



Organizacion y
Digitalizacion CSA Ltda

QF



Industria y Comercio
SUPERINTENDENCIA

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO
INVENTARIO

PCT

DELEGATURA DE PROPIEDAD INDUSTRIAL

DIVISIÓN DE NUEVAS CREACIONES

08-108193

SOLICITUD DE PATENTE DE
INVENCION

TITULO DERIVADOS DE TIAZOLIDINADIONA COMO INHIBIDORES DE
LA P13 QUINASA

SOLICITANTE: SMITHKLINE BEECHAM CORPORATION

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

APODERADO: CARLOS R. OLARTE

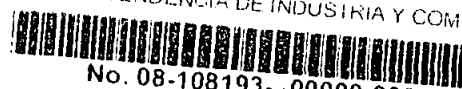
BOGOTÁ 09 de Octubre de 2008

P2008/000173

OLARTE RAISBECK


Industria y Comercio
SUPERINTENDENCIA

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO



No. 08-108193- -00000-0000

Fecha: 2008-10-09 16:37:28 Dep: 2020 NUECREACION
Tra: 11 PATENTE IYII Evt: 378 FASE NACIONAL
Act: 411 PRESENTACION Folios: 135

PETITORIO - FORMULARIO ÚNICO DE SOLICITUD

PATENTE PCT

ENTRADA EN FASE NACIONAL

P2008/000173

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/US2007/066359

Fecha Abril 11, 2007

Publicación Internacional No. WO 2007/136940

Fecha Noviembre 29, 2007

6

Título (54) DERIVADOS DE TIAZOLIDINADIONA COMO INHIBIDORES DE LA
PI3 QUINASA

Clasificación Internacional (51) A61K 31/4709

Prioridad

SI

☒

NO

☐

(33) País de Origen

US

(32) Fecha

Abril 11, 2006

(31) Número de Solicitud

60/791,134

9

C mprobante de pago No. 08-80,097

Fecha Octubre 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. Declaración bajo la Regla 4.17 del PCT.

☐

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

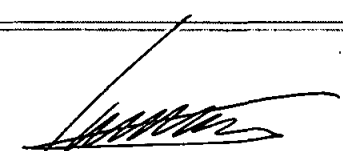
11

FIGURA CARACTERÍSTICA:

12

Solicito la concesión de la patente,

NOMBRE: CARLOS R. OLARTE

FIRMA: 

C.C. 79.782.747 Btá T.P. 74.295

LISTA DE INVENTORES

PCT/US2007/066359

3

1. **Michael, Gerard DARCY,**
1250 South Collegeville Road,
Collegeville, PA 19426
Estados Unidos de America
Nacionalidad: Estadounidense
2. **Steven, David KNIGHT,**
1250 South Collegeville Road,
Collegeville, PA 19426
Estados Unidos de America
Nacionalidad: Estadounidense
3. **Nicholas, D. ADAMS,**
1250 South Collegeville Road,
Collegeville, PA 19426.
Estados Unidos de America
Nacionalidad: Estadounidense
4. **Stanley, J. SCHMIDT,**
1250 South Collegeville Road,
Collegeville, PA 19426
Estados Unidos de America
Nacionalidad: Estadounidense

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

NIT : 800176089-2

RECIBO OFICIAL DE CAJA : 08 - 80,097
FECHA : OCTUBRE 8 DE 2008

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

No. 08-108193-00000-0000

Dep. 2000 NUEVA REACCION
No. 11 PATENTE DE IN
Act. 411 PRESENTACION Folios 135

***** CONSIGNACION *****

DEPOSITANTE	TIPO PAGO	BANCO	CUENTA	No. PAGO	FECHA PGO	Vr. PAGO
OLARTE RAISBEK	CONSIGNACION	BANCO DE BOGOTA	062754387	11593525	07/10/2008	3,568,000.00

***** 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. _____

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.

Marlén Neira
Marlén Neira C

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

6

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

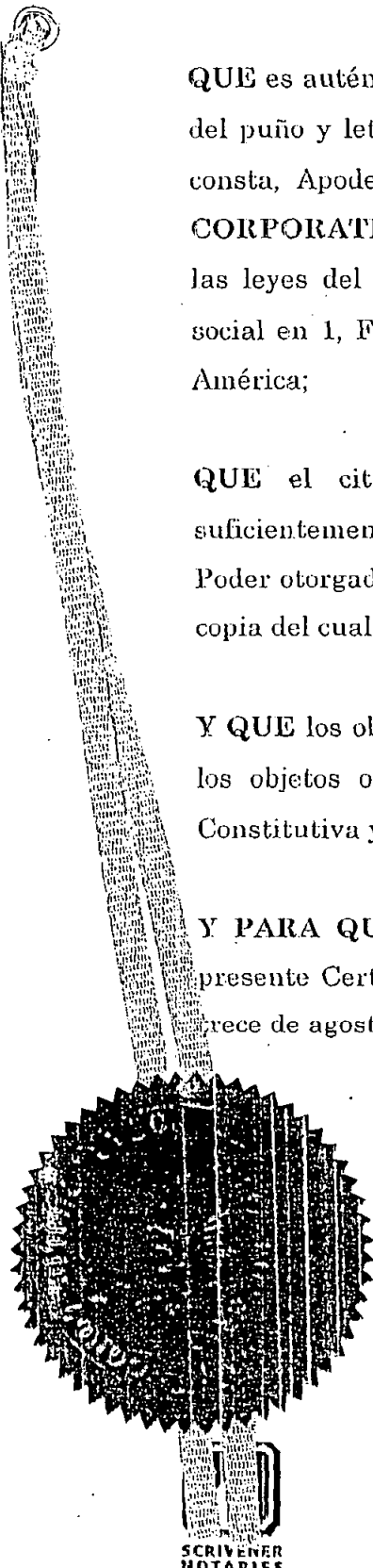
CERTIFICO:

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 of James Kerr Milligan.

JAMES KERR MILLIGAN
Notario Público de Londres, Inglaterra



Handwritten mark resembling a stylized 'K' or '7' in the top right corner.

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

Certified/Attesté

5. at London/à Londres
6. the/le **14 August 2003**
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**

Handwritten signature of 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: +57-1 638-6200
Fax: +57-1 638-6201

www.olarteraisbeck.com

Power of Attorney

The undersigned,

SmithKline Beecham Corporation

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**

Maria 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.

Poder

El suscrito,

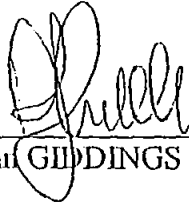
domiciliado en

por medio del presente otorga a **Carlos R.**

Olarte, J. Ian Raisbeck y Ana Maria

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

Box No. VIII(ii) DECLARATION: ENTITLEMENT TO APPLY FOR AND BE GRANTED A PATENT

The declaration must conform to the standardized wording provided for in Section 212; see Notes to Boxes Nos. VIII, VIII(I) to (v) (In general and the specific Notes to Box No. VIII(ii). If this Box is not used, this sheet should not be included in the request.

Declaration as to the applicant's entitlement, as at the international filing date, to apply for and be granted a patent (Rules 4.17(ii) and 51bis.1(a)(ii)), in a case where the declaration under Rule 4.17(iv) is not appropriate:

in relation to international application No. PCT/US2007/066359 filed on 11 April 2007

SMITHKLINE BEECHAM CORPORATION is entitled to apply for and be granted a patent by virtue of the following:

an assignment from

DARCY, Michael Gerard of 1250 South Collegeville Road, Collegeville, Pennsylvania 19426, to SmithKline Beecham Corporation dated 16 April 2007

KNIGHT, Steven David of 1250 South Collegeville Road, Collegeville, Pennsylvania 19426, to SmithKline Beecham Corporation dated 18 April 2007

ADAMS, Nicholas D. of 1250 South Collegeville Road, Collegeville, Pennsylvania 19426, to SmithKline Beecham Corporation dated 20 April 2007

SCHMIDT, Stanley J. of 1250 South Collegeville Road, Collegeville, Pennsylvania 19426, to SmithKline Beecham Corporation dated 17 April 2007

☐ This declaration is continued on the following sheet, "Continuation of Box No. VIII(ii)".

Form PCT/RO/101 (declaration sheet (ii)) (March 2001; reprint January 2003)

See Notes to the request form

(19) World Intellectual Property Organization
International Bureau



(43) International Publication Date
29 November 2007 (29.11.2007)

PCT

(10) International Publication Number
WO 2007/136940 A2

(51) International Patent Classification:
A61K 31/4709 (2006.01)

(21) International Application Number:
PCT/US2007/066359

(22) International Filing Date: 11 April 2007 (11.04.2007)

(25) Filing Language: English

(26) Publication Language: English

(30) Priority Data:
60/791,134 11 April 2006 (11.04.2006) US

(71) Applicant (for all designated States except US):
SMITHKLINE BEECHAM CORPORATION
[US/US]; One Franklin Plaza, P.O. Box 7929, Philadelphia, PA 19101 (US).

(72) Inventors; and

(75) Inventors/Applicants (for US only): **DARCY, Michael, Gerard** [US/US]; 1250 South Collegeville Road, Collegeville, PA 19426 (US). **KNIGHT, Steven, David** [US/US]; 1250 South Collegeville Road, Collegeville, PA 19426 (US). **ADAMS, Nicholas, D.** [US/US]; 1250 South Collegeville Road, Collegeville, PA 19426 (US). **SCHMIDT, Stanley, J.** [US/US]; 1250 South Collegeville Road, Collegeville, PA 19426 (US).

(74) Agents: **PENG, Tony, W.** et al.; GlaxoSmithkline, Corporate Intellectual Property, UW2220, 709 Swedeland 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, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KM, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD, ME, 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, GH, 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, MT, 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).

Declarations under Rule 4.17:

- as to applicant's entitlement to apply for and be granted a patent (Rule 4.17(ii))
- as to the applicant's entitlement to claim the priority of the earlier application (Rule 4.17(iii))
- of inventorship (Rule 4.17(iv))

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.

(54) Title: THIAZOLIDINEDIONE DERIVATIVES AS PI3 KINASE INHIBITORS

(57) Abstract: Invented is a method of inhibiting the activity/function of PI3 kinases using thiazolidinedione derivatives. Also invented is a method of treating one or more disease states selected from: autoimmune disorders, inflammatory diseases, cardiovascular diseases, neurodegenerative diseases, allergy, asthma, pancreatitis, multiorgan failure, kidney diseases, platelet aggregation, cancer, sperm motility, transplantation rejection, graft rejection and lung injuries by the administration of thiazolidinedione derivatives.

WO 2007/136940 A2

THIAZOLIDINEDIONE DERIVATIVES AS PI3 KINASE INHIBITORS**Field of the Invention**

This invention relates to the use of thiazolidinedione derivatives for the modulation, notably the inhibition of the activity or function of the phosphoinositide 3' OH kinase family (hereinafter PI3 kinases), suitably, PI3K α , PI3K δ , PI3K β , and/or PI3K γ . Suitably, the present invention relates to the use of thiazolidinediones in the treatment of one or more disease states selected from: autoimmune disorders, inflammatory diseases, cardiovascular diseases, neurodegenerative diseases, allergy, asthma, pancreatitis, multiorgan failure, kidney diseases, platelet aggregation, cancer, sperm motility, transplantation rejection, graft rejection and lung injuries.

Background of the Invention

Cellular membranes represent a large store of second messengers that can be enlisted in a variety of signal transduction pathways. In regards function and regulation of effector enzymes in phospholipids signaling pathways, these enzymes generate second messengers from the membrane phospholipid pools (class I PI3 kinases (e.g. PI3K α)) are dual-specificity kinase enzymes, meaning they display both: lipid kinase (phosphorylation of phosphoinositides) as well as protein kinase activity, shown to be capable of phosphorylation of protein as substrate, including auto-phosphorylation as intramolecular regulatory mechanism. These enzymes of phospholipids signaling are activated in response to a variety of extra-cellular signals such as growth factors, mitogens, integrins (cell-cell interactions) hormones, cytokines, viruses and neurotransmitters such as described in Scheme A hereinafter and also by intracellular regulation by other signaling molecules (cross-talk, where the original signal can activate some parallel pathways that in a second step transmit signals to PI3Ks by intra-cellular signaling events), such as small GTPases, kinases or phosphatases for example. Intracellular regulation can also occur as a result of aberrant expression or lack of expression of cellular oncogenes or tumor suppressors. The inositol phospholipid (phosphoinositides) intracellular signaling pathways begin with activation of a signaling molecules (extra cellular ligands, stimuli, receptor dimerization, transactivation by heterologous receptor (e.g. receptor tyrosine kinase)) the recruitment and activation of PI3K



including the involvement of G-protein linked transmembrane receptor integrated into the plasma membrane.

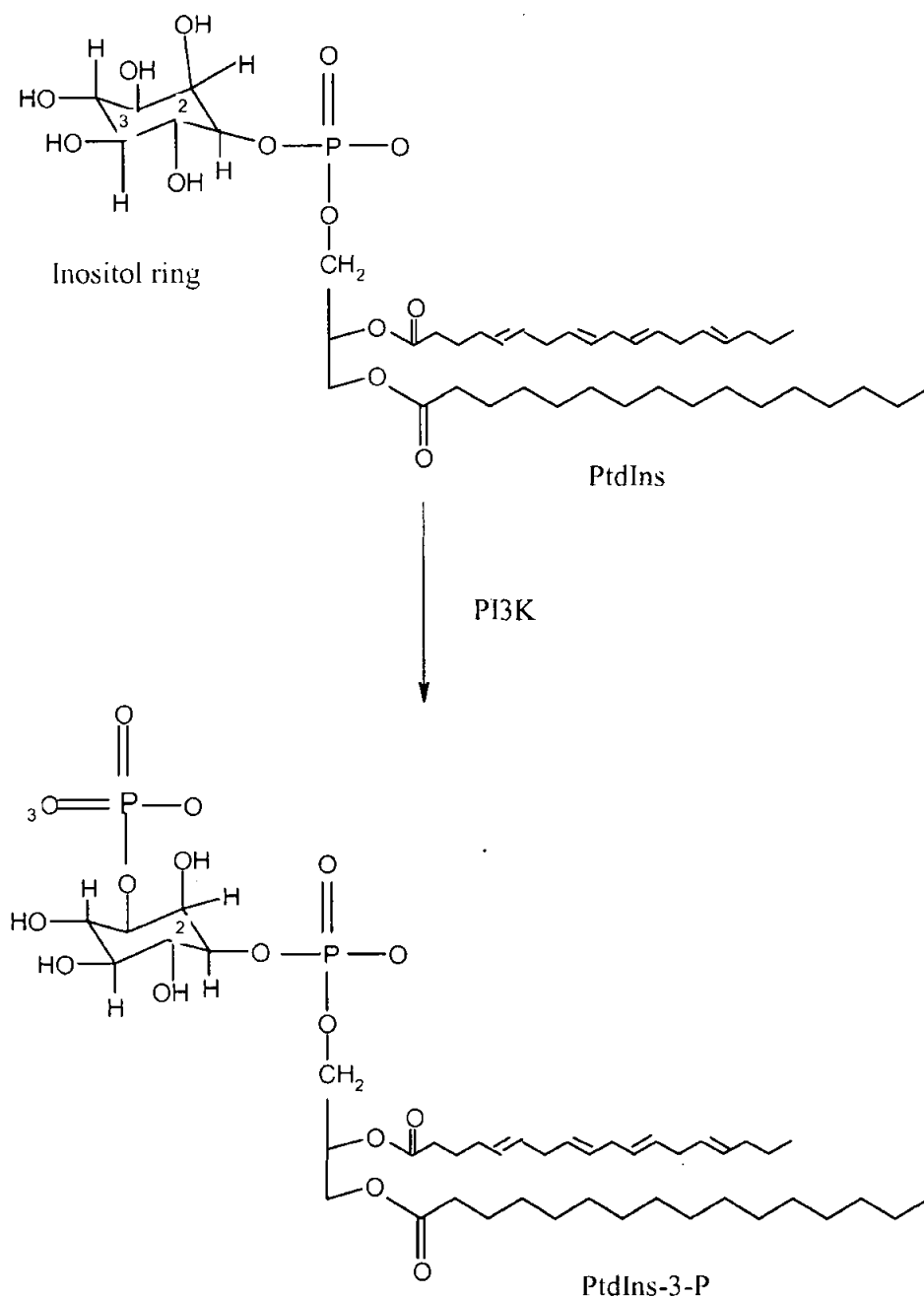
- PI3K converts the membrane phospholipids PI(4,5)P₂ into PI(3,4,5)P₃ that functions as a second messenger. PI and PI(4)P are also substrates of PI3K and
- 5 can be phosphorylated and converted into PI3P and PI(3,4)P₂, respectively. In addition, these phosphoinositides can be converted into other phosphoinositides by 5'-specific and 3'-specific phosphatases, thus PI3K enzymatic activity results either directly or indirectly in the generation of two 3' -phosphoinositide subtypes that function as 2nd messengers in intra-cellular signal transduction pathways (Trends
- 10 Biochem. Sci. 22(7) p.267-72 (1997) by Vanhaesebroeck et al.; Chem. Rev. 101(8) p.2365-80 (2001) by Leslie et al (2001); Annu. Rev. Cell.Dev. Biol. 17p, 615-75 (2001) by Katso et al. and Cell. Mol. Life Sci. 59(5) p.761-79 (2002) by Toker et al.). Multiple PI3K isoforms categorized by their catalytic subunits, their regulation by corresponding regulatory subunits, expression patterns and signaling-specific
- 15 functions (p110α, β, δ and γ) perform this enzymatic reaction (Exp. Cell. Res. 25 (1) p. 239-54 (1999) by Vanhaesebroeck and Katso et al., 2001, above).

- The closely related isoforms p110α and β are ubiquitously expressed, while δ and γ are more specifically expressed in the haematopoietic cell system, smooth muscle cells, myocytes and endothelial cells (Trends Biochem. Sci. 22(7) p.267-72
- 20 (1997) by Vanhaesebroeck et al.). Their expression might also be regulated in an inducible manner depending on the cellular, tissue type and stimuli as well as disease context. Inducibility of protein expression includes synthesis of protein as well as protein stabilization that is in part regulated by association with regulatory subunits.

