(a))
3. With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application, this opinion has been established on the basis of:
- a. type of material
 - ☐ a sequence listing
 - ☐ table(s) related to the sequence listing
 - b. format of material
 - ☐ on paper
 - ☐ in electronic form
 - c. time of filing/furnishing
 - ☐ contained in the international application as filed.
 - ☐ filed together with the international application in electronic form.
 - ☐ furnished subsequently to this Authority for the purposes of search.
4. ☐ In addition, in the case that more than one version or copy of a sequence listing and/or table(s) relating thereto has been filed or furnished, the required statements that the information in the subsequent or additional copies is identical to that in the application as filed or does not go beyond the application as filed, as appropriate, were furnished.

5. Additional comments:

WRITTEN OPINION OF THE
INTERNATIONAL SEARCHING AUTHORITY

International application No. **161**

PCT/US06/43513

Box No. III Non-establishment of opinion with regard to novelty, inventive step and industrial applicability

The questions whether the claimed invention appears to be novel, to involve an inventive step (to be non-obvious), or to be industrially applicable have not been examined in respect of:

☐ the entire international application

☒ claims Nos. 15 and 38

because:

☒ the said international application, or the said claim Nos. 15 and 38 relate to the following subject matter which does not require an international search (*specify*):

Claims 15 and 38 are "use" claims, and thus, nonstatutory claims.

☐ the description, claims or drawings (*indicate particular elements below*) or said claims Nos. _____ are so unclear that no meaningful opinion could be formed (*specify*):

☐ the claims, or said claims Nos. _____ are so inadequately supported by the description that no meaningful opinion could be formed (*specify*):

☐ no international search report has been established for said claims Nos. _____

☐ a meaningful opinion could not be formed without the sequence listing; the applicant did not, within the prescribed time limit:

☐ furnish a sequence listing on paper complying with the standard provided for in Annex C of the Administrative Instructions, and such listing was not available to the International Searching Authority in a form and manner acceptable to it.

☐ furnish a sequence listing in electronic form complying with the standard provided for in Annex C of the Administrative Instructions, and such listing was not available to the International Searching Authority in a form and manner acceptable to it.

☐ pay the required late furnishing fee for the furnishing of a sequence listing in response to an invitation under Rules 13ter.1(a) or (b).

☐ a meaningful opinion could not be formed without the tables related to the sequence listings; the applicant did not, within the prescribed time limit, furnish such tables in electronic form complying with the technical requirements provided for in Annex C-bis of the Administrative Instructions, and such tables were not available to the International Searching Authority in a form and manner acceptable to it.

☐ the tables related to the nucleotide and/or amino acid sequence listing, if in electronic form only, do not comply with the technical requirements provided for in Annex C-bis of the Administrative Instructions.

☐ See Supplemental Box for further details.

WRITTEN OPINION OF THE
INTERNATIONAL SEARCHING AUTHORITY

International application No.
PCT/US06/43178

162

Box No. V Reasoned statement under Rule 43 bis.1(a)(i) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement

1. Statement

Novelty (N)	Claims <u>1-14, 16-37 and 39-42</u>	YES
	Claims <u>NONE</u>	NO
Inventive step (IS)	Claims <u>1-14, 16-37 and 39-42</u>	YES
	Claims <u>NONE</u>	NO
Industrial applicability (IA)	Claims <u>1-14, 16-37 and 39-42</u>	YES
	Claims <u>NONE</u>	NO

2. Citations and explanations:

Claims 1-14, 16-37 and 39-42 meet the criteria set out in PCT Article 33(2), because the prior art does not teach or fairly suggest imidazo[4,5-c]pyridine bicyclic compounds with the corresponding substitution as that being claimed in the instant invention.

Claims 1-14, 16-37 and 39-42 lack an inventive step under PCT Article 33(3) as being obvious over Heerding et. al. (WO 2005/011700 A1). The reference teaches compounds imidazo[4,5-c]pyridines with a 4-amino-1,2,5-oxadiazole at the 2 position, an ethyl substituent at the 1 position, a 3-methyl-3-buten-2-ol at the 4 position and a oxymethylheterocyclyl group at the 7 position of the bicycle. See page 55, compound 10 and the genus teaching on page 8, lines 11-13 and page 9, lines 23-25. The method of treating cancer is found on page 7, line 19. The simple and complex compositions are taught on page 7, line 34-36. Furthermore, the method of inhibiting the Akt activity is taught on page 7, line 27-28. Thus, said claims are rendered obvious by Heerding et. al.

Claims 1-14, 16-37 and 39-42 meet the criteria set out in PCT Article 33(4), and thus meet industrial applicability because the subject matter claimed can be made or used in the pharmaceutical industry.