- 25 To date, eight mammalian PI3Ks have been identified, divided into three main classes (I, II, and III) on the basis of sequence homology, structure, binding partners, mode of activation, and substrate preference. In vitro, class I PI3Ks can phosphorylate phosphatidylinositol (PI), phosphatidylinositol-4-phosphate (PI4P), and phosphatidylinositol-4,5-bisphosphate (PI(4,5)P₂) to produce
- 30 phosphatidylinositol-3-phosphate (PI3P), phosphatidylinositol-3,4-bisphosphate (PI(3,4)P₂), and phosphatidylinositol-3,4,5-trisphosphate (PI(3,4,5)P₃), respectively. Class II PI3Ks phosphorylate PI and phosphatidylinositol-4-phosphate. Class III PI3Ks can only phosphorylate PI (Vanhaesebroeck et al., 1997, above; Vanhaesebroeck et al., 1999, above and Leslie et al, 2001, above)



Scheme A: Conversion of PI(4,5)P₂ to PIP₃



- 5 As illustrated in Scheme A above, phosphoinositide 3-kinases (PI3Ks) phosphorylate the hydroxyl of the third carbon of the inositol ring. The phosphorylation of phosphoinositides that generate PtdIns to 3,4,5-trisphosphate (PtdIns(3,4,5)P₃), PtdIns(3,4)P₂ and PtdIns(3)P produce second messengers for a

14

- variety of signal transduction pathways, including those essential to cell proliferation, cell differentiation, cell growth, cell size, cell survival, apoptosis, adhesion, cell motility, cell migration, chemotaxis, invasion, cytoskeletal rearrangement, cell shape changes, vesicle trafficking and metabolic pathway (Katso et al., 2001, above and Mol. Med. Today 6(9) p. 347-57 (2000) by Stein). G-protein coupled receptors mediated phosphoinositide 3'OH-kinase activation via small GTPases such as G β y and Ras, and consequently PI3K signaling plays a central role in establishing and coordinating cell polarity and dynamic organization of the cytoskeleton – which together provides the driving force of cells to move.
- 5
- 10) Chemotaxis – the directed movement of cells toward a concentration gradient of chemical attractants, also called chemokines is involved in many important diseases such as inflammation/auto-immunity, neurodegeneration, angiogenesis, invasion/metastasis and wound healing (Immunol. Today 21(6) p. 260-4 (2000) by Wyman et al.; Science 287(5455) p. 1049-53 (2000) by Hirsch et al.; FASEB J. 15(11) p. 2019-21 (2001) by Hirsch et al. and Nat. Immunol. 2(2) p. 108-15 (2001) by Gerard et al.).
- 15

Recent advances using genetic approaches and pharmacological tools have provided insights into signalling and molecular pathways that mediate chemotaxis in response to chemoattractant activated G-protein coupled receptors PI3-Kinase, responsible for generating these phosphorylated signalling products, was originally identified as an activity associated with viral oncoproteins and growth factor receptor tyrosine kinases that phosphorylates phosphatidylinositol (PI) and its phosphorylated derivatives at the 3'-hydroxyl of the inositol ring (Panayotou et al., Trends Cell Biol. 2 p. 358-60 (1992)). However, more recent biochemical studies revealed that, class I PI3 kinases (e.g. class IB isoform PI3K γ) are dual-specific kinase enzymes, means they display both: lipid kinase (phosphorylation of phospho-inositides) as well as protein kinase activity, shown to be capable of phosphorylation of other protein as substrates, including auto-phosphorylation as intra-molecular regulatory mechanism.

20

25

PI3-kinase activation, is therefore believe to be involved in a range of cellular responses including cell growth, differentiation, and apoptosis (Parker et al., Current Biology, 5 p. 577-99 (1995); Yao et al., Science, 267 p. 2003-05 (1995)). PI3-kinase appears to be involved in a number of aspects of leukocyte activation. A p85-associated PI3-kinase activity has been shown to physically associate with the cytoplasmic domain of CD28, which is an important costimulatory molecule for the

30

35



activation of T-cells in response to antigen (Pages et al., *Nature*, 369 p. 327-29 (1994); Rudd, *Immunity* 4 p. 527-34 (1996)). Activation of T cells through CD28 lowers the threshold for activation by antigen and increases the magnitude and duration of the proliferative response. These effects are linked to increases in the transcription of a number of genes including interleukin-2 (IL2), an important T cell growth factor (Fraser et al., *Science* 251 p. 313-16 (1991)). Mutation of CD28 such that it can no longer interact with PI3-kinase leads to a failure to initiate IL2 production, suggesting a critical role for PI3-kinase in T cell activation. PI3K γ has been identified as a mediator of G beta-gamma-dependent regulation of JNK activity, and G beta-gamma are subunits of heterotrimeric G proteins (Lopez-Illasaca et al., *J. Biol. Chem.* 273(5) p. 2505-8 (1998)). Cellular processes in which PI3Ks play an essential role include suppression of apoptosis, reorganization of the actin skeleton, cardiac myocyte growth, glycogen synthase stimulation by insulin, TNF α -mediated neutrophil priming and superoxide generation, and leukocyte migration and adhesion to endothelial cells.

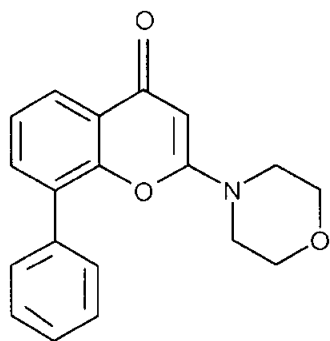
Recently, (Laffargue et al., *Immunity* 16(3) p. 441-51 (2002)) it has been described that PI3K γ relays inflammatory signals through various G(i)-coupled receptors and its central to mast cell function, stimuli in context of leukocytes, immunology includes cytokines, chemokines, adenosines, antibodies, integrins, aggregation factors, growth factors, viruses or hormones for example (*J. Cell. Sci.* 114(Pt 16) p. 2903-10 (2001) by Lawlor et al.; Laffargue et al., 2002, above and *Curr. Opin Cell Biol.* 14(2) p. 203-13 (2002) by Stephens et al.).

Specific inhibitors against individual members of a family of enzymes provide invaluable tools for deciphering functions of each enzyme. Two compounds, LY294002 and wortmannin (cf. hereinafter), have been widely used as PI3-kinase inhibitors. These compounds are non-specific PI3K inhibitors, as they do not distinguish among the four members of Class I PI3-kinases. For example, the IC₅₀ values of wortmannin against each of the various Class I PI3-kinases are in the range of 1-10 nM. Similarly, the IC₅₀ values for LY294002 against each of these PI3-kinases is about 15-20 μ M (Fruman et al., *Ann. Rev. Biochem.*, 67, p. 481-507 (1998)), also 5-10 microM on CK2 protein kinase and some inhibitory activity on phospholipases. Wortmannin is a fungal metabolite which irreversibly inhibits PI3K activity by binding covalently to the catalytic domain of this enzyme. Inhibition of PI3K activity by wortmannin eliminates subsequent cellular response to the extracellular factor. For example, neutrophils respond to the chemokine fMet-

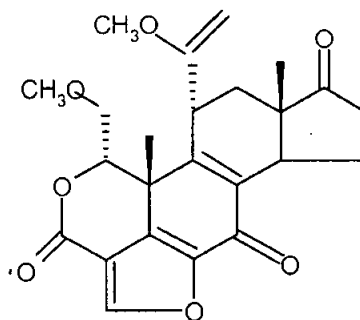
✓6

Leu-Phe (fMLP) by stimulating PI3K and synthesizing PtdIns (3, 4, 5)P₃. This synthesis correlates with activation of the respirators burst involved in neutrophil destruction of invading microorganisms. Treatment of neutrophils with wortmannin prevents the fMLP-induced respiratory burst response (Thelen et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 91, p. 4960-64 (1994)). Indeed, these experiments with wortmannin, as well as other experimental evidence, shows that PI3K activity in cells of hematopoietic lineage, particularly neutrophils, monocytes, and other types of leukocytes, is involved in many of the non-memory immune response associated with acute and chronic inflammation.

10



LY294002



WORTMANNIN

15

Based on studies using wortmannin, there is evidence that PI3-kinase function is also required for some aspects of leukocyte signaling through G-protein coupled receptors (Thelen et al., 1994, above). Moreover, it has been shown that wortmannin and LY294002 block neutrophil migration and superoxide release.

20 Cyclooxygenase inhibiting benzofuran derivatives are disclosed by John M. Janusz et al., in J. Med. Chem. 1998; Vol. 41, No. 18.

It is now well understood that deregulation of oncogenes and tumour-suppressor genes contributes to the formation of malignant tumours, for example by way of increase cell growth and proliferation or increased cell survival. It is also now known that signaling pathways mediated by the PI3K family have a central role in a number of cell processes including proliferation and survival, and deregulation of these pathways is a causative factor a wide spectrum of human cancers and other diseases (Katso et al., Annual Rev. Cell Dev. Biol., 2001, 17: 615-617 and Foster et

25

et al., J. Cell Science, 2003, 116: 3037-3040).

Class I PI3K is a heterodimer consisting of a p110 catalytic subunit and a regulatory subunit, and the family is further divided into class Ia and Class Ib enzymes on the basis of regulatory partners and mechanism of regulation. Class Ia enzymes consist of three distinct catalytic subunits (p110 α , p110 β , and p110 δ) that dimerise with five distinct regulatory subunits (p85 α , p55 α , p50 α , p85 β , and p55 γ), with all catalytic subunits being able to interact with all regulatory subunits to form a variety of heterodimers. Class Ia PI3K are generally activated in response to growth factor-stimulation of receptor tyrosine kinases, via interaction of the regulatory subunit SH2 domains with specific phospho-tyrosine residues of the activated receptor or adaptor proteins such as IRS-1. Small GTPases (ras as an example) are also involved in the activation of PI3K in conjunction with receptor tyrosine kinase activation. Both p110 α and p110 β are constitutively expressed in all cell types, whereas p110 δ expression is more restricted to leukocyte populations and some epithelial cells. In contrast, the single Class Ib enzyme consists of a p110 γ catalytic subunit that interacts with a p101 regulatory subunit. Furthermore, the Class Ib enzyme is activated in response to G-protein coupled receptor (GPCR) systems and its expression appears to be limited to leukocytes.

There is now considerable evidence indicating that Class Ia PI3K enzymes contribute to tumourigenesis in a wide variety of human cancers, either directly or indirectly (Vivanco and Sawyers, Nature Reviews Cancer, 2002, 2, 489-501). For example, the p110 α subunit is amplified in some tumours such as those of the ovary (Shayesteh, *et al.*, Nature Genetics, 1999, 21: 99-102) and cervix (Ma *et al.*, Oncogene, 2000, 19: 2739-2744). More recently, activating mutations within p110 α (PIK3CA gene) have been associated with various other tumors such as those of the colon and of the breast and lung (Samuels, *et al.*, Science, 2004, 304, 554). Tumor-related mutations in p85 α have also been identified in cancers such as those of the ovary and colon (Philp *et al.*, Cancer Research, 2001, 61, 7426-7429). In addition to direct effects, it is believed that activation of Class Ia PI3K contributes to tumourigenic events that occur upstream in signaling pathways, for example by way of ligand-dependent or ligand-independent activation of receptor tyrosine kinases, GPCR systems or integrins (Vara *et al.*, Cancer Treatment Reviews, 2004, 30, 193-204). Examples of such upstream signaling pathways include over-expression of the receptor tyrosine kinase Erb2 in a variety of tumors leading to activation of PI3K-mediated pathways (Harari *et al.*, Oncogene, 2000, 19, 6102-



6114) and over-expression of the oncogene Ras (Kauffmann-Zeh *et al.*, Nature, 1997, 385, 544-548). In addition, Class Ia PI3Ks may contribute indirectly to tumorigenesis caused by various downstream signaling events. For example, loss of function of the PTEN tumor-suppressor phosphatase that catalyses conversion of

5 PI(3,4,5)P3 back to PI(4,5)P2 is associated with a very broad range of tumors via deregulation of PI3K-mediated production of PI(3,4,5)P3 (Simpson and Parsons, Exp. Cell Res., 2001, 264, 29-41). Furthermore, augmentation of the effects of other PI3K-mediated signaling events is believed to contribute to a variety of cancers, for example by activation of AKT (Nicholson and Andeson, Cellular

10 Signaling, 2002, 14, 381-395).

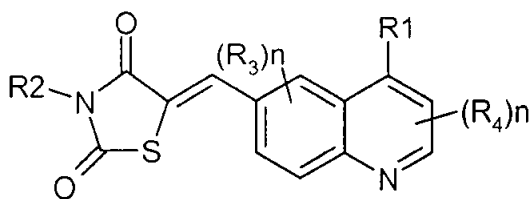
In addition to a role in mediating proliferative and survival signaling in tumor cells, there is also good evidence that class Ia PI3K enzymes also contributes to tumorigenesis via its function in tumor-associated stromal cells. For examples, PI3K signaling is known to play an important role in mediating angiogenic events in

15 endothelial cells in response to pro-angiogenic factors such as VEGF (abid *et al.*, Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol., 2004, 24, 294-300). As Class I PI3K enzymes are also involved in motility and migration (Sawyer, Expert Opinion investing. Drugs, 2004, 13, 1-19), PI3K inhibitors are anticipated to provide therapeutic benefit via inhibition of tumor cell invasion and metastasis.

20)

Summary of the Invention

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



25 (I)

in which

R1 is heteroaryl or substituted heteroaryl;

R2 is selected from: hydrogen, C1-C6alkyl, substituted C1-C6alkyl, -COOH, aryl, substituted aryl, arylalkyl, substituted arylalkyl;

30

each R3 and R4 is independently selected from: hydrogen, halogen, acyl, amino,

M

substituted amino, C1-6alkyl, substituted C1-6alkyl, C3-7cycloalkyl, substituted C3-7cycloalkyl, C3-7heterocycloalkyl, substituted C3-7heterocycloalkyl, alkylcarboxy, aminoalkyl, aryl, substituted aryl, heteroaryl, substituted heteroaryl, arylalkyl, substituted arylalkyl, arylcycloalkyl, substituted arylcycloalkyl, heteroarylalkyl, substituted heteroarylalkyl, cyano, hydroxyl, alkoxy, nitro, acyloxy, and aryloxy;
5 n is 0-2;
and/or a pharmaceutically acceptable salt, hydrate, solvate or pro-drug thereof.

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

This invention also relates to a method of treating one or more disease states selected from: autoimmune disorders, inflammatory diseases, cardiovascular diseases, neurodegenerative diseases, allergy, asthma, pancreatitis, multiorgan
15 failure, kidney diseases, platelet aggregation, sperm motility, transplantation rejection, graft rejection and lung injuries, which comprises administering to a subject in need thereof an effective amount of a compound of Formula (I).

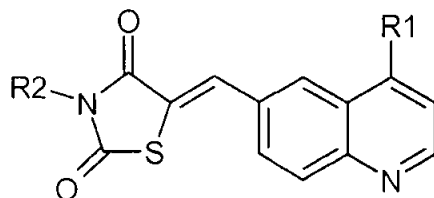
Included in the present invention are methods of co-administering the present PI3 kinase inhibiting compounds with further active ingredients.

20

Detailed Description of the Invention

Present compounds of Formula (I) inhibit one or more PI3 kinases. Suitably, the compounds of Formula (I) inhibit one or more PI3 kinases selected from: PI3K α , PI3K δ , PI3K β and PI3K γ .

25 Suitably, among the compounds of Formula (I) that are active as inhibitors of PI3 kinase activity are those having Formula (II):



II

30 in which

R1 is heteroaryl or substituted heteroaryl;

R2 is selected from: hydrogen, C1-6alkyl, substituted C1-C6alkyl, -COOH, aryl, substituted aryl, arylalkyl, substituted arylalkyl; and/or a pharmaceutically acceptable salt, hydrate, solvate or pro-drug thereof.

Suitably, present invention includes compounds of formula (I) or (II), wherein
5 R1 is a monocyclic heteroaryl or substituted monocyclic heteroaryl.

Suitably, the present invention includes compounds of formula (I) or (II), wherein R2 is hydrogen, and R1 is a monocyclic heteroaryl or substituted monocyclic heteroaryl.

Suitably, the present invention includes compounds of formula (I) or (II),
10 wherein R1 is a optionally substituted monocyclic heteroaryl containing 1 to 2 nitrogens.

Suitably, the present invention includes compounds of formula (I) or (II), wherein R2 is hydrogen, and R1 is a optionally substituted monocyclic heteroaryl containing 1 to 2 nitrogens.

15 Suitably, the present invention includes compounds of formula (I) or (II), wherein R1 is a monocyclic heteroaryl optionally substituted with one to three substituents selected from a group consisting of: hydrogen, halogen, C1-C6alkyl, acyl, trifluoromethyl, $-(CH_2)_nCOOH$, cyano, amino, alkyl amino, nitro, hydroxyl, alkoxy, acyloxy, aryloxy, acylamino, arylamino; n is 0 to 6.

20 Suitably, the present invention includes compounds of formula (I) or (II), wherein R2 is hydrogen, and R1 is a monocyclic heteroaryl optionally substituted with one to three substituents selected from a group consisting of: hydrogen, halogen, C1-C6alkyl, acyl, trifluoromethyl, $-(CH_2)_nCOOH$, cyano, amino, alkyl amino, nitro, hydroxyl, alkoxy, acyloxy, aryloxy, acylamino, arylamino; n is 0 to 6.

25 Suitably, the present invention includes compounds of formula (I) or (II), wherein R1 is a monocyclic heteroaryl containing 1 or 2 nitrogens, optionally substituted with one to three substituents selected from a group consisting of: hydrogen, halogen, C1-C6alkyl, acyl, trifluoromethyl, $-(CH_2)_nCOOH$, cyano, amino, alkyl amino, nitro, hydroxyl, alkoxy, acyloxy, aryloxy, acylamino, arylamino; n is 0 to
30 6.

Suitably, the present invention includes compounds of formula (I) or (II), wherein R2 is hydrogen, and R1 is a monocyclic heteroaryl containing 1 or 2 nitrogens, optionally substituted with one to three substituents selected from a group consisting of: hydrogen, halogen, C1-C6alkyl, acyl, trifluoromethyl, $-(CH_2)_nCOOH$, cyano, amino, alkyl amino, nitro, hydroxyl, alkoxy, acyloxy, aryloxy,
35

acylamino, arylamino; n is 0 to 6.

Suitably, the present invention includes compounds of formula (I) or (II), wherein R₂ is hydrogen, and R₁ is a monocyclic heteroaryl containing one nitrogen, optionally substituted with one to three substituents selected from a group
5 consisting of: hydrogen, halogen, C₁-C₆alkyl, acyl, trifluoromethyl, -(CH₂)_nCOOH, cyano, amino, alkyl amino, nitro, hydroxyl, alkoxy, acyloxy, aryloxy, acylamino, arylamino; n is 0 to 6.

Suitably, the present invention includes compounds of formula (I) or (II), wherein R₂ is hydrogen or C₁-6alkyl, and/or a pharmaceutically acceptable salt,
10 hydrate, solvate or pro-drug thereof.

Suitably, among the compounds of the present invention that are useful as inhibitors of PI3 kinase activity are :

- (5Z)-5-{{4-(3-pyridinyl)-6-quinolinyl}methylidene}-1,3-thiazolidine-2,4-dione;
(5Z)-5-{{4-(2-pyridinyl)-6-quinolinyl}methylidene}-1,3-thiazolidine-2,4-dione;
15 (5Z)-5-{{4-[2-(methyloxy)-5-pyrimidinyl]-6-quinolinyl}methylidene)-1,3-thiazolidine-2,4-dione;
(5Z)-5-{{4-[2-(methyloxy)-4-pyridinyl]-6-quinolinyl}methylidene)-1,3-thiazolidine-2,4-dione;
(5Z)-5-{{4-(6-amino-3-pyridinyl)-6-quinolinyl}methylidene}-1,3-thiazolidine-
20 2,4-dione;
(5Z)-5-{{4-(2-oxo-1,2-dihydro-4-pyridinyl)-6-quinolinyl}methylidene}-1,3-thiazolidine-2,4-dione;
(5Z)-5-{{4-[6-(4-morpholinyl)-3-pyridinyl]-6-quinolinyl}methylidene)-1,3-thiazolidine-2,4-dione;
25 (5Z)-5-{{4-[6-(4-methyl-1-piperazinyl)-3-pyridinyl]-6-quinolinyl}methylidene)-1,3-thiazolidine-2,4-dione;
(5Z)-5-{{4-(3-pyridazinyl)-6-quinolinyl}methylidene}-1,3-thiazolidine-2,4-dione;
(5Z)-5-{{4-[2-(methyloxy)-5-pyrimidinyl]-6-quinolinyl}methylidene)-1,3-
30 thiazolidine-2,4-dione;
(5Z)-5-{{4-(4-pyridinyl)-6-quinolinyl}methylidene}-1,3-thiazolidine-2,4-dione;
and
(5Z)-3-methyl-5-{{4-(4-pyridinyl)-6-quinolinyl}methylidene}-1,3-thiazolidine-2,4-dione; and/or pharmaceutically acceptable salts, hydrates, solvates or pro-
35 drugs thereof.



This invention also relates to a method of treating cancer, which comprises co-administering to a subject in need thereof an effective amount of a compound of Formula (I), and/or a pharmaceutically acceptable salt thereof; and at least one anti-neoplastic agent such as one selected from the group consisting of: anti-
5 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.

10 This invention also relates to a method of treating cancer, which comprises co-administering to a subject in need thereof an effective amount of a compound of Formula (I), and/or a pharmaceutically acceptable salt thereof; and at least one signal transduction pathway inhibitor such as one selected from the group consisting of: receptor tyrosine kinase inhibitor, non-receptor tyrosine kinase
15 inhibitor, SH2/SH3 domain blocker, serine/threonine kinase inhibitor, phosphatidylinositol-3 kinase inhibitor, myo-inositol signaling inhibitor, and Ras oncogene inhibitor.

As used herein, the term "effective amount" means that amount of a drug or pharmaceutical agent that will elicit the biological or medical response of a tissue,
20 system, animal or human that is being sought, for instance, by a researcher or clinician. Furthermore, the term "therapeutically effective amount" 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
25 disease or disorder. The term also includes within its scope amounts effective to enhance normal physiological function.

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

By the term substituted amino as used herein, is meant -NR₃₀R₄₀ wherein
30 each R₃₀ and R₄₀ is independently selected from a group including hydrogen, C1-6alkyl, acyl, aryl, substituted aryl, heteroaryl, substituted heteroaryl, C3-C7cycloalkyl, and substituted cycloalkyl.

By the term "aryl" as used herein, unless otherwise defined, is meant
35 aromatic, hydrocarbon, ring system. The ring system may be monocyclic or fused



polycyclic (e.g. bicyclic, tricyclic, etc.). In various embodiments, the monocyclic aryl ring is C5-C10, or C5-C7, or C5-C6, where these carbon numbers refer to the number of carbon atoms that form the ring system. A C6 ring system, i.e. a phenyl ring is a suitable aryl group. In various embodiments, the polycyclic ring is a bicyclic aryl group, where suitable bicyclic aryl groups are C8-C12, or C9-C10. A naphthyl ring, which has 10 carbon atoms, is a suitable polycyclic aryl group.

By the term "heteroaryl" as used herein, unless otherwise defined, is meant an aromatic ring system containing carbon(s) and at least one heteroatom. Heteroaryl may be monocyclic or polycyclic. The monocyclic heteroaryl group may have 1 to 4 heteroatoms in the ring, where the polycyclic ring may contain fused, spiro or bridged ring junctions. Monocyclic heteroaryl rings may contain from 5 to 8 member atoms (carbons and heteroatoms). Bicyclic heteroaryl rings may contain from 8 to 12 member atoms. Exemplary heteroaryl groups include benzofuran, benzothiophene, furan, imidazole, indole, isothiazole, oxazole, piperazine, pyrazine, pyrazole, pyridazine, pyridine, pyrimidine, pyrrole, quinoline, quinazoline, quinoxaline, thiazole, and thiophene.

By the term "monocyclic heteroaryl" as used herein, unless otherwise defined, is meant a monocyclic heteroaryl ring containing 1-5 carbon atoms and 1-3 hetero atoms.

By the term "alkoxy" as used herein is meant -O(alkyl) where alkyl is as described herein including -OCH₃, -OCH₂CH₃ and -OC(CH₃)₃.

The term "cycloalkyl" as used herein unless otherwise defined, is meant a nonaromatic, unsaturated or saturated, cyclic or polycyclic C₃-C₁₂.

Examples of cycloalkyl and substituted cycloalkyl substituents as used herein include: cyclohexyl, aminocyclohexyl, cyclobutyl, aminocyclobutyl, 4-hydroxy-cyclohexyl, 2-ethylcyclohexyl, propyl 4-methoxycyclohexyl, 4-methoxycyclohexyl, 4-carboxycyclohexyl, cyclopropyl, aminocyclopentyl, and cyclopentyl.

By the term "heterocycloalkyl" as used herein is meant a non-aromatic, unsaturated or saturated, monocyclic or polycyclic, heterocyclic ring containing at least one carbon and at least one heteroatom. Exemplary monocyclic heterocyclic rings include: piperidine, piperazine, pyrrolidine, and morpholine. Exemplary polycyclic heterocyclic rings include quinuclidine.

By the term "substituted" as used herein, unless otherwise defined, is meant that the subject chemical moiety has one or more substituents, suitably from one to

- five substituents, suitably from one to three, selected from the group consisting of: hydrogen, halogen, C1-C6alkyl, amino, trifluoromethyl, $-(CH_2)_nCOOH$, C3-C7cycloalkyl, aminoalkyl, aryl, heteroaryl, arylalkyl, arylcycloalkyl, heteroarylalkyl, heterocycloalkyl, cyano, hydroxyl, alkoxy, aryloxy, acyloxy, acylamino, arylamino, nitro, oxo, $-CO_2R_{50}$, and $-CONR_{55}R_{60}$, wherein R_{50} , R_{55} and R_{60} are each independently selected from hydrogen, and alkyl; n is 0 to 6.

By the term "acyloxy" as used herein is meant $-OC(O)alkyl$ where alkyl is as described herein. Examples of acyloxy substituents as used herein include: $-OC(O)CH_3$, $-OC(O)CH(CH_3)_2$ and $-OC(O)(CH_2)_3CH_3$.

- 10) By the term "acylamino" as used herein is meant $-N(H)C(O)alkyl$, where alkyl is as described herein. Examples of N-acylamino substituents as used herein include: $-N(H)C(O)CH_3$, $-N(H)C(O)CH(CH_3)_2$ and $-N(H)C(O)(CH_2)_3CH_3$.

By the term "aryloxy" as used herein is meant $-O(aryl)$, $-O(substituted\ aryl)$, $-O(heteroaryl)$ or $-O(substituted\ heteroaryl)$.

- 15) By the term "arylamino" as used herein is meant $-NH(aryl)$, $-NH(substituted\ aryl)$, $-NH(heteroaryl)$ or $-NH(substituted\ heteroaryl)$.

By the term "heteroatom" as used herein is meant oxygen, nitrogen or sulfur.

- 20) By the term "halogen" as used herein is meant a substituent selected from bromide, iodide, chloride and fluoride.

By the term "alkyl" and derivatives thereof and in all carbon chains as used herein, including alkyl chains defined by the term " $-(CH_2)_n$ ", " $-(CH_2)_m$ " and the like, is meant a linear or branched, saturated or unsaturated hydrocarbon chain, and unless otherwise defined, the carbon chain will contain from 1 to 12 carbon atoms.

- 25) Examples of alkyl and substituted alkyl substituents as used herein include:

- CH₃, -CH₂-CH₃, -CH₂-CH₂-CH₃, -CH(CH₃)₂, -CH₂-CH₂-C(CH₃)₃, -CH₂-CF₃, $-C\equiv C-C(CH_3)_3$, $-C\equiv C-CH_2-OH$, cyclopropylmethyl, $-CH_2-C(CH_3)_2-CH_2-NH_2$, $-C\equiv C-C_6H_5$, $-C\equiv C-C(CH_3)_2-OH$, $-CH_2-CH(OH)-CH(OH)-CH(OH)-CH(OH)-CH_2-OH$, piperidinylmethyl, methoxyphenylethyl, -C(CH₃)₃, $-(CH_2)_3-CH_3$, $-CH_2-CH(CH_3)_2$, $-CH(CH_3)-CH_2-CH_3$, $-CH=CH_2$, and $-C\equiv C-CH_3$.

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



By the term "co-administering" and derivatives thereof as used herein is meant either simultaneous administration or any manner of separate sequential administration of a PI3 kinase 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. 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. Suitably, if the administration is not simultaneous, the compounds are administered in a close time proximity to each other. Furthermore, it does not 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.

The term "compound" as used herein includes all isomers of the compound. Examples of such isomers include: enantiomers, tautomers, rotamers.

Certain compounds described herein may contain one or more chiral atoms, or may otherwise be capable of existing as two enantiomers, or two or more diastereoisomers. Accordingly, the compounds of this invention include mixtures of enantiomers/diastereoisomers as well as purified enantiomers/diastereoisomers or enantiomerically/diastereoisomerically enriched mixtures. Also included within the scope of the invention are the individual isomers of the compounds represented by formula I or II above as well as any wholly or partially equilibrated mixtures thereof. The present invention also covers the individual isomers of the compounds represented by the formulas above as mixtures with isomers thereof in which one or more chiral centers are inverted. Further, an example of a possible tautomer is an oxo substituent in place of a hydroxy substituent. Also, as stated above, it is understood that all tautomers and mixtures of tautomers are included within the scope of the compounds of Formula I or II.

Compounds of Formula (I) are included in the pharmaceutical compositions of the invention. Where a -COOH or -OH group is present, pharmaceutically acceptable esters can be employed, for example methyl, ethyl, pivaloyloxymethyl, and the like for -COOH, and acetate maleate and the like for -OH, and those esters known in the art for modifying solubility or hydrolysis characteristics, for use as sustained release or prodrug formulations.

It has now been found that compounds of the present invention are inhibitors of the Phosphatoinositides 3-kinases (PI3Ks). When the

phosphatoinositides 3-kinase (PI3K) enzyme is inhibited by a compound of the present invention, PI3K is unable to exert its enzymatic, biological and/or pharmacological effects. The compounds of the present invention are therefore useful in the treatment of autoimmune disorders, inflammatory diseases,

5 cardiovascular diseases, neurodegenerative diseases, allergy, asthma, pancreatitis, multiorgan failure, kidney diseases, platelet aggregation, cancer, sperm motility, transplantation rejection, graft rejection and lung injuries.

The compounds of Formula (I) are useful as medicaments in particular for the treatment of autoimmune disorders, inflammatory diseases, cardiovascular
10 diseases, neurodegenerative diseases, allergy, asthma, pancreatitis, multiorgan failure, kidney diseases, platelet aggregation, cancer, sperm motility, transplantation rejection, graft rejection and lung injuries. According to one embodiment of the present invention, the compounds of Formula (I) are inhibitors of one or more phosphatoinositides 3-kinases (PI3Ks), suitably, Phosphatoinositides
15 3-kinase γ (PI3K γ), Phosphatoinositides 3-kinase α (PI3K α), Phosphatoinositides 3-kinase β (PI3K β), and/or Phosphatoinositides 3-kinase δ (PI3K δ).

Compounds according to Formula (I) are suitable for the modulation, notably the inhibition of the activity of phosphatoinositides 3-kinases (PI3K), suitably phosphatoinositides 3-kinase (PI3K α). Therefore the compounds of the present
20 invention are also useful for the treatment of disorders which are mediated by PI3Ks. Said treatment involves the modulation – notably the inhibition or the down regulation – of the phosphatoinositides 3-kinases.

Suitably, the compounds of the present invention are used for the preparation of a medicament for the treatment of a disorder selected from multiple
25 sclerosis, psoriasis, rheumatoid arthritis, systemic lupus erythematosus, inflammatory bowel disease, lung inflammation, thrombosis or brain infection/inflammation, such as meningitis or encephalitis, Alzheimer's disease, Huntington's disease, CNS trauma, stroke or ischemic conditions, cardiovascular diseases such as athero-sclerosis, heart hypertrophy, cardiac myocyte dysfunction,
30 elevated blood pressure or vasoconstriction.

Suitably, the compounds of Formula (I) are useful for the treatment of autoimmune diseases or inflammatory diseases such as multiple sclerosis, psoriasis, rheumatoid arthritis, systemic lupus erythematosus, inflammatory bowel
35 disease, lung inflammation, thrombosis or brain infection/inflammation such as meningitis or encephalitis.

Suitably, the compounds of Formula (I) are useful for the treatment of neurodegenerative diseases including multiple sclerosis, Alzheimer's disease, Huntington's disease, CNS trauma, stroke or ischemic conditions.

5 Suitably, the compounds of Formula (I) are useful for the treatment of cardiovascular diseases such as atherosclerosis, heart hypertrophy, cardiac myocyte dysfunction, elevated blood pressure or vasoconstriction.

Suitably, the compounds of Formula (I) are useful for the treatment of chronic obstructive pulmonary disease, anaphylactic shock fibrosis, psoriasis, allergic diseases, asthma, stroke, ischemic conditions, ischemia-reperfusion, platelets aggregation/activation, skeletal muscle atrophy/hypertrophy, leukocyte recruitment in cancer tissue, angiogenesis, invasion metastasis, in particular melanoma, Kaposi's sarcoma, acute and chronic bacterial and viral infections, sepsis, transplantation rejection, graft rejection, glomerulo sclerosis, glomerulo nephritis, progressive renal fibrosis, endothelial and epithelial injuries in the lung, and lung airway inflammation.

Because the pharmaceutically active compounds of the present invention are active as PI3 kinase inhibitors, particularly the compounds that inhibit PI3K α , either selectively or in conjunction with one or more of PI3K δ , PI3K β , and/or PI3K γ , they exhibit therapeutic utility in treating cancer.

20 Suitably, the invention relates to a method of treating cancer in a mammal, including a human, wherein the cancer is selected from: brain (gliomas), glioblastomas, leukemias, Bannayan-Zonana syndrome, Cowden disease, Lhermitte-Duclos disease, breast, inflammatory breast cancer, Wilm's tumor, Ewing's sarcoma, Rhabdomyosarcoma, ependymoma, medulloblastoma, colon, head and neck, kidney, lung, liver, melanoma, ovarian, pancreatic, prostate, sarcoma, osteosarcoma, giant cell tumor of bone and thyroid.

Suitably, the invention relates to a method of treating cancer in a mammal, including a human, wherein the cancer is selected from: Lymphoblastic T cell leukemia, Chronic myelogenous leukemia, Chronic lymphocytic leukemia, Hairy-cell leukemia, acute lymphoblastic leukemia, acute myelogenous leukemia, Chronic neutrophilic leukemia, Acute lymphoblastic T cell leukemia, Plasmacytoma, Immunoblastic large cell leukemia, Mantle cell leukemia, Multiple myeloma Megakaryoblastic leukemia, multiple myeloma, Acute megakaryocytic leukemia, promyelocytic leukemia and Erythroleukemia.

35 Suitably, the invention relates to a method of treating cancer in a mammal,

including a human, wherein the cancer is selected from: malignant lymphoma, hodgkins lymphoma, non-hodgkins lymphoma, lymphoblastic T cell lymphoma, Burkitt's lymphoma and follicular lymphoma.

Suitably, the invention relates to a method of treating cancer in a mammal,
5 including a human, wherein the cancer is selected from: neuroblastoma, bladder cancer, urothelial cancer, lung cancer, vulval cancer, cervical cancer, endometrial cancer, renal cancer, mesothelioma, esophageal cancer, salivary gland cancer, hepatocellular cancer, gastric cancer, nasopharyngeal cancer, buccal cancer, cancer of the mouth, GIST (gastrointestinal stromal tumor) and testicular cancer.

10 When a compound of Formula (I) is administered for the treatment of cancer, the term "co-administering" and derivatives thereof as used herein is meant either simultaneous administration or any manner of separate sequential administration of a PI3 kinase inhibiting compound, as described herein, and a further active ingredient or ingredients, known to be useful in the treatment of
15 cancer, including chemotherapy and radiation treatment. 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. Preferably, if the administration is not simultaneous, the compounds are administered in a close time proximity to each
20 other. Furthermore, it does not 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
25 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-
30 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
35 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.

- 5 Examples of a further active ingredient or ingredients for use in combination or co-administered with the present PI3 kinase 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
10 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
15 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
20 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 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
25 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
30 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
35 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).

- 10 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,
- 15 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,
- 20 vinblastine, vincristine, and vinorelbine.

- Vinblastine, vincaleukoblastine 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.
- 25

- Vincristine, vincaleukoblastine, 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.
- 30

- 35 Vinorelbine, 3',4'-didehydro -4'-deoxy-C'-norvincaleukoblastine [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
5 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
10 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
15 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
20 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
25 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.

30 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
35 doxorubicin; and bleomycins.

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

- 5 Daunorubicin, (8S-cis-)-8-acetyl-10-[(3-amino-2,3,6-trideoxy- α -L-lyxo-hexopyranosyl)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
10 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-lyxo-hexopyranosyl)oxy]-8-glycoloyl, 7,8,9,10-tetrahydro-6,8,11-trihydroxy-1-methoxy-5,12 naphthacenedione hydrochloride, is commercially available as an injectable
15 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
20 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.

- 25 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
30 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
35

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, mercaptopurine, 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 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, erythrohydroxynonyladenine, 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.

Camptothecins, including, camptothecin and camptothecin derivatives are available or under development as Topoisomerase I inhibitors. Camptothecins

jb

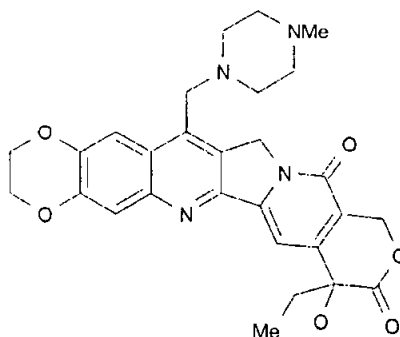
cytotoxic activity is believed to be related to its Topoisomerase I inhibitory activity. Examples of camptothecins include, but are not limited to irinotecan, topotecan, and the various optical forms of 7-(4-methylpiperazino-methylene)-10,11-ethylenedioxy-20-camptothecin described below.

- 5 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
10 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.

- 15 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 singles strand breaks caused by Topoisomerase I in response
20 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,
25 currently under development, including the racemic mixture (R,S) form as well as the R and S enantiomers:



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, phosphatidyl inositol-3 kinases, myo-inositol signaling, and Ras oncogenes.

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.

- 5 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
- 10 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
- 15 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
- 20 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
- 25 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 useful in the present
- 30 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.
- 35

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.

5 (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, 10 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; 15 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-lacaci, L., et al, Int. J. Cancer (2000), 88(1), 44-52.

Inhibitors of Phosphotidyl inositol-3 Kinase family members including 20 blockers of PI3-kinase, ATM, DNA-PK, and Ku are also 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.