WRITTEN OPINION OF THE
INTERNATIONAL SEARCHING AUTHORITY

International application No.

PCT/US06/43513

163

Box No. VIII Certain observations on the international application

The following observations on the clarity of the claims, description, and drawings or on the questions whether the claims are fully supported by the description, are made:

Claims 9-14, 18-36 and 39-42 are objected to as lacking clarity under PCT Rule 66.2(a)(v) because of the claims 9-14, 18-36 and 39-42 are not fully supported by the description. The description does not disclose the claimed invention in a manner sufficiently clear and complete for the claimed invention to be carried out by a person skilled in the art because: the prior art knows there has never been a treatment for cancer generally. The list of cancers given in 13 covers most cancers and thus this is understood to include cancer generally. Thus, Applicant is not enabled for the treatment of cancer generally.

Claims 1-14, 16-37 and 39-42 are objected to as lacking clarity under PCT Rule 66.2(a)(v) because of the claims 1-14, 16-37 and 39-42 are not fully supported by the description. The description does not disclose the claimed invention in a manner sufficiently clear and complete for the claimed invention to be carried out by a person skilled in the art because: Applicant has not shown that these compounds can form solvates/hydrates.

Claims 1-14, 16-37 and 39-42 are objected to as lacking clarity under PCT Rule 66.2(a)(v) because of the claims 1-14, 16-37 and 39-42 are not fully supported by the description. The description does not disclose the claimed invention in a manner sufficiently clear and complete for the claimed invention to be carried out by a person skilled in the art because: Applicant has not how to make or use prodrugs. Thus, Applicant is not enabled for prodrugs.

WRITTEN OPINION OF THE
INTERNATIONAL SEARCHING AUTHORITY

International Application No. *264*
PCT/US06/000000

Supplemental Box

In case the space in any of the preceding boxes is not sufficient.

Continuation of IPC:

C07D 471/04(2006.01), 413/12(2006.01), 411/12(2006.01); A61K 31/437(2006.01), 31/5377(2006.01), 31/541(2006.01); A61P 35/04(2006.01), 19/02(2006.01)

NOTES TO FORM PCT/ISA/220

These Notes are intended to give the basic instructions concerning the filing of amendments under Article 19. The Notes are based on the requirements of the Patent Cooperation Treaty, the Regulations and the Administrative Instructions under that Treaty. In case of discrepancy between these Notes and those requirements, the latter are applicable. For more detailed information, see also the *PCT Applicant's Guide*, a publication of WIPO.

In these Notes, "Article," "Rule" and "Section" refer to the provisions of the PCT, the PCT Regulations and the PCT Administrative Instructions, respectively.

INSTRUCTIONS CONCERNING AMENDMENTS UNDER ARTICLE 19

The applicant has, after having received the international search report and the written opinion of the International Searching Authority, one opportunity to amend the claims of the international application. It should however be emphasized that, since all parts of the international application (claims, description and drawings) may be amended during the international preliminary examination procedure, there is usually no need to file amendments of the claims under Article 19 except where, e.g. the applicant wants the latter to be published for the purposes of provisional protection or has another reason for amending the claims before international publication. Furthermore, it should be emphasized that provisional protection is available in some States only (see *PCT Applicant's Guide*, Volume I/A, Annexes B1 and B2).

The attention of the applicant is drawn to the fact that amendments to the claims under Article 19 are not allowed where the International Searching Authority has declared, under Article 17(2), that no international search report would be established (see *PCT Applicant's Guide*, Volume I/A, paragraph 296).

What parts of the international application may be amended?

Under Article 19, only the claims may be amended.

During the international phase, the claims may also be amended (or further amended) under Article 34 before the International Preliminary Examining Authority. The description and drawings may only be amended under Article 34 before the International Preliminary Examining Authority.

Upon entry into the national phase, all parts of the international application may be amended under Article 28 or, where applicable, Article 41.

When? Within 2 months from the date of transmittal of the international search report or 16 months from the priority date, whichever time limit expires later. It should be noted, however, that the amendments will be considered as having been received on time if they are received by the International Bureau after the expiration of the applicable time limit but before the completion of the technical preparations for international publication (Rule 46.1).

Where not to file the amendments?

The amendments may only be filed with the International Bureau and not with the receiving Office or the International Searching Authority (Rule 46.2).

Where a demand for international preliminary examination has been/is filed, see below.

How? Either by cancelling one or more entire claims, by adding one or more new claims or by amending the text of one or more of the claims as filed.

A replacement sheet must be submitted for each sheet of the claims which, on account of an amendment or amendments, differs from the sheet originally filed.