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

30 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.

35 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.

As mentioned above, antibody antagonists to receptor kinase ligand binding
5 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
10 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).

15 Non-receptor kinase angiogenesis inhibitors may also find use 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
20 angiogenesis, primarily VEGF expression. Thus, the combination of an erbB2/EGFR inhibitor with an inhibitor of angiogenesis makes sense. Accordingly, non-receptor tyrosine kinase inhibitors may be used in combination with the EGFR/erbB2 inhibitors of the present invention. For example, anti-VEGF antibodies, which do not recognize VEGFR (the receptor tyrosine kinase), but bind
25 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 erb family inhibitors. (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).

30 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 against erbB2 or EGFR. These strategies are generally in the realm of tumor vaccinations. The efficacy of immunologic approaches may be greatly enhanced through combined inhibition of
35 erbB2/EGFR 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 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.

- 10) Because the pharmaceutically active compounds of the present invention are active as PI3 kinase inhibitors, particularly the compounds that modulate/inhibit PI3K γ , either selectively or in conjunction with one or more of PI3K δ , PI3K β , and/or PI3K α , they exhibit therapeutic utility in treating a disease state selected from: autoimmune disorders, inflammatory diseases, cardiovascular diseases, neurodegenerative diseases, allergy, asthma, pancreatitis, multiorgan failure, kidney diseases, platelet aggregation, sperm motility, transplantation rejection, graft rejection and lung injuries.

- When a compound of Formula (I) is administered for the treatment of a disease state selected from: autoimmune disorders, inflammatory diseases, cardiovascular diseases, neurodegenerative diseases, allergy, asthma, pancreatitis, multiorgan failure, kidney diseases, platelet aggregation, sperm motility, transplantation rejection, graft rejection or lung injuries, the term "co-administering" and derivatives thereof as used herein is meant either simultaneous administration or any manner of separate sequential administration of a PI3 kinase inhibiting compound, as described herein, and a further active ingredient or ingredients, known to be useful in the treatment of autoimmune disorders, inflammatory diseases, cardiovascular diseases, neurodegenerative diseases, allergy, asthma, pancreatitis, multiorgan failure, kidney diseases, platelet aggregation, sperm motility, transplantation rejection, graft rejection and/or lung injuries.

30)

Biological assays

PI3K alpha Leadseeker SPA Assay

- Compounds of the present invention were tested according to the following assays and found as inhibitors of PI3 kinases, particularly PI3K α . The activities (IC₅₀) range from 1 nM to 500 μ M against PI3K α .

W3

The compound of example 1 was tested and found to have an IC₅₀ of 1 nM against PI3K α in the assays.

Assay principle

- 5 SPA imaging beads are microspheres containing scintillant which emit light in the red region of the visible spectrum. As a result, these beads are ideally suited to use with a CCD imager such as the Viewlux. The Leadseeker beads used in this system are polystyrene beads that have been coupled with polyethyleneimine. When added to the assay mixture, the beads absorb both the substrate (PIP₂) and
- 10 product (PIP₃). Adsorbed P³³-PIP₃ will cause an increase in signal, measured as ADUs (analog to digital units). This protocol details the use of the PEI-PS Leadseeker beads for assays using His-p110/p85 PI3K α .

Assay protocol

- 15 Solid compounds are typically plated with 0.1 μ l of 100% DMSO in all wells (except column 6 and 18) of a 384-well, flat bottom, low volume plate (Greiner 784075). The compounds are serially diluted (3-fold in 100% DMSO) across the plate from column 1 to column 12 and column 13 to column 24 and leave column 6 and 18 containing only DMSO to yield 11 concentrations for each test compound.
- 20 The assay buffer contains MOPS (pH 6.5), CHAPS, and DTT. PI3K α and PIP₂ (L- α -D-myo-Phosphatidylinositol 4,5-bisphosphate [PI(4,5)P₂]3-O-phospho linked, D(+)-sn-1,2-di-O-octanoylglycerol, CellSignals # 901) are mixed and incubated in the plate with compound for 30min prior to starting the reaction with the addition of P³³-ATP and MgCl₂ (reagents added using Zoom). Enzyme-free
- 25 wells (column 18) are typically done to determine the low control. PEI-PS Leadseeker beads in PBS/EDTA/CHAPS are added (by Multidrop) to quench the reaction, and the plates are allowed to incubate for at least one hour (typically overnight) before centrifugation. The signal is determined using a Viewlux detector and is then imported into curve fitting software (Activity Base) for construction of
- 30 concentration response curves. The percent inhibition of activity was calculated relative to high controls (C1, 0.1 μ l DMSO in column 6, rows A-P) and low controls (C2, 5 μ l of 40 μ M PIP₂ in buffer in column 18, rows A-P) using, $100 \times (1 - (U1 - C2)/(C1 - C2))$. The concentration of test compound yielding 50% inhibition was determined using the equation, $y = ((V_{max} \times x) / (K + x)) + Y2$, where "K" was equal to
- 35 the IC₅₀. The IC₅₀ values were converted to pIC₅₀ values, i.e., -log IC₅₀ in Molar

concentration.

Cellular assays:

DAY 1

- 5 Plate cells before noon
10K cells/well in clear flat-bottomed 96-well plates (*f.v.* 105ul)
Last four wells in last column receive media only
Place in 37degC incubator overnight
Compound plate
- 10 Prepare in polypropylene round-bottomed 96-well plates; 8 compounds per plate, 11-pt titrations of each (3x serial dilution), DMSO in last column (0.15% *f.c.* on cells)
15ul in first well, 10ul DMSO in the rest; take 5ul from first well and mix in next, continue across plate (*excluding last column*); seal with foil lid and place at 4degC

15 DAY 2

- Take out Lysis buffer inhibitors (4degC/-20degC) and compound plates (4degC), thaw on bench top; make 1x Tris wash buffer (WB) to fill reservoir on plate washer and top off bench supply (use MiliQ), turn on centrifuge to allow it to cool
Block MSD plates
- 20 Make 20ml 3% blocking solution/plate (600mg blocker A in 20ml WB), add 150ul/well and incubate at RT for at least 1 hr
Add compound (while blocking)
Add 300ul growth media (RPMI w/ Q, 10% FBS) per well (682x dil of compound) to each compound plate
- 25 Add 5ul compound dilution into each well (*f.v.* 110ul) on duplicate plates
Place in 37degC incubator for 30min
Make lysates
Prepare MSD Lysis buffer; for 10ml add 200ul protease inhibitor solution, and 100ul each of Phosphatase inhibitors I & II (*Keep on ice until ready for use*)
- 30 Remove plates post-incubation, aspirate media with plate washer, wash 1x with cold PBS, and add 80ul MSD Lysis buffer per well; incubate on shaker at 4degC for ≥30min
Spin cold at 2500rpm for 10min; leave plates in 4degC centrifuge until ready for use

AKT duplex assay

- 35 Wash plates (4x with 200ul/well WB in plate washer); tap plates on paper towel to

blot.

Add 60ul of lysates/well, incubate on shaker at RT for 1hr

During incubation prepare detection Ab (3ml/plate; 2ml WB and 1ml blocking solution w/ Ab at 10nM); repeat wash step as above

- 5 Add 25ul of Ab/well, incubate on shaker at RT for 1hr; repeat wash step as above
Add 150ul/well 1x Read Buffer (dilute 4x stock in ddH₂O, 20ml/plate), read immediately

Analysis

- 10) Observe all the data points at each compound concentration.
The data point from highest inhibitor concentration must be equal or greater than 70% of DMSO control.
IC₅₀ for duplicate runs must be within 2-fold of each other (not flagged in summary template).
- 15 Y min must be greater than zero; if both mins are red flagged (>35) then compound is listed as inactive (IC₅₀= > highest dose). If only one min is red flagged, but still ≤50 then call IC₅₀ as listed.
Any data points equal or greater than 30% off the curve will not be considered.

20) **Cell Growth/Death Assay:**

- BT474, HCC1954 and T-47D (human breast) were cultured in RPMI-1640 containing 10% fetal bovine serum at 37°C in 5% CO₂ incubator. Cells were split into T75 flask (Falcon #353136) two to three days prior to assay set up at density which yields approximately 70-80% confluence at time of harvest for assay. Cells
- 25 were harvested using 0.25% trypsin-EDTA (Sigma #4049). Cell counts were performed on cell suspension using Trypan Blue exclusion staining. Cells were then plated in 384 well black flat bottom polystyrene (Greiner #781086) in 48 µl of culture media per well at 1,000 cells/well. All plates were placed at 5% CO₂, 37°C overnight and test compounds were added the following day. One plate was treated with
- 30 CellTiter-Glo (Promega #G7573) for a day 0 (t=0) measurement and read as described below. The test compounds were prepared in clear bottom polypropylene 384 well plates (Greiner#781280) with consecutive two fold dilutions. 4 µl of these dilutions were added to 105 µl culture media, after mixing the solution, 2 µl of these dilutions were added into each well of the cell plates. The final concentration of
- 35 DMSO in all wells was 0.15%. Cells were incubated at 37°C, 5% CO₂ for 72 hours.

- Following 72 hours of incubation with compounds each plate was developed and read. CellTiter-Glo reagent was added to assay plates using a volume equivalent to the cell culture volume in the wells. Plates were shaken for approximately two minutes and incubated at room temperature for approximately 30 minutes and
- 5 chemiluminescent signal was read on the Analyst GT (Molecular Devices) reader. Results were expressed as a percent of the t=0 and plotted against the compound concentration. Cell growth inhibition was determined for each compound by fitting the dose response with a 4 or 6 parameter curve fit using XLfit software and determining the concentration that inhibited 50% of the cell growth (glC50) with the
- 10 Y min as the t=0 and Y max as the DMSO control. Value from wells with no cells was subtracted from all samples for background correction.

Additional references:

- The compounds of the present invention can also be tested to determine their
- 15 inhibitory activity at PI3K α , PI3K δ , PI3K β and PI3K γ according to the following references:

For all PI3K isoforms:

- Cloning, expression, purification, and characterization of the human Class Ia
- 20 phosphoinositide 3-kinase isoforms: Meier, T.I.; Cook, J.A.; Thomas, J.E.; Radding, J.A.; Horn, C.; Lingaraj, T.; Smith, M.C. Protein Expr. Purif., **2004**, 35(2), 218.
- Competitive fluorescence polarization assays for the detection of phosphoinositide kinase and phosphatase activity: Drees, B.E.; Weipert, A.; Hudson, H.; Ferguson, C.G.; Chakravarty, L.; Prestwich, G.D. Comb. Chem. High Throughput Screen.,
- 25 **2003**, 6(4), 321.

For PI3K γ : WO 2005/011686 A1

- The pharmaceutically active compounds within the scope of this invention are useful as PI3 Kinase inhibitors in mammals, particularly humans, in need
- 30 thereof.

- The present invention therefore provides a method of treating diseases associated with PI3 kinase inhibition, particularly: autoimmune disorders, inflammatory diseases, cardiovascular diseases, neurodegenerative diseases, allergy, asthma, pancreatitis, multiorgan failure, kidney diseases, platelet
- 35 aggregation, cancer, sperm motility, transplantation rejection, graft rejection and

lung injuries and other conditions requiring PI3 kinase modulation/inhibition, which comprises administering an effective 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

5 disease states because of their ability to act as PI3 inhibitors. The drug may be administered to a patient in need thereof by any conventional route of administration, including, but not limited to, intravenous, intramuscular, oral, subcutaneous, intradermal, and parenteral.

The pharmaceutically active compounds of the present invention are

10 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 or diluent may

15 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 be in the form of a syrup, elixir, emulsion, soft gelatin capsule, sterile injectable liquid such as an ampoule, or an aqueous or

20 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.

25 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 a PI3K inhibitor, the selected dose is administered preferably from 1-6 times daily,

30 orally or parenterally. Preferred forms of parenteral administration include topically, rectally, transdermally, by injection and continuously by infusion. Oral dosage units for human administration preferably contain from 0.05 to 3500 mg of active compound. Oral administration, which uses lower dosages is preferred. Parenteral administration, at high dosages, however, also can be used when safe and

35 convenient for the patient.

Optimal dosages to be administered may be readily determined by those skilled in the art, and will vary with the particular PI3 kinase 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

5 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 PI3 kinase inhibitory activity in mammals, including humans, comprises administering to a subject in need of such activity an effective PI3 kinase modulating/inhibiting amount of a pharmaceutically

10 active compound of the present invention.

The invention also provides for the use of a compound of Formula (I) in the manufacture of a medicament for use as a PI3 kinase inhibitor.

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

15 The invention also provides for the use of a compound of Formula (I) in the manufacture of a medicament for use in treating autoimmune disorders, inflammatory diseases, cardiovascular diseases, neurodegenerative diseases, allergy, asthma, pancreatitis, multiorgan failure, kidney diseases, platelet aggregation, cancer, sperm motility, transplantation rejection, graft rejection and

20 lung injuries.

The invention also provides for a pharmaceutical composition for use as a PI3 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

25 treatment of autoimmune disorders, inflammatory diseases, cardiovascular diseases, neurodegenerative diseases, allergy, asthma, pancreatitis, multiorgan failure, kidney diseases, platelet aggregation, cancer, sperm motility, transplantation rejection, graft rejection and lung injuries, which comprises a compound of Formula (I) and a pharmaceutically acceptable carrier.

30 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, including compounds known

35 to have utility when used in combination with a PI3 kinase 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.

5

Experimental Details

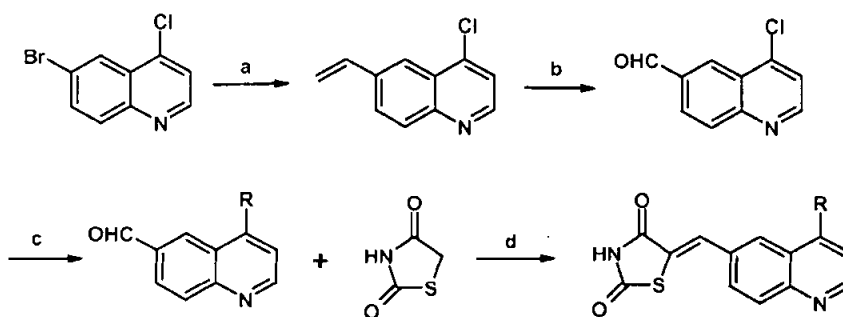
Preparation

The derivatives described herein are prepared by the general methods described below:

10

Schemes/Experimentals

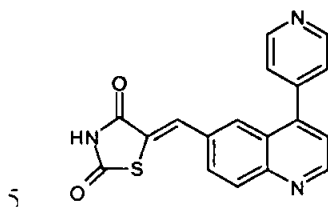
Scheme I:



15

Conditions: a) Tributyl(vinyl)tin, $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$, dioxane, reflux; b) OsO_4 , NaIO_4 , 2,6-lutidine, *t*-BuOH, dioxane, H_2O , rt; c) heteroaryl (**R**) boronic acid, $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$, 2 M K_2CO_3 , DMF, 100 °C; d) 2,4-thiazolidinedione, piperidine, AcOH, EtOH, μwave , 150 °C.

50

Examples:**Example 1: (5Z)-5-[4-(4-pyridinyl)-6-quinolinyl]methylidene}-1,3-thiazolidine-2,4-dione**

10

a) 4-chloro-6-ethenylquinoline

A mixture of 6-bromo-4-chloroquinoline (6.52 g, 26.88 mmol; see *J. Med. Chem.*, 21, 268 (1978)), tributyl(vinyl)tin (8.95 g, 28.22 mmol), and tetrakis(triphenylphosphine) palladium (0) (0.62 g, 0.54 mmol) in 1,4-dioxane (150 mL) was refluxed for 2.0 h, cooled to room temperature, and concentrated in vacuo. The residue was purified by flash chromatography on silica gel (0-4% MeOH:CH₂Cl₂) to give the title compound (5.1 g) as a pale yellow solid. MS(ES)⁺ m/e 190 [M+H]⁺. This material was used directly in the next step.

15

b) 4-chloro-6-quinolinecarbaldehyde

A mixture of 4-chloro-6-ethenylquinoline (5.1 g, 26.88 mmol), 2,6-lutidine (5.76 g, 53.75 mmol), sodium (meta) periodate (22.99 g, 107.51 mmol), and osmium tetroxide (5.48 g of a 2.5% solution in tert-butanol, 0.538 mmol) in 1,4-dioxane:H₂O (350 mL of 3:1 mixture) was stirred for 3.5 h at room temperature and concentrated in vacuo. The residue was purified by flash chromatography on silica gel (CH₂Cl₂) to give the title compound (4.26 g, 83% for 2 steps) as a pale yellow solid. MS(ES)⁺ m/e 192 [M+H]⁺.

25

c) 4-(4-pyridinyl)-6-quinolinecarbaldehyde

A mixture of 4-chloro-6-quinolinecarbaldehyde (3.24 g, 16.92 mmol), 4-pyridylboronic acid (3.12 g, 25.38 mmol), tetrakis(triphenylphosphine) palladium (0) (0.978 g, 0.846 mmol), and 2M aqueous K₂CO₃ (7.02 g, 50.76 mmol, 25.4 mls of 2M solution) in DMF (100 mL) was heated at 100°C for 3.0 h and cooled to room temperature. The mixture was filtered through celite and the celite was washed with EtOAc. The filtrate was transferred to a separatory funnel, washed with water

30

51

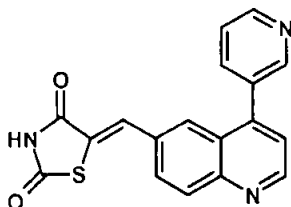
and saturated NaCl, dried (Na_2SO_4), filtered and concentrated in vacuo. The residue was purified by flash chromatography on silica gel (5% MeOH: CH_2Cl_2) to give the title compound (2.03 g, 51%) as a tan solid. MS(ES)⁺ m/e 235 [M+H]⁺.

5 d) (5Z)-5-[[4-(4-pyridinyl)-6-quinolinyl]methylidene]-1,3-thiazolidine-2,4-dione

A mixture of 4-(4-pyridinyl)-6-quinolinecarbaldehyde (0.108 g, 0.463 mmol), 2,4-thiazolidinedione (0.0417 g, 0.356 mmol), piperidine (0.0303 g, 0.356 mmol), and acetic acid (0.0214 g, 0.356 mmol) in EtOH (5 mL) was heated at 150°C for 30 minutes in a microwave oven. The reaction was cooled to room temperature and the resulting precipitate was filtered and dried in a Buchner funnel to give the title compound (0.0594 g, 50%) as a tan solid. MS(ES)⁺ m/e 334 [M+H]⁺. ¹H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ ppm 9.08 (d, $J=4.42$ Hz, 1 H) 8.80 - 8.88 (m, 2 H) 8.25 (d, $J=8.72$ Hz, 1 H) 8.00 - 8.07 (m, 2 H) 7.98 (s, 1 H) 7.65 - 7.68 (m, 2 H) 7.63 (d, $J=4.42$ Hz, 1 H).

15

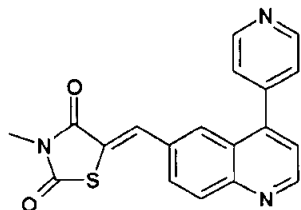
Example 2: (5Z)-5-[[4-(3-pyridinyl)-6-quinolinyl]methylidene]-1,3-thiazolidine-2,4-dione



20

Following the procedure used to prepare Example 1, the title compound was prepared by substituting 3-pyridinylboronic acid for 4-pyridinylboronic acid. MS(ES)⁺ m/e 334 [M+H]⁺.

Example 3: (5Z)-3-methyl-5-{[4-(4-pyridinyl)-6-quinolinyl]methylidene}-1,3-thiazolidine-2,4-dione



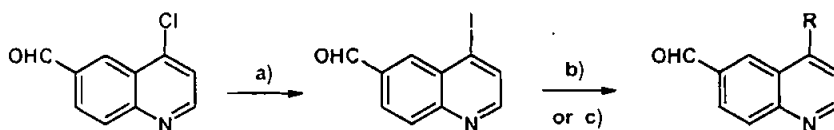
5

Following the procedure used to prepare Example 1, the title compound was prepared by substituting 3-methyl-1,3-thiazolidine-2,4-dione in place of 1,3-thiazolidine-2,4-dione, to give a light yellow solid. MS(ES)⁺ m/e 348 [M+H]⁺.

Alternatively, some examples were prepared via a palladium mediated Suzuki (or Stille) coupling of a heteroaryl boronic acid (or heteroaryl stannane) with 4-iodo-6-quinolinecarbaldehyde (Scheme II). The iodide intermediate was prepared by treating the corresponding chloride with 4 N HCl, followed by sodium iodide. The heteroaryl aldehydes were converted to the title compounds following the same procedure used to prepare Example 1.

15

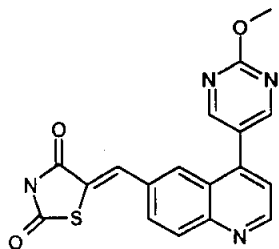
Scheme II:



Conditions: a) 4 N HCl in dioxane, rt, 5 min; then NaI, 105 °C, 18 h; b) heteroaryl (R) boronic acid, Pd(PPh₃)₄, 2 M K₂CO₃, dioxane, 100 °C or c) tributyl(heteroaryl)tin, Pd(PPh₃)₄, dioxane, reflux.

20

Example 4: (5Z)-5-((4-[2-(methyloxy)-5-pyrimidinyl]-6-quinolinyl)methylidene)-1,3-thiazolidine-2,4-dione



5 a) 4-iodo-6-quinolinecarbaldehyde

In a large reaction tube, to a solution of 4-chloro-6-quinolinecarbaldehyde (4.26 g, 22.2 mmol) in propionitrile (125 mL) was added 4 N HCl in dioxane (2 eq HCl, 11.1 mL, 44.4 mmol). The solution was stirred for 15 minutes and charged with 3 eq of sodium iodide (10 g, 66 mmol). The reaction tube was sealed and
10 heated at 105 °C overnight. The reaction was monitored by LCMS. The reaction was allowed to cool to ambient temperature and the product filtered off and washed with acetonitrile. The crude solid was then placed in a beaker and saturated sodium bicarbonate was added with stirring until pH 9.5. The solid was then extracted into methylene chloride. The methylene chloride layer was then
15 washed with water, dried over sodium sulfate and concentrated *in vacuo* to give the title compound in 85% yield.

b) 4-[6-(methyloxy)-3-pyridinyl]-6-quinolinecarbaldehyde

A mixture of 6-(methyloxy)-3-pyridinyl]boronic acid (225 mg, 1.5 mmol), 4-
20 iodo-6-quinolinecarbaldehyde (283 mg, 1 mmol), tetrakis(triphenylphosphine) palladium (0) (57 mg, 0.05 mmol), 2 M aqueous K₂CO₃ (2.5 mL of a 2 M solution), and dioxane (5 mL)) was heated at 100 °C for 8 h and cooled to room temperature. The dioxane was removed under reduced pressure and the residue dissolved in 2:1 mixture of methylene chloride/water and the solution filtered. The organic layer was
25 separated and dried with sodium sulfate and the crude product obtained by decanting the solution and evaporation of the methylene chloride. The crude product was purified by silica gel chromatography eluting with methylene chloride/methanol (0-1% methanol gradient) to give the title compound (250 mg, 95 %). MS(ES)⁺ m/e 265 [M+H]⁺.

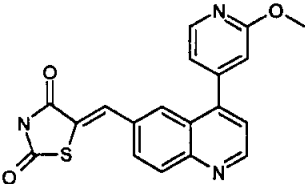
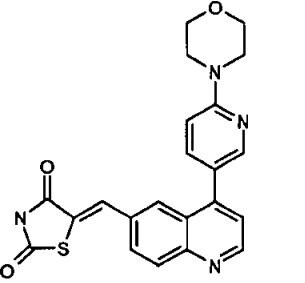
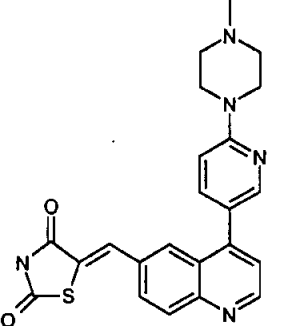
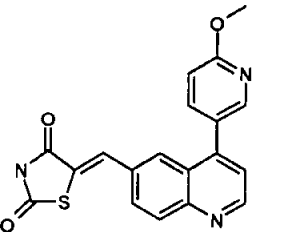
30

gil

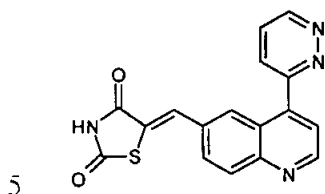
(5Z)-5-({4-[2-(methoxy)-5-pyrimidinyl]-6-quinolinyl}methylidene)-1,3-thiazolidine-2,4-dione was then prepared following the procedure of Example 1d. MS(ES)⁺ m/e 365 [M+H]⁺.

- 5 Compound 5, 6, 7, and 8 are prepared following the procedure used to prepare

Example 4:

Example	Structure	MS(ES) [M+H] ⁺
5		364
6		419
7		432
8		364

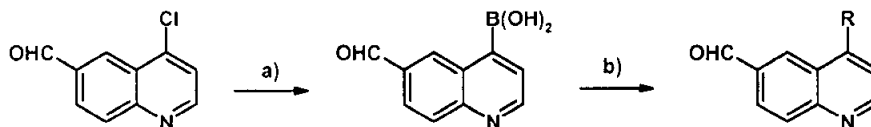
Example 9: (5Z)-5-{[4-(3-pyridazinyl)-6-quinolinyl]methylidene}-1,3-thiazolidine-2,4-dione



a) 4-(3-pyridazinyl)-6-quinolinecarbaldehyde

- A mixture of 4-iodo-6-quinolinecarbaldehyde (142 mg, 0.5 mmol), 3-(tributylstannyl)pyridazine (220 mg, 0.6 mmol), and dichloro-
- 10 [1,1'-bis(diphenylphosphino)ferrocene]palladium (II) dichloromethane adduct (12.2 mg, 0.015 mmol) in dioxane (3 mL) was heated at 100 °C for 5 h and cooled to room temperature. Three hundred milligrams of silica gel was added to the reaction and the dioxane was evaporated. The dry pack was loaded on top of a 10 gram silica column packed in methylene chloride and eluted with (0-3 % MeOH:CH₂Cl₂)
- 15 to give the title compound (170 mg, 72%) as a solid. MS(ES)⁺ m/e 236 [M+H]⁺. (5Z)-5-{[4-(3-pyridazinyl)-6-quinolinyl]methylidene}-1,3-thiazolidine-2,4-dione was then prepared following the procedure of Example 1d. MS(ES)⁺ m/e 335 [M+H]⁺. Additional examples were prepared via a palladium mediated Suzuki coupling of a heteroaryl bromide with 4-(4,4,5,5-tetramethyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)-6-
- 20 quinolinecarbaldehyde (Scheme III). The boronate intermediate was prepared by a palladium (0) mediated reaction of the corresponding chloride. The heteroaryl aldehydes were converted to the title compounds following the same procedure used to prepare Example 1.

25 **Scheme III:**

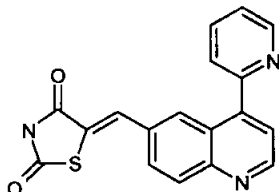


- Conditions: a) 4,4,4',4',5,5,5',5'-octamethyl-2,2'-bi-1,3,2-dioxaborolane, potassium acetate, dichloro-[1,1'-bis(diphenylphosphino) ferrocene]palladium (II)
- 30 dichloromethane adduct, dioxane, 100 °C, 18 h; b) heteroaryl (**R**) bromide (1.3 eq),

tetrakis(triphenyl)phosphine palladium (0), 2 M aqueous K₂CO₃, dioxane, 100 °C, 8 h.

Example 10: (5Z)-5-[4-(2-pyridinyl)-6-quinolinyl]methylidene}-1,3-thiazolidine-2,4-dione

5



a) 4-(4,4,5,5-tetramethyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)-6-quinolinecarbaldehyde

A mixture of 4-chloro-6-quinolinecarbaldehyde (2.5 g, 13 mmol),

- 10 4,4,4',4',5,5,5',5'-octamethyl-2,2'-bi-1,3,2-dioxaborolane (7 g, 27 mmole), potassium acetate (5 g, 39 mmol), and dichloro-
[1,1'-bis(diphenylphosphino)ferrocene]palladium (II) dichloromethane adduct (530 mg, 0.065 mmol) in dioxane (30 mL) was heated at 100 °C for 18 h and cooled to room temperature. The dioxane was removed under reduced pressure and the residue dissolved in 2:1 mixture of ethyl acetate/water and the solution filtered. The organic layer was separated and dried with sodium sulfate and the crude product obtained by decanting the solution and evaporation of the ethyl acetate. The crude product was purified by silica gel chromatography eluting with methylene chloride/ methanol (0-2% methanol gradient) to give the title compound (2.9 g, 78 %).

20

b) 4-(2-pyridinyl)-6-quinolinecarbaldehyde

A mixture of 4-(4,4,5,5-tetramethyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)-6-

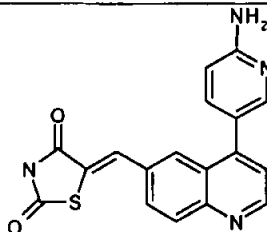
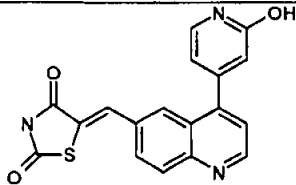
quinolinecarbaldehyde (180 mg, 0.64 mmol), 2-bromopyridine (158 mg, 1.0 mmol),
, tetrakis(triphenyl)phosphine palladium (0) (38 mg, 0.0335 mmol), and 2 M aqueous

- 25 K₂CO₃ (1 mL of a 2 M solution), and dioxane (4 mL)) was heated at 100 °C for 8 h and cooled to room temperature. The dioxane was removed under reduced pressure and the residue dissolved in 2:1 mixture of methylene chloride/water and the solution filtered. The organic layer was separated and dried with sodium sulfate and the crude product obtained by decanting the solution and evaporation of the methylene chloride. The crude product was purified by silica gel chromatography eluting with methylene chloride/ methanol (0-2% methanol gradient) to give the title
- 30

compound (80mg, 65 %). MS(ES)+ m/e 235 [M+H]⁺.

(5Z)-5-{{[4-(2-pyridinyl)-6-quinolinyl]methylidene}-1,3-thiazolidine-2,4-dione} was then prepared following the procedure of Example 1d. MS(ES)+ m/e 334 [M+H]⁺.

- 5 Compound 11 and 12 are prepared following the procedure used to prepare Example 10:

Example	Structure	MS(ES) [M+H] ⁺
11		349
12		350

The compounds of the following examples are readily made according to

- 10 Schemes I or by analogous methods.

Exemplary capsule composition

An oral dosage form for administering the present invention is produced by filing a standard two piece hard gelatin capsule with the ingredients in the

- 15 proportions shown in Table I, below.

GB

Table I

<u>INGREDIENTS</u>	<u>AMOUNTS</u>
(5Z)-5-{{4-(4-pyridinyl)-6-quinolinyl}methylidene}-1,3-thiazolidine-2,4-dione	25 mg
Lactose	55 mg
Talc	16 mg
Magnesium Stearate	4 mg

5 Exemplary Injectable Parenteral Composition

An injectable form for administering the present invention is produced by stirring 1.5% by weight of (5Z)-5-{{4-(4-pyridinyl)-6-quinolinyl}methylidene}-1,3-thiazolidine-2,4-dione in 10% by volume propylene glycol in water.

10 Exemplary Tablet Composition

The sucrose, calcium sulfate dihydrate and an PI3K 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.

15

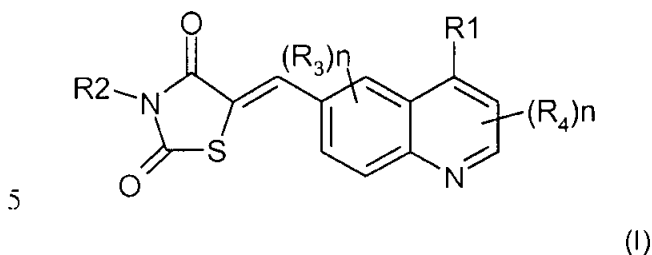
Table II

<u>INGREDIENTS</u>	<u>AMOUNTS</u>
(5Z)-5-{{4-(4-pyridinyl)-6-quinolinyl}methylidene}-1,3-thiazolidine-2,4-dione	20 mg
calcium sulfate dehydrate	30 mg
Sucrose	4 mg
Starch	2 mg
Talc	1 mg
stearic acid	0.5 mg

20 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.

What is claimed is:

1. A compound of Formula (I):

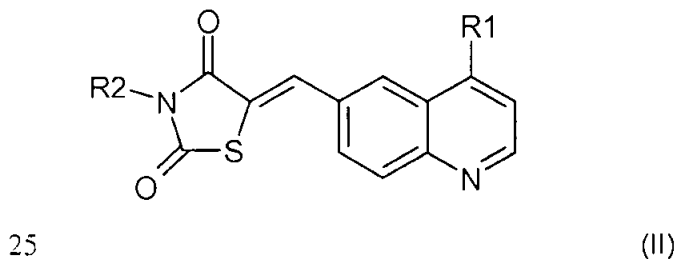


in which

R1 is heteroaryl or substituted heteroaryl;

- 10 R2 is selected from a group consisting of: hydrogen, C1-C6 alkyl, substituted alkyl, aryl, substituted aryl, arylalkyl, substituted arylalkyl;
- each R3 and R4 is independently selected from a group consisting of: hydrogen, halogen, acyl, amino, substituted amino, C1-6alkyl, substituted C1-6alkyl, C3-7cycloalkyl, substituted C3-7cycloalkyl, C3-7heterocycloalkyl, substituted C3-7heterocycloalkyl, alkylcarboxy, aryl, substituted aryl, heteroaryl, substituted heteroaryl, arylalkyl, substituted arylalkyl, arylcycloalkyl, substituted, trifluoromethyl, arylcycloalkyl, heteroarylalkyl, substituted heteroarylalkyl, cyano, hydroxyl, alkoxy, nitro, acyloxy, acylamino, and aryloxy;
- 15 n is 0-2;
- 20 and/or a pharmaceutically acceptable salt, hydrate, solvate or pro-drug thereof.

2. A compound according to claim 1 selected from a compound of formula (II)



in which

R1 is heteroaryl or substituted heteroaryl;

60

R2 is selected from a group consisting of: hydrogen, C1-C6 alkyl, substituted alkyl, aryl, substituted aryl, arylalkyl, and substituted arylalkyl; and/or a pharmaceutically acceptable salt, hydrate, solvate or pro-drug thereof.

- 5 3. A compound according to claim 1 or 2 wherein R2 is hydrogen, and/or a pharmaceutically acceptable salt, hydrate, solvate or pro-drug thereof.
4. A compound according to claim 1 or 2, wherein R1 is a optionally substituted monocyclic heteroaryl; and/or a pharmaceutically acceptable salt, hydrate, solvate or pro-drug thereof.
- 10 5. A compound of claim 1 selected from a group consisting of:
- (5Z)-5-{{[4-(4-pyridinyl)-6-quinolinyl]methylidene}-1,3-thiazolidine-2,4-dione};
- (5Z)-3-methyl-5-{{[4-(4-pyridinyl)-6-quinolinyl]methylidene}-1,3-thiazolidine-2,4-dione};
- 15 (5Z)-5-{{[4-(3-pyridinyl)-6-quinolinyl]methylidene}-1,3-thiazolidine-2,4-dione};
- (5Z)-5-{{[4-(2-pyridinyl)-6-quinolinyl]methylidene}-1,3-thiazolidine-2,4-dione};
- (5Z)-5-{{[4-[2-(methyloxy)-5-pyrimidinyl]-6-quinolinyl]methylidene}-1,3-thiazolidine-2,4-dione};
- 20 (5Z)-5-{{[4-[2-(methyloxy)-4-pyridinyl]-6-quinolinyl]methylidene}-1,3-thiazolidine-2,4-dione};
- (5Z)-5-{{[4-(6-amino-3-pyridinyl)-6-quinolinyl]methylidene}-1,3-thiazolidine-2,4-dione};
- (5Z)-5-{{[4-(2-oxo-1,2-dihydro-4-pyridinyl)-6-quinolinyl]methylidene}-1,3-thiazolidine-2,4-dione};
- 25 (5Z)-5-{{[4-[6-(4-morpholinyl)-3-pyridinyl]-6-quinolinyl]methylidene}-1,3-thiazolidine-2,4-dione};
- (5Z)-5-{{[4-[6-(4-methyl-1-piperazinyl)-3-pyridinyl]-6-quinolinyl]methylidene}-1,3-thiazolidine-2,4-dione};
- 30 (5Z)-5-{{[4-(3-pyridazinyl)-6-quinolinyl]methylidene}-1,3-thiazolidine-2,4-dione}; and
- (5Z)-5-{{[4-[2-(methyloxy)-5-pyrimidinyl]-6-quinolinyl]methylidene}-1,3-thiazolidine-2,4-dione};
- and/or a pharmaceutically acceptable salt, hydrate, solvate or pro-drug thereof.

35

61

6. A compound of formula (I) selected from a group consisting of:
(5Z)-5-[[4-(4-pyridinyl)-6-quinolinyl]methylidene]-1,3-thiazolidine-2,4-dione, and/or a
pharmaceutically acceptable salt, hydrate, solvate or pro-drug thereof.

5

7. A pharmaceutical composition comprising a compound according to claim 1
to 2 and a pharmaceutically acceptable carrier.

8. A method of inhibiting one or more phosphatoinositides 3-kinases (PI3Ks) in
10) a mammal; comprising administering to the mammal a therapeutically effective
amount of a compound of Formula (I) and/or a pharmaceutically acceptable salt,
hydrate solvate or pro-drug thereof as defined in claim 1.