All the claims appearing on a replacement sheet must be numbered in Arabic numerals. Where a claim is cancelled, no renumbering of the other claims is required. In all cases where claims are renumbered, they must be renumbered consecutively (Section 205(b)).

The amendments must be made in the language in which the international application is to be published.

What documents must/may accompany the amendments?

Letter (Section 205(b)):

The amendments must be submitted with a letter.

The letter will not be published with the international application and the amended claims. It should not be confused with the "Statement under Article 19(1)" (see below, under "Statement under Article 19(1)").

The letter must be in English or French, at the choice of the applicant. However, if the language of the international application is English, the letter must be in English; if the language of the international application is French, the letter must be in French.

166

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO



No. 08-047159- -00000-0000

Fecha: 2008-05-09 16:51:42 Dep. 2020 NUCOREACION
Tra. 11 PATENTE/II Eje: 378 FASENACIONALI
Act. 411 PRESENTACION Folios: 165



Industria y Comercio
SUPERINTENDENCIA

REQUISITOS MINIMOS PARA ADMISION A TRAMITE
PCT

PATENTE DE INVENCION

M

MODELO DE UTILIDAD []

- ◆ Indicación de que se solicita la concesión de una patente []
- ◆ Datos de identificación del solicitante o de la persona que presenta la solicitud []
- ◆ Descripción de la invención []
- ◆ Dibujos de ser estos pertinentes []
- ◆ Comprobante de pago de las tasas establecidas []

COMPLETA []

INCOMPLETA []

DISEÑO INDUSTRIAL []

- ◆ Indicación de que se solicita el registro de Diseño Industrial []
- ◆ Datos de identificación del solicitante o de la persona que presenta la solicitud []
- ◆ Representación gráfica y fotográfica del Diseño Industrial o muestra del material que incorpora el diseño []
- ◆ Comprobante de pago de las tasas establecidas []

COMPLETA []

INCOMPLETA []

ESQUEMA DE TRAZADO []

- ◆ Indicación de que se solicita el registro de un Esquema de Trazado []
- ◆ Datos de identificación del solicitante o de la persona que presenta la solicitud []
- ◆ Representación gráfica del esquema trazado []
- ◆ Comprobante de pago de las tasas establecidas []

COMPLETA []

INCOMPLETA []

Firma Responsable

Fecha 09 MAYO 2008

Carrera 13 No. 27-00 Piso 5, 7 y 10
Conmutador: 3 82 08 40
Fax: 350 52-20
E-mail: info@sic.gov.co
www.sic.gov.co
Bogotá, D.C., Colombia

167

REPUBLICA DE COLOMBIA
SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

Bogotá,
2020

Doctor(a)
OLARTE GARCIA CARLOS REINALDO
Apoderado(a) y/o Representante de
SMITHKLINE BEECHAM CORPORATION

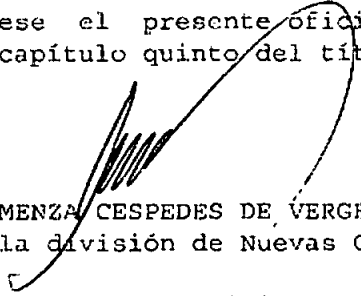
REFERENCIA	Radicación No.	8 47159
	Solicitud internacional	PCT/US2006/043513
	Fecha inicio fase nacional	10/06/2008
	Trámite	11
	Evento	378
	Actuación	430
	Oficio No.	8117

Como resultado del examen de forma, realizado con fundamento en el artículo 38 de la Decisión 486 de la Comisión de la Comunidad Andina, artículo 27 del Tratado de Cooperación en Materia de Patentes (PCT), regla 51 bis del Reglamento y Circular Única de la Superintendencia de Industria y Comercio, se le comunica que:

1. La solicitud no contiene la copia del documento en que consta la cesión del derecho a la patente del inventor al solicitante o a su causante. (Art. 26-k) Decisión 486.

En cumplimiento de lo dispuesto por el artículo 39 de la Decisión 486, se le requiere para que dentro del término de dos meses siguientes a la fecha de notificación del presente oficio, complete los requisitos anteriormente enunciados. En caso de no dar cumplimiento al presente requerimiento, la solicitud se considerará abandonada y perderá su prelación.

Notifíquese el presente oficio conforme a lo dispuesto en el numeral 5.2, literal e), del capítulo quinto del título primero de la Circular Única No.10 de 2001.


ALIX CARMENZA CESPEDES DE VERGEL
Jefe de la división de Nuevas Creaciones

El anterior requerimiento fue notificado por fijación en lista de
fecha 20 JUN. 2008
adpall