9. A method of treating one or more disease states selected from a group
15) consisting of: autoimmune disorders, inflammatory diseases, cardiovascular
diseases, neurodegenerative diseases, allergy, asthma, pancreatitis, multiorgan
failure, kidney diseases, platelet aggregation, cancer, sperm motility,
transplantation rejection, graft rejection and lung injuries, in a mammal, which
method comprises administering to such mammal, a therapeutically effective
20) amount of a compound according to claim 2.

10. A method of treating cancer comprises co-administration a compound
according to claim 1; and/or a pharmaceutically acceptable salt, hydrate, solvate or
pro-drug thereof; and at least one anti-neoplastic agent, such as one selected from
25) a 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.

30

11. A method of claim 9, wherein the disease state is selected from a group
consisting of: multiple sclerosis, psoriasis, rheumatoid arthritis, systemic lupus
erythematosus, inflammatory bowel disease, lung inflammation, thrombosis, brain
infection/inflammation, meningitis and encephalitis.

35

12. A method of claim 9, wherein the disease state is selected from a group consisting of: Alzheimer's disease, Huntington's disease, CNS trauma, stroke and ischemic conditions.
- 5 13. A method of claim 9, wherein the disease state is selected from a group consisting of: atherosclerosis, heart hypertrophy, cardiac myocyte dysfunction, elevated blood pressure and vasoconstriction.
- 10 14. A method of claim 9, wherein the disease state is selected from a group consisting of: chronic obstructive pulmonary disease, anaphylactic shock fibrosis, psoriasis, allergic diseases, asthma, stroke, ischemia-reperfusion, platelets aggregation/activation, skeletal muscle atrophy/hypertrophy, leukocyte recruitment in cancer tissue, angiogenesis, invasion metastasis, melanoma, Kaposi's sarcoma, acute and chronic bacterial and viral infections, sepsis, transplantation rejection,
- 15 15. graft rejection, glomerulo sclerosis, glomerulo nephritis, progressive renal fibrosis, endothelial and epithelial injuries in the lung, and lung airways inflammation.
15. A method of claim 9 wherein the disease is cancer.
- 20 16. A method of claim 15 wherein the cancer is selected from a group consisting of: brain (gliomas), glioblastomas, leukemias, Bannayan-Zonana syndrome, Cowden disease, Lhermitte-Duclos disease, breast, inflammatory breast cancer, Wilm's tumor, Ewing's sarcoma, Rhabdomyosarcoma, ependymoma, medulloblastoma, colon, head and neck, kidney, lung, liver, melanoma, ovarian,
- 25 17. pancreatic, prostate, sarcoma, osteosarcoma, giant cell tumor of bone, and thyroid,
17. A method of claim 15 wherein the disease is selected from a group consisting of: ovarian cancer, pancreatic cancer, breast cancer, prostate cancer and leukemia.
- 30 18. A method according to any one of claim 9 to 17, wherein the mammal is human.
19. A method of claim 8, wherein said PI3 kinase is a PI3 α .
- 35

20. A method of claim 8, wherein said PI3 kinase is a PI3γ.

21. A method according to any one of claim 8 to 17, wherein said compound is selected from:

- 5 (5Z)-5-[[4-(4-pyridinyl)-6-quinolinyl]methylidene]-1,3-thiazolidine-2,4-dione;
(5Z)-3-methyl-5-[[4-(4-pyridinyl)-6-quinolinyl]methylidene]-1,3-thiazolidine-2,4-dione;
(5Z)-5-[[4-(3-pyridinyl)-6-quinolinyl]methylidene]-1,3-thiazolidine-2,4-dione;
(5Z)-5-[[4-(2-pyridinyl)-6-quinolinyl]methylidene]-1,3-thiazolidine-2,4-dione;
10 (5Z)-5-([4-[2-(methyloxy)-5-pyrimidinyl]-6-quinolinyl]methylidene)-1,3-thiazolidine-2,4-dione;
(5Z)-5-([4-[2-(methyloxy)-4-pyridinyl]-6-quinolinyl]methylidene)-1,3-thiazolidine-2,4-dione;
(5Z)-5-[[4-(6-amino-3-pyridinyl)-6-quinolinyl]methylidene]-1,3-thiazolidine-2,4-dione;
15 (5Z)-5-[[4-(2-oxo-1,2-dihydro-4-pyridinyl)-6-quinolinyl]methylidene]-1,3-thiazolidine-2,4-dione;
(5Z)-5-([4-[6-(4-morpholinyl)-3-pyridinyl]-6-quinolinyl]methylidene)-1,3-thiazolidine-2,4-dione;
20 (5Z)-5-([4-[6-(4-methyl-1-piperazinyl)-3-pyridinyl]-6-quinolinyl]methylidene)-1,3-thiazolidine-2,4-dione;
(5Z)-5-[[4-(3-pyridazinyl)-6-quinolinyl]methylidene]-1,3-thiazolidine-2,4-dione; and
(5Z)-5-([4-[2-(methyloxy)-5-pyrimidinyl]-6-quinolinyl]methylidene)-1,3-thiazolidine-2,4-dione;
25 and/or a pharmaceutically acceptable salt, solvate, hydrate, or pro-drug thereof.

22. A method according to any one of claim 8 to 17, wherein said compound is selected from a group consisting of: (5Z)-5-[[4-(4-pyridinyl)-6-quinolinyl]methylidene]-1,3-thiazolidine-2,4-dione, and/or a pharmaceutically acceptable salt, solvate, hydrate, or pro-drug thereof.
30

23. A method of claim 8 wherein the compound according to claim 1, and/or a pharmaceutically acceptable salt, hydrate, solvate or pro-drug thereof, is administered in a pharmaceutical composition.
35

DERIVADOS DE TIAZOLIDINADIONA COMO INHIBIDORES DE LA PI3 **QUINASA**

Campo de la Invención

Esta invención se refiere al uso de derivados de tiazolidinadiona para la modulación, particularmente la inhibición de la actividad o función de la familia fosfoinosítido 3' OH quinasa (en lo sucesivo PI3 quinasas), convenientemente, de PI3K α , PI3K δ , PI3K β y/o PI3K γ . De manera adecuada, la presente invención se refiere al uso de tiazolidinadionas en el tratamiento de uno o más estados de enfermedad seleccionados entre: trastornos autoinmunes, enfermedades inflamatorias, enfermedades cardiovasculares, enfermedades neurodegenerativas, alergia, asma, pancreatitis, fallo multiorgánico, enfermedades renales, agregación plaquetaria, cáncer, motilidad de los espermatozoides, rechazo de trasplantes, rechazo de injertos y lesiones pulmonares.

Antecedentes de la Invención

Las membranas celulares representan un gran almacén de segundos mensajeros que pueden alistarse en una diversidad de rutas de transducción de señales. Por lo que respecta a la función y regulación de enzimas efectoras en la ruta de señalización de fosfolípidos, estas enzimas generan segundos mensajeros a partir de las reservas de fosfolípidos de la membrana (PI3 quinasas de clase I (por ejemplo, PI3K α) y son enzimas quinasas de especificidad doble, lo que significa que presentan tanto actividad quinasa de lípidos (fosforilación de fosfoinosítidos) como actividad proteína quinasa, ya que se ha demostrado que son capaces de fosforilar proteínas como sustrato, incluyendo la autofosforilación como mecanismo regulador intramolecular. Estas enzimas de señalización de fosfolípidos se activan en respuesta a una diversidad de señales extracelulares tales como factores de crecimiento, mitógenos, integrinas (interacciones célula-célula), hormonas, citoquinas, virus y neurotransmisores tales como los descritos en el Esquema A presentado más adelante, y también por regulación intracelular por otras moléculas de señalización (interferencias, en las que la señal original puede activar algunas rutas paralelas que en una segunda etapa transmiten señales a las PI3K por acontecimientos de señalización intracelular), tales como, por ejemplo, GTPasas pequeñas, quinasas o fosfatasas. También puede producirse regulación intracelular como resultado de una expresión aberrante o de la ausencia de expresión de supresores de oncogenes celulares o de supresores tumorales. Las rutas de señalización intracelular de fosfolípidos de inositol (fosfoinosítidos)

65

empiezan con la activación de una molécula de señalización (ligandos extracelulares, estímulos, dimerización de receptores, transactivación por receptores heterólogos (por ejemplo receptores de tipo tirosina quinasa)), el reclutamiento y la activación de PI3K que incluye la implicación de un receptor
5 transmembrana asociado a proteína G integrado en la membrana plasmática.

PI3K convierte los fosfolípidos de la membrana $PI(4,5)P_2$ en $PI(3,4,5)P_3$, que funciona como segundo mensajero. PI y $PI(4)P$ también son sustratos de PI3K y pueden fosforilarse y convertirse en $PI3P$ y $PI(3,4)P_2$, respectivamente. Además, estos fosfoinosítidos pueden convertirse en otros fosfoinosítidos por fosfatasa con
10 especificidad 5' y con especificidad 3', de esta manera la actividad enzimática de PI3K produce directa o indirectamente la generación de dos subtipos de 3'-fosfoinosítidos que funcionan como segundos mensajeros en rutas de transducción de señales intracelulares (Trends Biochem. Sci. 22(7) p. 267-72 (1997) por Vanhaesebroeck et al.; Chem. Rev. 101(8) p. 2365-80 (2001) por Leslie et al.
15 (2001); Annu. Rev. Cell. Dev. Biol. 17p, 615-75 (2001) por Katso et al. y Cell. Mol. Life Sci. 59(5) p. 761-79 (2002) por Toker et al.). Las múltiples isoformas de PI3K clasificadas por sus subunidades catalíticas, su regulación por subunidades reguladoras correspondientes, los patrones de expresión y las funciones específicas de señalización ($p110\alpha$, β , δ y γ) realizan esta reacción enzimática (Exp.
20 Cell. Res. 25 (1) p. 239-54 (1999) por Vanhaesebroeck y Katso et al., 2001, mencionado anteriormente).

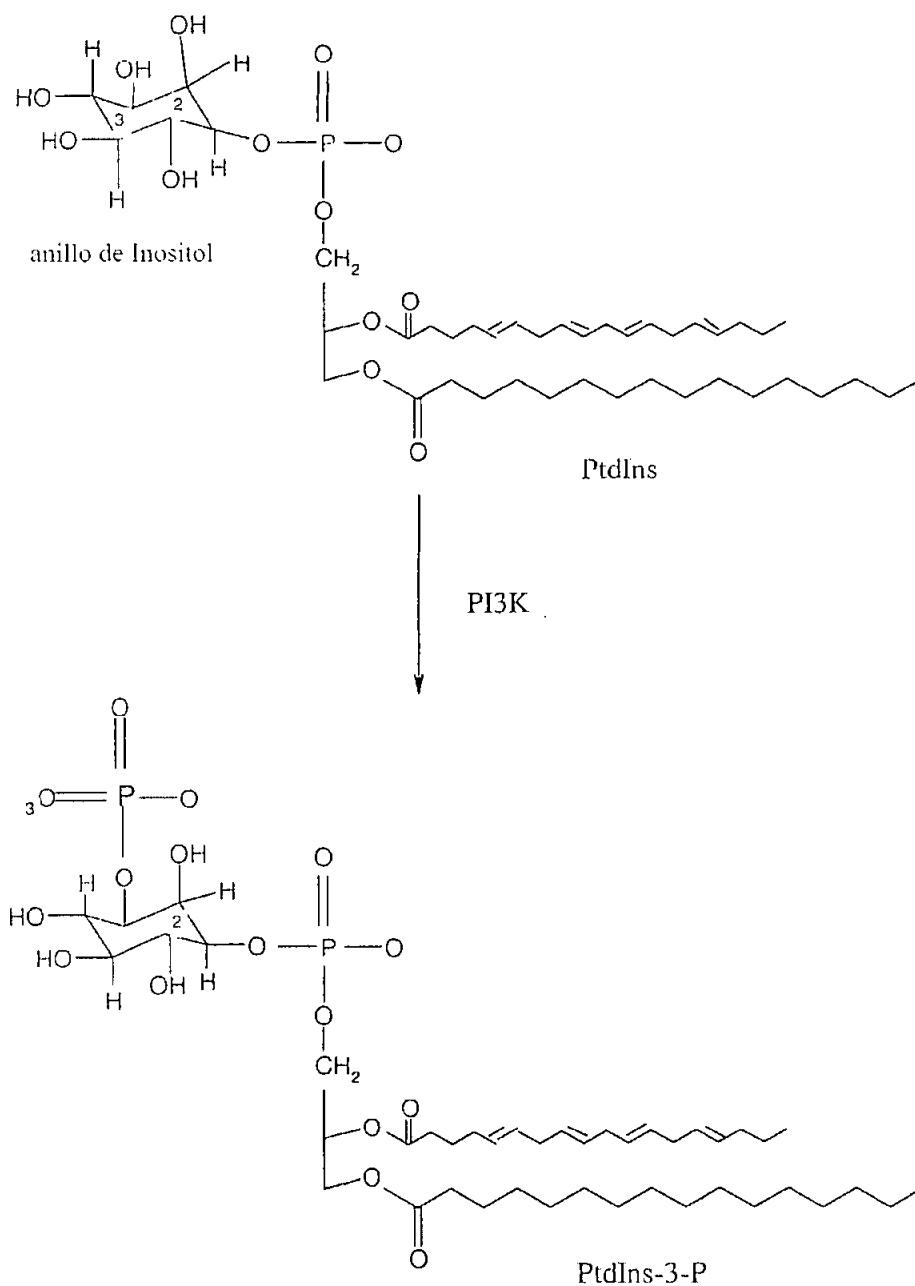
Las isoformas $p110\alpha$ y β , que están muy relacionadas, se expresan en todas partes, mientras que las formas δ y γ se expresan más específicamente en el sistema de células hematopoyéticas, células de músculo liso, miocitos y células
25 endoteliales (Trends Biochem. Sci. 22(7) p. 267-72 (1997) por Vanhaesebroeck et al.). Su expresión también podría regularse de una manera inducible dependiendo del tipo de células, del tipo de tejido y del estímulo así como del contexto de enfermedad. La inducibilidad de la expresión de las proteínas incluye la síntesis de las proteínas así como su estabilización, que se regula en parte por la asociación
30 con subunidades reguladoras.

Hasta la fecha se han identificado ocho PI3K de mamífero, y se han dividido en tres clases principales (I, II, y III) basándose en la homología de secuencia, estructura, patrones de unión, modo de activación y preferencia de sustrato. In vitro, las PI3K de clase I pueden fosforilar el fosfatidilinositol (PI), el fosfatidilinositol-4-
35 fosfato ($PI4P$) y el fosfatidilinositol-4,5-bisfosfato ($PI(4,5)P_2$) para producir

66

fosfatidilinositol-3-fosfato (PI3P), fosfatidilinositol-3,4-bifosfato (PI(3,4)P₂) y fosfatidilinositol-3,4,5-trifosfato (PI(3,4,5)P₃, respectivamente. Las PI3K de clase II fosforilan PI y fosfatidilinositol-4-fosfato. Las PI3K de clase III sólo pueden fosforilar PI (Vanhaesebroeck et al., 1997, mencionado anteriormente; Vanhaesebroeck et al., 1999, mencionado anteriormente y Leslie et al., 2001, mencionado anteriormente)

Esquema A: Conversión de PI(4,5)P₂ en PIP₃



19

Como se ilustra en el Esquema A anterior, las fosfoinosítido 3-quinasas (PI3K) fosforilan el hidroxilo del tercer carbono del anillo de inositol. La fosforilación de fosfoinosítidos que genera PtdIns en 3,4,5-trifosfato (PtdIns(3,4,5)P₃), PtdIns(3,4)P₂ y PtdIns(3)P produce segundos mensajeros para una diversidad de

5 rutas de transducción de señales, incluyendo las esenciales para la proliferación celular, diferenciación celular, crecimiento celular, tamaño celular, supervivencia celular, apoptosis, adhesión, motilidad celular, migración celular, quimiotaxis, invasión, reordenación del citoesqueleto, cambios de la forma celular, tráfico de vesículas y rutas metabólicas (Katso et al., 2001, mencionado anteriormente y Mol.

10 Med. Today 6(9) p. 347-57 (2000) por Stein). La activación de la fosfoinosítido 3'OH-quinasa mediada por receptores acoplados a proteína G a través de pequeñas GTPasas tales como Gβγ y Ras, y por consiguiente la señalización de PI3K juega un papel central en el establecimiento y coordinación de la polaridad celular y la organización dinámica del citoesqueleto - que conjuntamente

15 proporcionan la fuerza directora para que las células se muevan. La quimiotaxis - el movimiento dirigido de las células hacia un gradiente de concentración de atrayentes químicos, también denominados quimioquinas, está implicada en muchas enfermedades importantes tales como inflamación/autoinmunidad, neurodegeneración, angiogénesis, invasión/metástasis y alteraciones en la curación

20 de heridas (Immunol. Today 21(6) p. 260-4 (2000) por Wyman et al.; Science 287 (5455) p. 1049-53 (2000) por Hirsch et al.; FASEB J. 15(11) p. 2019-21 (2001) por Hirsch et al. y Nat. Immunol. 2(2) p. 108-15 (2001) por Gerard et al.).

Los recientes avances conseguidos usando estrategias genéticas y herramientas farmacológicas han proporcionado perspectivas en la señalización y

25 rutas moleculares que median la quimiotaxis en respuesta a receptores acoplados a proteína G activados por quimioatrayentes. La PI3-quinasa, responsable de la generación de estos productos de señalización fosforilados, se identificó originalmente como una actividad asociada con oncoproteínas virales y receptores de tipo tirosina quinasa de factores de crecimiento que fosforilan el fosfatidilinositol

30 (PI) y sus derivados fosforilados en el 3'-hidroxilo del anillo de inositol (Panayotou et al., Trends Cell Biol. 2 p. 358-60 (1992)). Sin embargo, ciertos estudios bioquímicos más recientes revelaron que algunas PI3 quinastas de clase I (por ejemplo, la isoforma PI3Kγ de clase IB) son enzimas quinastas con especificidad doble, lo que significa que presentan tanto una actividad quinasa de lípidos (fosforilación de

35 fosfoinosítidos) como actividad proteína quinasa, y se ha demostrado que pueden

fosforilar otras proteínas como sustratos, incluyendo la autofosforilación como un mecanismo regulador intramolecular.

Por lo tanto, se cree que la activación de la PI3-quinasa está implicada en una serie de respuestas celulares que incluyen el crecimiento celular, diferenciación y apoptosis (Parker et al., *Current Biology*, 5 p. 577-99 (1995); Yao et al., *Science*, 267 p. 2003-05 (1995)). La PI3-quinasa parece estar implicada en varios aspectos de la activación de leucocitos. Se ha demostrado que una actividad PI3-quinasa asociada con p85 está asociada físicamente con el dominio citoplásmico de CD28, que es una molécula coestimuladora importante para la activación de células T en respuesta a antígenos (Pages et al., *Nature*, 369 p. 327-29 (1994); Rudd, *Immunity* 4 p. 527-34 (1996)). La activación de células T a través de CD28 reduce el umbral de activación por el antígeno y aumenta la magnitud y duración de la respuesta proliferativa. Estos efectos están asociados con aumentos en la transcripción de varios genes incluyendo la interleuquina-2 (IL2), un factor de crecimiento importante de células T (Fraser et al., *Science* 251 p. 313-16 (1991)). La mutación de CD28 de tal forma que pueda interaccionar más con la PI3-quinasa conduce a una incapacidad de iniciar la producción de IL2, lo que sugiere un papel crítico para la PI3-quinasa en la activación de células T. PI3K γ se ha identificado como mediador de la regulación dependiente de G beta-gamma de la actividad de JNK, y G beta-gamma son subunidades de proteínas G heterotriméricas (Lopez-Illasaca et al., *J. Biol. Chem.* 273(5) p. 2505-8 (1998)). Los procesos celulares en los que las PI3K juegan un papel esencial incluyen la supresión de la apoptosis, la reorganización del esqueleto de actina, el crecimiento de miocitos cardiacos, la estimulación de la glucógeno sintasa por insulina, la inducción de neutrófilos mediada por TNF α y la generación de superóxido, y la migración de leucocitos y la adhesión a células endoteliales.

Recientemente, (Laffargue et al., *Immunity* 16(3) p. 441-51 (2002)) se ha descrito que PI3K γ transmite señales inflamatorias a través de diversos receptores acoplados a G(i) y es importante para la función de los mastocitos. Los estímulos de los leucocitos en el contexto de la inmunología incluyen, por ejemplo, citoquinas, quimioquinas, adenosinas, anticuerpos, integrinas, factores de agregación, factores de crecimiento, virus u hormonas (*J. Cell. Sci.* 114(Pt 16) p. 2903-10 (2001) por Lawlor et al.; Laffargue et al., 2002, mencionado anteriormente y *Curr. Opin. Cell Biol.* 14(2) p. 203-13 (2002) por Stephens et al.).

Los inhibidores específicos contra miembros individuales de una familia de

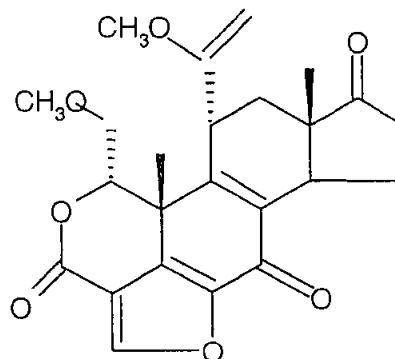
enzimas proporcionan herramientas inestimables para descifrar las funciones de cada enzima. Dos compuestos, LY294002 y wortmanina (véase más adelante), se han usado mucho como inhibidores de la PI3-quinasa. Estos compuestos son inhibidores de PI3K no específicos, ya que no distinguen entre los cuatro miembros

5 de las PI3-quinasas de clase I. Por ejemplo, los valores de CI_{50} de la wortmanina contra cada una de las diversas PI3-quinasas de Clase I están en el intervalo de 1-10 nM. De manera similar, los valores de CI_{50} para LY294002 contra cada una de estas PI3-quinasas son de aproximadamente 15-20 μ M (Fruman et al., Ann. Rev. Biochem., 67, p. 481-507 (1998)), además son de 5-10 microM sobre la proteína

10 quinasa CK2 y tienen alguna actividad inhibidora sobre las fosfolipasas. La wortmanina es un metabolito fúngico que inhibe irreversiblemente la actividad PI3K por unión covalente al dominio catalítico de esta enzima. La inhibición de la actividad PI3K por wortmanina elimina la posterior respuesta celular al factor extracelular. Por ejemplo, los neutrófilos responden a la quimioquina fMet-Leu-Phe

15 (fMLP) por medio de la estimulación de PI3K y la síntesis de $PtdIns(3,4,5)P_3$. Esta síntesis se correlaciona con la activación del estallido respiratorio implicado en la destrucción de neutrófilos de microorganismos invasores. El tratamiento de neutrófilos con wortmanina impide la respuesta de estallido respiratorio inducida por fMLP (Thelen et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 91, p. 4960-64 (1994)). De hecho,

20 estos experimentos con wortmanina, así como otras pruebas experimentales, demuestran que la actividad de PI3K en células del linaje hematopoyético, particularmente neutrófilos, monocitos y otros tipos de leucocitos, está implicada en muchas de las respuestas inmunes sin memoria asociadas con la inflamación aguda y crónica.



WORTMANINA

5

10

20



para formar una diversidad de heterodímeros. Las PI3K de Clase Ia se activan generalmente en respuesta a la estimulación por un factor de crecimiento de receptores de tipo tirosina quinasa, a través de la interacción de los dominios de la subunidad reguladora SH2 con restos de fosfotirosina específicos del receptor
5 activado o proteínas adaptadoras tales como IRS-1. Pequeñas GTPasas (por ejemplo ras) también están implicadas en la activación de PI3K junto con la activación de receptores de tipo tirosina quinasa. Tanto p110 α como p110 β se expresan constitutivamente en todos los tipos celulares, mientras que la expresión de p110 δ está más restringida a poblaciones de leucocitos y algunas células
10 epiteliales. Por el contrario, la única enzima de Clase Ib consiste en una subunidad catalítica p110 γ que interacciona con una subunidad reguladora p101. Además, la enzima de la Clase Ib se activa en respuesta a sistemas de receptores acoplados a proteínas G (GPCR) y su expresión parece estar limitada a los leucocitos.

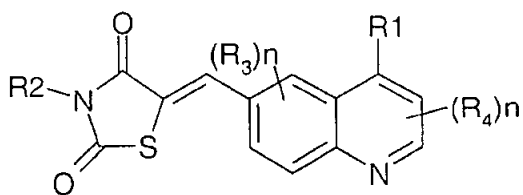
Actualmente hay pruebas considerables que indican que las enzimas PI3K
15 de Clase Ia contribuyen a la tumorigénesis en una amplia diversidad de cánceres humanos, directa o indirectamente (Vivanco y Sawyers, Nature Reviews Cancer, 2002, 2, 489-501). Por ejemplo, la subunidad p110 α está amplificada en algunos tumores tales como los de ovario (Shayesteh, *et al.*, Nature Genetics, 1999, 21: 99-102) y cuello del útero (Ma *et al.*, Oncogene, 2000, 19: 2739-2744). Más
20 recientemente, se ha asociado la activación de mutaciones dentro de p110 α (gen PIK3CA) con otros diversos tumores tales como los del colon, mama y pulmón (Samuels, *et al.*, Science, 2004, 304, 554). También se han identificado mutaciones relacionadas con tumores en p85 α en cánceres tales como los de ovario y colon (Philp *et al.*, Cancer Research, 2001, 61, 7426-7429). Además de los efectos
25 directos, se cree que la activación de la PI3K de Clase Ia contribuye a sucesos tumorigénicos que se producen corriente arriba en rutas de señalización, por ejemplo, por medio de la activación dependiente de ligando o independiente de ligando de receptores de tipo tirosina quinasa, sistemas GPCR o integrinas (Vara *et al.*, Cancer Treatment Reviews, 2004, 30, 193-204). Los ejemplos de estas rutas de
30 señalización corriente arriba incluyen la sobreexpresión del receptor de tipo tirosina quinasa Erb2 en una diversidad de tumores, que conduce a la activación de rutas mediadas por PI3K (Harari *et al.*, Oncogene, 2000, 19, 6102-6114) y la sobreexpresión del oncogén Ras (Kauffmann-Zeh *et al.*, Nature, 1997, 385, 544-548). Además, las PI3K de Clase Ia pueden contribuir indirectamente a la
35 tumorigénesis producida por diversos sucesos de señalización corriente abajo. Por

ejemplo, la pérdida de función de la fosfatasa supresora de tumor PTEN que cataliza la conversión de PI(3,4,5)P3 de nuevo a PI(4,5)P2 está asociada con una serie muy amplia de tumores por medio de la desregulación de la producción mediada por PI3K de PI(3,4,5)P3 (Simpson y Parsons, Exp. Cell Res., 2001, 264, 29-41). Además, se cree que el aumento de los efectos de otros sucesos de señalización mediados por PI3K contribuye a una diversidad de cánceres, por ejemplo, por activación de AKT (Nicholson y Andeson, Cellular Signaling, 2002, 14, 381-395).

Además de un papel en la mediación de la señalización proliferativa y de supervivencia en células tumorales, también hay buenas pruebas de que la enzima PI3K de Clase Ia también contribuye a la tumorigénesis por medio de su función en células estromáticas asociadas con tumores. Por ejemplo, se sabe que la señalización de PI3K juega un papel importante en la mediación de sucesos angiogénicos en células endoteliales en respuesta a factores pro-angiogénicos tales como VEGF (Abid *et al.*, Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol., 2004, 24, 294-300). Como las enzimas PI3K de Clase I también están implicadas en la motilidad y migración (Sawyer, Expert Opinion Investing. Drugs, 2004, 13, 1-19), se prevé que los inhibidores de PI3K proporcionen efectos terapéuticos beneficiosos por medio de la inhibición de la invasión de células tumorales y de la metástasis.

20 Compendio de la Invención

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



(I)

en la que

R1 es heteroarilo o heteroarilo sustituido;

25 R2 se selecciona entre: hidrógeno, alquilo C1-C6, alquilo C1-C6 sustituido, -COOH, arilo, arilo sustituido, arilalquilo, arilalquilo sustituido;

cada uno de R3 y R4 se selecciona independientemente entre: hidrógeno, halógeno, acilo, amino, amino sustituido, alquilo C1-6, alquilo C1-6 sustituido, cicloalquilo C3-7, cicloalquilo C3-7 sustituido, heterocicloalquilo C3-7, 30 heterocicloalquilo C3-7 sustituido, alquilcarboxi, aminoalquilo, arilo, arilo sustituido,

heteroarilo, heteroarilo sustituido, arilalquilo, arilalquilo sustituido, arilcicloalquilo, arilcicloalquilo sustituido, heteroarilalquilo, heteroarilalquilo sustituido, ciano, hidroxilo, alcoxi, nitro, aciloxi y ariloxi;

n es 0-2;

5 y/o una sal farmacéuticamente aceptable, hidrato, solvato o profármaco de los mismos.

Esta invención también se refiere a un método para tratar cánceres, que comprende administrar a un sujeto que lo necesita una cantidad eficaz de un compuesto de Fórmula (I).

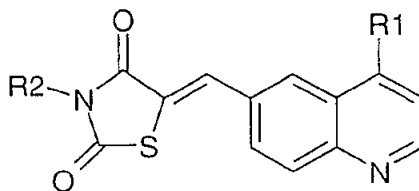
10 Esta invención también se refiere a un método para tratar uno o más estados de enfermedad seleccionados entre: trastornos autoinmunes, enfermedades inflamatorias, enfermedades cardiovasculares, enfermedades neurodegenerativas, alergia, asma, pancreatitis, fallo multiorgánico, enfermedades renales, agregación plaquetaria, motilidad de los espermatozoides, rechazo de
15 trasplantes, rechazo de injertos y lesiones pulmonares, que comprende administrar a un sujeto que lo necesita una cantidad eficaz de un compuesto de Fórmula (I).

En la presente invención se incluyen métodos de coadministración de los compuestos inhibidores de la PI3 quinasa de esta invención con ingredientes activos adicionales.

20 **Descripción Detallada de la Invención**

Los presentes compuestos de Fórmula (I) inhiben una o más PI3 quinasas. De manera conveniente, los compuestos de Fórmula (I) inhiben una o más PI3 quinasas seleccionadas entre: PI3K α , PI3K δ , PI3K β y PI3K γ .

Convenientemente, entre los compuestos de Fórmula (I) que son activos
25 como inhibidores de la actividad de la PI3 quinasa están los que tienen la Fórmula (II):



II

en la que

30 R1 es heteroarilo o heteroarilo sustituido;

R2 se selecciona entre: hidrógeno, alquilo C1-6, alquilo C1-C6 sustituido, -

COOH, arilo, arilo sustituido, arilalquilo, arilalquilo sustituido; y/o una sal farmacéuticamente aceptable, hidrato, solvato o profármaco de los mismos.

Convenientemente, la presente invención incluye compuestos de fórmula (I) o (II), donde R1 es un heteroarilo monocíclico o un heteroarilo monocíclico sustituido.

Convenientemente, la presente invención incluye compuestos de fórmula (I) o (II), donde R2 es hidrógeno y R1 es un heteroarilo monocíclico o un heteroarilo monocíclico sustituido.

Convenientemente, la presente invención incluye compuestos de fórmula (I) o (II), donde R1 es un heteroarilo monocíclico opcionalmente sustituido que contiene de 1 a 2 nitrógenos.

Convenientemente, la presente invención incluye compuestos de fórmula (I) o (II), donde R2 es hidrógeno y R1 es un heteroarilo monocíclico opcionalmente sustituido que contiene de 1 a 2 nitrógenos.

Convenientemente, la presente invención incluye compuestos de fórmula (I) o (II), donde R1 es un heteroarilo monocíclico opcionalmente sustituido con uno a tres sustituyentes seleccionados entre el grupo que consiste en: hidrógeno, halógeno, alquilo C1-C6, acilo, trifluorometilo, $-(CH_2)_nCOOH$, ciano, amino, alquilamino, nitro, hidroxilo, alcoxi, aciloxi, ariloxi, acilamino, arilamino; y n es de 0 a 6.

Convenientemente, la presente invención incluye compuestos de fórmula (I) o (II), donde R2 es hidrógeno y R1 es un heteroarilo monocíclico opcionalmente sustituido con uno a tres sustituyentes seleccionados entre el grupo que consiste en: hidrógeno, halógeno, alquilo C1-C6, acilo, trifluorometilo, $-(CH_2)_nCOOH$, ciano, amino, alquilamino, nitro, hidroxilo, alcoxi, aciloxi, ariloxi, acilamino, arilamino; y n es de 0 a 6.

Convenientemente, la presente invención incluye compuestos de fórmula (I) o (II), donde R1 es un heteroarilo monocíclico que contiene 1 ó 2 nitrógenos, opcionalmente sustituido con uno a tres sustituyentes seleccionados entre el grupo que consiste en: hidrógeno, halógeno, alquilo C1-C6, acilo, trifluorometilo, $-(CH_2)_nCOOH$, ciano, amino, alquilamino, nitro, hidroxilo, alcoxi, aciloxi, ariloxi, acilamino, arilamino; y n es de 0 a 6.

Convenientemente, la presente invención incluye compuestos de fórmula (I) o (II), donde R2 es hidrógeno y R1 es un heteroarilo monocíclico que contiene 1 ó 2 nitrógenos, opcionalmente sustituido con uno a tres sustituyentes seleccionados

entre el grupo que consiste en: hidrógeno, halógeno, alquilo C1-C6, acilo, trifluorometilo, $-(CH_2)_nCOOH$, ciano, amino, alquilamino, nitro, hidroxilo, alcoxi, aciloxi, ariloxi, acilamino, arilamino; y n es de 0 a 6.

Convenientemente, la presente invención incluye compuestos de fórmula (I) o (II), donde R2 es hidrógeno o alquilo C1-6, y/o una sal farmacéuticamente aceptable, hidrato, solvato o profármaco de los mismos.

Convenientemente, entre los compuestos de la presente invención que son útiles como inhibidores de la actividad de la PI3 quinasa están:

- (5Z)-5-{{4-(3-piridinil)-6-quinolinil}metilideno}-1,3-tiazolidina-2,4-diona;
- (5Z)-5-{{4-(2-piridinil)-6-quinolinil}metilideno}-1,3-tiazolidina-2,4-diona;
- (5Z)-5-{{4-[2-(metiloxi)-5-pirimidinil]-6-quinolinil}metilideno}-1,3-tiazolidina-2,4-diona;
- (5Z)-5-{{4-[2-(metiloxi)-4-piridinil]-6-quinolinil}metilideno}-1,3-tiazolidina-2,4-diona;
- (5Z)-5-{{4-(6-amino-3-piridinil)-6-quinolinil}metilideno}-1,3-tiazolidina-2,4-diona;
- (5Z)-5-{{4-(2-oxo-1,2-dihidro-4-piridinil)-6-quinolinil}metilideno}-1,3-tiazolidina-2,4-diona;
- (5Z)-5-{{4-[6-(4-morfolinil)-3-piridinil]-6-quinolinil}metilideno}-1,3-tiazolidina-2,4-diona;
- (5Z)-5-{{4-[6-(4-metil-1-piperazinil)-3-piridinil]-6-quinolinil}metilideno}-1,3-tiazolidina-2,4-diona;
- (5Z)-5-{{4-(3-piridazinil)-6-quinolinil}metilideno}-1,3-tiazolidina-2,4-diona;
- (5Z)-5-{{4-[2-(metiloxi)-5-pirimidinil]-6-quinolinil}metilideno}-1,3-tiazolidina-2,4-diona;
- (5Z)-5-{{4-(4-piridinil)-6-quinolinil}metilideno}-1,3-tiazolidina-2,4-diona; y
- (5Z)-3-metil-5-{{4-(4-piridinil)-6-quinolinil}metilideno}-1,3-tiazolidina-2,4-diona; y/o sales farmacéuticamente aceptables, hidratos, solvatos o profármacos de los mismos.

Esta invención también se refiere a un método para tratar cánceres, que comprende coadministrar a un sujeto que lo necesita una cantidad eficaz de un compuesto de Fórmula (I), y/o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo; y al menos un agente anti-neoplásico tal como uno seleccionado entre el grupo que consiste en: agentes antimicrotúbulos, complejos de coordinación de platino, agentes alquilantes, agentes antibióticos, inhibidores de la topoisomerasa II,

antimetabolitos, inhibidores de la topoisomerasa I, hormonas y análogos hormonales, inhibidores de las rutas de transducción de señales, inhibidores de tirosina quinasas no asociadas a receptores que inhiben la angiogénesis, agentes inmunoterapéuticos, agentes proapoptóticos e inhibidores de la señalización del ciclo celular.

Esta invención también se refiere a un método para tratar cánceres, que comprende coadministrar a un sujeto que lo necesita una cantidad eficaz de un compuesto de Fórmula (I), y/o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo; y al menos un inhibidor de la ruta de transducción de señales tal como uno seleccionado entre el grupo que consiste en: inhibidor de receptores de tipo tirosina quinasa, inhibidor de tirosina quinasas no asociadas a receptores, bloqueante del domino SH2/SH3, inhibidor de serina/treonina quinasa, inhibidor de fosfatidil inositol-3 quinasa, inhibidor de la señalización de mioinositol e inhibidor del oncogén Ras.

Como se usa en este documento, la expresión "cantidad eficaz" se refiere a la cantidad de un fármaco o agente farmacéutico que producirá la respuesta biológica o médica de un tejido, sistema, animal o ser humano que se está buscando, por ejemplo, por un investigador o médico. Además, la expresión "cantidad terapéuticamente eficaz" se refiere a cualquier cantidad que, en comparación con un sujeto correspondiente que no ha recibido dicha cantidad, tiene como resultado un tratamiento mejorado, curación, prevención o mejoría de una enfermedad, trastorno o efecto secundario, o una disminución de la velocidad de avance de una enfermedad o trastorno. La expresión también incluye dentro de su alcance cantidades eficaces para mejorar la función fisiológica normal.

En las composiciones farmacéuticas de la invención se incluyen compuestos de Fórmula (I).

Por el término amino sustituido, como se usa en este documento, se entiende -NR₃₀R₄₀, donde cada uno de R₃₀ y R₄₀ se selecciona independientemente entre un grupo que incluye hidrógeno, alquilo C1-6, acilo, arilo, arilo sustituido, heteroarilo, heteroarilo sustituido, cicloalquilo C3-C7 y cicloalquilo sustituido.

Por el término "arilo", como se usa en este documento, a menos que se defina de otra manera, se entiende un sistema de anillos de hidrocarburo aromático. El sistema de anillos puede ser monocíclico o policíclico condensado (por ejemplo, bicíclico, tricíclico, etc.). En diversas realizaciones, el anillo arilo monocíclico es C5-

C10, C5-C7 o C5-C6, donde este número de carbonos se refiere al número de átomos de carbono que forman el sistema de anillos. Un sistema de anillos C6, es decir, un anillo fenilo, es un grupo arilo adecuado. En diversas realizaciones, el anillo policíclico es un grupo arilo bicíclico, siendo grupos arilo bicíclicos adecuados

5 C8-C12 o C9-C10. Un anillo naftilo, que tiene 10 átomos de carbono, es un grupo arilo policíclico adecuado.

Por el término "heteroarilo", como se usa en este documento, a menos que se defina de otra manera, se entiende un sistema de anillos aromáticos que contiene carbono(s) y al menos un heteroátomo. El heteroarilo puede ser

10 monocíclico o policíclico. El grupo heteroarilo monocíclico puede tener de 1 a 4 heteroátomos en el anillo, donde el anillo policíclico puede contener uniones de anillos condensados, espiro o enlazados. Los anillos heteroarilo monocíclicos pueden contener de 5 a 8 átomos miembros (carbonos y heteroátomos). Los anillos heteroarilo bicíclicos pueden contener de 8 a 12 átomos miembros. Los grupos

15 heteroarilo ejemplares incluyen benzofurano, benzotiofeno, furano, imidazol, indol, isotiazol, oxazol, piperazina, pirazina, pirazol, piridazina, piridina, pirimidina, pirrol, quinolina, quinazolina, quinoxalina, tiazol y tiofeno.

Por la expresión "heteroarilo monocíclico", como se usa en este documento, a menos que se defina de otra manera, se entiende un anillo heteroarilo

20 monocíclico que contiene 1-5 átomos de carbono y 1-3 heteroátomos.

Por el término "alcoxi", como se usa en este documento, se entiende - O(alquilo) donde el grupo alquilo es como se describe en este documento, incluyendo -OCH₃, -OCH₂CH₃ y -OC(CH₃)₃.

El término "cicloalquilo", como se usa en este documento, a menos que se defina de otra manera, pretende indicar un grupo C₃-C₁₂ cíclico o policíclico, saturado o insaturado, no aromático.

25

Los ejemplos de sustituyentes cicloalquilo y cicloalquilo sustituido, como se usan en este documento, incluyen: ciclohexilo, aminociclohexilo, ciclobutilo, aminociclobutilo, 4-hidroxi-ciclohexilo, 2-etilciclohexilo, propil-4-metoxiciclohexilo, 4-

30 metoxiciclohexilo, 4-carboxiciclohexilo, ciclopropilo, aminociclopentilo y ciclopentilo.

Por el término "heterocicloalquilo", como se usa en este documento, se entiende un anillo heterocíclico, monocíclico o policíclico, saturado o insaturado, no aromático, que contiene al menos un carbono y al menos un heteroátomo. Los anillos heterocíclicos monocíclicos ejemplares incluyen: piperidina, piperazina,

35 pirrolidina y morfolina. Los anillos heterocíclicos policíclicos ejemplares incluyen

quinuclidina.

Por el término "sustituido", como se usa en este documento, a menos que se defina de otra manera, se entiende que el presente resto químico tiene uno o más sustituyentes, convenientemente de uno a cinco sustituyentes, convenientemente de uno a tres, seleccionados entre el grupo que consiste en: hidrógeno, halógeno, alquilo C1-C6, amino, trifluorometilo, $-(CH_2)_nCOOH$, cicloalquilo C3-C7, aminoalquilo, arilo, heteroarilo, arilalquilo, arilcicloalquilo, heteroarilalquilo, heterocicloalquilo, ciano, hidroxilo, alcoxi, ariloxi, aciloxi, acilamino, arilamino, nitro, oxo, $-CO_2R_{50}$ y $-CONR_{55}R_{60}$, donde cada uno de R_{50} , R_{55} y R_{60} se selecciona independientemente entre hidrógeno y alquilo; y n es de 0 a 6.

Por el término "aciloxi", como se usa en este documento, se entiende $-OC(O)alquilo$ donde el grupo alquilo es como se describe en este documento. Los ejemplos de sustituyentes aciloxi como se usan en este documento incluyen: $-OC(O)CH_3$, $-OC(O)CH(CH_3)_2$ y $-OC(O)(CH_2)_3CH_3$.

Por el término "acilamino", como se usa en este documento, se entiende $-N(H)C(O)alquilo$, donde el grupo alquilo es como se describe en este documento. Los ejemplos de sustituyentes N-acilamino como se usan en este documento incluyen: $-N(H)C(O)CH_3$, $-N(H)C(O)CH(CH_3)_2$ y $-N(H)C(O)(CH_2)_3CH_3$.

Por el término "ariloxi", como se usa en este documento, se entiende $-O(arilo)$, $-O(arilo sustituido)$, $-O(heteroarilo)$ o $-O(heteroarilo sustituido)$.

Por el término "arilamino", como se usa en este documento, se entiende $-NH(arilo)$, $-NH(arilo sustituido)$, $-NH(heteroarilo)$ o $-NH(heteroarilo sustituido)$.

Por el término "heteroátomo", como se usa en este documento, se entiende oxígeno, nitrógeno o azufre.

Por el término "halógeno", como se usa en este documento, se entiende un sustituyente seleccionado entre bromuro, yoduro, cloruro y fluoruro.

Por el término "alquilo" y derivados del mismo y en todas las cadenas carbonadas, como se usan en este documento, incluyendo las cadenas alquilo definidas por el término $-(CH_2)_n$, $-(CH_2)_m$ y similares, se entiende una cadena de hidrocarburo saturada o insaturada, lineal o ramificada, y a menos que se defina de otra manera, la cadena carbonada contendrá de 1 a 12 átomos de carbono.

Los ejemplos de sustituyentes alquilo y alquilo sustituido como se usan en este documento incluyen:

$-CH_3$, $-CH_2-CH_3$, $-CH_2-CH_2-CH_3$, $-CH(CH_3)_2$, $-CH_2-CH_2-C(CH_3)_3$, $-CH_2-CF_3$, $-C\equiv C-$, $C(CH_3)_3$, $-C\equiv C-CH_2-OH$, ciclopropilmetilo, $-CH_2-C(CH_3)_2-CH_2-NH_2$, $-C\equiv C-C_6H_5$, -

$C\equiv C-C(CH_3)_2-OH$, $-CH_2-CH(OH)-CH(OH)-CH(OH)-CH(OH)-CH_2-OH$,
piperidinilmetilo, metoxifeniletilo, $-C(CH_3)_3$, $-(CH_2)_3-CH_3$, $-CH_2-CH(CH_3)_2$, $-CH(CH_3)-$
 CH_2-CH_3 , $-CH\equiv CH_2$ y $-C\equiv C-CH_3$.

Por el término "tratamiento" y derivados del mismo, como se usa en este
5 documento, se entiende terapia profiláctica y terapéutica.

Por el término "coadministración" y derivados del mismo, como se usa en
este documento, se entiende administración simultánea o cualquier forma de
administración secuencial por separado de un compuesto inhibidor de PI3 quinasa,
como se describe en este documento, y un ingrediente o ingredientes activos
10 adicionales, que se consideran útiles en el tratamiento de cánceres, incluyendo
tratamiento con quimioterapia y radiación. La expresión ingrediente o ingredientes
activos adicionales, como se usa en este documento, incluye cualquier compuesto
o agente terapéutico que se sabe que tiene o que demuestra propiedades
ventajosas cuando se administra a un paciente en necesidad de tratamiento para
15 un cáncer. Convenientemente, si la administración no es simultánea, los
compuestos se administran con proximidad temporal entre sí. Adicionalmente, no
importa que los compuestos se administren en la misma forma de dosificación, por
ejemplo, un compuesto puede administrarse por vía tópica y otro compuesto puede
administrarse por vía oral.

20 El término "compuesto", como se usa en este documento, incluye todos los
isómeros del compuesto. Los ejemplos de dichos isómeros incluyen: enantiómeros,
tautómeros y rotámeros.

Ciertos compuestos descritos en este documento pueden contener uno o
más átomos quirales, o de lo contrario pueden existir como dos enantiómeros, o
25 dos o más diastereoisómeros. Por consiguiente, los compuestos de esta invención
incluyen mezclas de enantiómeros/diastereoisómeros así como
enantiómeros/diastereoisómeros purificados o mezclas
enantiomérica/diastereoisoméricamente enriquecidas. Dentro del alcance de la
invención también se incluyen los isómeros individuales de los compuestos
30 representados por la fórmula I o II anterior, así como cualquier mezcla total o
parcialmente equilibrada de los mismos. La presente invención también incluye los
isómeros individuales de los compuestos representados por las fórmulas anteriores
como mezclas con isómeros de los mismos, en los que uno o más centros quirales
están invertidos. Además, un ejemplo de un tautómero posible es un sustituyente
35 oxo en lugar de un sustituyente hidroxilo. Además, como se ha indicado

anteriormente, se entiende que dentro del alcance de los compuestos de Fórmula I o II se incluyen todos los tautómeros y mezclas de tautómeros.

Los compuestos de Fórmula (I) se incluyen en las composiciones farmacéuticas de la invención. Cuando está presente un grupo -COOH o -OH, pueden emplearse ésteres farmacéuticamente aceptables, por ejemplo metilo, etilo, pivaloiloximetilo y similares en el caso de -COOH, y acetato maleato y similares en el caso de -OH, y los ésteres conocidos en la técnica para modificar las características de solubilidad o hidrólisis, para uso como formulaciones de liberación sostenida o de profármacos.

Actualmente, se ha descubierto que los compuestos de la presente invención son inhibidores de las fosfoinosítido 3-quinasas (PI3K). Cuando la enzima fosfoinosítido 3-quinasa (PI3K) se inhibe por un compuesto de la presente invención, la PI3K no puede ejercer sus efectos enzimáticos, biológicos y/o farmacológicos. Por lo tanto, los compuestos de la presente invención son útiles en el tratamiento de trastornos autoinmunes, enfermedades inflamatorias, enfermedades cardiovasculares, enfermedades neurodegenerativas, alergia, asma, pancreatitis, fallo multiorgánico, enfermedades renales, agregación plaquetaria, cáncer, motilidad de los espermatozoides, rechazo de trasplantes, rechazo de injertos y lesiones pulmonares.

Los compuestos de Fórmula (I) son útiles como medicamentos, en particular para el tratamiento de trastornos autoinmunes, enfermedades inflamatorias, enfermedades cardiovasculares, enfermedades neurodegenerativas, alergia, asma, pancreatitis, fallo multiorgánico, enfermedades renales, agregación plaquetaria, cáncer, motilidad de los espermatozoides, rechazo de trasplantes, rechazo de injertos y lesiones pulmonares. De acuerdo con una realización de la presente invención, los compuestos de Fórmula (I) son inhibidores de una o más fosfoinosítido 3-quinasas (PI3K), convenientemente, de la fosfoinosítido 3-quinasa γ (PI3K γ), de la fosfoinosítido 3-quinasa α (PI3K α), de la fosfoinosítido 3-quinasa β (PI3K β) y/o de la fosfoinosítido 3-quinasa δ (PI3K δ).

Los compuestos de acuerdo con la Fórmula (I) son adecuados para la modulación, en particular la inhibición de la actividad de las fosfoinosítido 3-quinasas (PI3K), convenientemente la fosfoinosítido 3-quinasa (PI3K α). Por lo tanto, los compuestos de la presente invención también son útiles para el tratamiento de trastornos que están mediados por PI3K. Dicho tratamiento implica la modulación - en particular la inhibición o la regulación negativa - de las

61

fosfoinosítido 3-quinasas.

Convenientemente, los compuestos de la presente invención se usan para la preparación de un medicamento para el tratamiento de un trastorno seleccionado entre esclerosis múltiple, psoriasis, artritis reumatoide, lupus eritematoso sistémico, enfermedad inflamatoria del intestino, inflamación pulmonar, trombosis o infección/inflamación cerebral, tal como meningitis o encefalitis, enfermedad de Alzheimer, enfermedad de Huntington, traumatismo del SNC, apoplejía o afecciones isquémicas, enfermedades cardiovasculares tales como aterosclerosis, hipertofia cardiaca, disfunción de miocitos cardiacos, elevación de la presión sanguínea o vasoconstricción.

Convenientemente, los compuestos de Fórmula (I) son útiles para el tratamiento de enfermedades autoinmunes o enfermedades inflamatorias tales como esclerosis múltiple, psoriasis, artritis reumatoide, lupus eritematoso sistémico, enfermedad inflamatoria del intestino, inflamación pulmonar, trombosis o infección/inflamación cerebral tal como meningitis o encefalitis.

Convenientemente, los compuestos de Fórmula (I) son útiles para el tratamiento de enfermedades neurodegenerativas incluyendo esclerosis múltiple, enfermedad de Alzheimer, enfermedad de Huntington, traumatismo del SNC, apoplejía o afecciones isquémicas.

Convenientemente, los compuestos de Fórmula (I) son útiles para el tratamiento de enfermedades cardiovasculares tales como aterosclerosis, hipertofia cardiaca, disfunción de miocitos cardiacos, elevación de la presión sanguínea o vasoconstricción.

Convenientemente, los compuestos de Fórmula (I) son útiles para el tratamiento de la enfermedad pulmonar obstructiva crónica, fibrosis por choque anafiláctico, psoriasis, enfermedades alérgicas, asma, apoplejía, afecciones isquémicas, isquemia-reperfusión, agregación/activación de plaquetas, atrofia/hipertrofia del músculo esquelético, reclutamiento leucocitario en tejido canceroso, angiogénesis, metástasis invasiva, en particular melanoma, sarcoma de Kaposi, infecciones bacterianas y virales agudas y crónicas, sepsis, rechazo de trasplantes, rechazo de injertos, glomeruloesclerosis, glomerulonefritis, fibrosis renal progresiva, lesiones endoteliales y epiteliales en el pulmón e inflamación de las vías respiratorias pulmonares.

Debido a que los compuestos farmacéuticamente activos de la presente invención son activos como inhibidores de la PI3 quinasa, particularmente los

compuestos que inhiben PI3K α , selectivamente o junto con una o más de PI3K δ , PI3K β y/o PI3K γ , presentan utilidad terapéutica en el tratamiento de cánceres.

Convenientemente, la invención se refiere a un método para tratar un cáncer en un mamífero, incluyendo un ser humano, donde el cáncer se selecciona entre:

5 cáncer cerebral (gliomas), glioblastomas, leucemias, síndrome de Bannayan-Zonana, enfermedad de Cowden, enfermedad de Lhermitte-Duclos, cáncer de mama, cáncer de mama inflamatorio, tumor de Wilm, sarcoma de Ewing, rhabdomyosarcoma, ependimoma, meduloblastoma, cáncer de colon, cáncer de cabeza y cuello, cáncer de riñón, de pulmón, de hígado, melanoma, de ovario,

10 pancreático, de próstata, sarcoma, osteosarcoma, tumor de células gigantes de huesos y tiroides.

Convenientemente, la invención se refiere a un método para tratar un cáncer en un mamífero, incluyendo un ser humano, donde el cáncer se selecciona entre:

leucemia linfoblástica de células T, leucemia mielógena crónica, leucemia linfocítica

15 crónica, leucemia de células pilosas, leucemia linfoblástica aguda, leucemia mielógena aguda, leucemia neutrófila crónica, leucemia linfoblástica de células T aguda, plasmacitoma, leucemia inmunoblástica de células grandes, leucemia de células del manto, leucemia megacarioblástica en mieloma múltiple, mieloma múltiple, leucemia megacariocítica aguda, leucemia promielocítica y eritroleucemia.

20 Convenientemente, la invención se refiere a un método para tratar un cáncer en un mamífero, incluyendo un ser humano, donde el cáncer se selecciona entre: linfoma maligno, linfoma de Hodgkin, linfoma no Hodgkin, linfoma linfoblástico de células T, linfoma de Burkitt y linfoma folicular.

Convenientemente, la invención se refiere a un método para tratar un cáncer

25 en un mamífero, incluyendo un ser humano, donde el cáncer se selecciona entre: neuroblastoma, cáncer de vejiga, cáncer urotelial, cáncer de pulmón, cáncer de vulva, cáncer cervical, cáncer endometrial, cáncer renal, mesotelioma, cáncer de esófago, cáncer de las glándulas salivares, cáncer hepatocelular, cáncer gástrico, cáncer nasofaríngeo, cáncer bucal, cáncer de la boca, GIST (cáncer del estroma

30 gastrointestinal) y cáncer testicular.

Cuando un compuesto de Fórmula (I) se administra para el tratamiento del cáncer, el término "coadministración" y derivados del mismo, como se usa en este documento, pretende indicar la administración simultánea o cualquier forma de administración secuencial por separado de un compuesto inhibidor de la PI3

35 quinasa, como se describe en este documento, y un ingrediente o ingredientes



activos adicionales considerados útiles en el tratamiento de cánceres, incluyendo la quimioterapia o radioterapia. La expresión ingrediente o ingredientes activos adicionales, como se usa en este documento, incluye cualquier compuesto o agente terapéutico que se sabe que tiene o que demuestra tener propiedades ventajosas cuando se administra a un paciente en necesidad de tratamiento para un cáncer. Preferiblemente, si la administración no es simultánea, los compuestos se administran con proximidad temporal entre sí. Además, no importa si los compuestos se administran en la misma forma de dosificación, por ejemplo, un compuesto puede administrarse por vía tópica y otro compuesto puede administrarse por vía oral.

Típicamente, en el tratamiento de cánceres de la presente invención puede coadministrarse cualquier agente antineoplásico que tenga actividad contra un tumor susceptible de tratamiento. Pueden encontrarse ejemplos de tales agentes en Cancer Principles and Practice of Oncology por V.T. Devita y S. Hellman (editores), 6ª edición (15 de febrero de 2001), Lippincott Williams & Wilkins Publishers. Un especialista habitual en la técnica será capaz de distinguir las combinaciones de agentes que serán útiles basándose en las características particulares de los fármacos y el cáncer implicado. Los agentes antineoplásicos típicos útiles en la presente invención incluyen, pero sin limitación, agentes antimicrotúbulos tales como diterpenoides y alcaloides de la vinca; complejos de coordinación de platino; agentes alquilantes tales como mostazas nitrogenadas, oxazafosforinas, alquilsulfonatos, nitrosoureas y triazenos; agentes antibióticos tales como antraciclinas, actinomicinas y bleomicinas; inhibidores de topoisomerasa II tales como epipodofilotoxinas; antimetabolitos tales como análogos de purina y de pirimidina y compuestos anti-folato; inhibidores de la topoisomerasa I tales como camptotecinas; hormonas y análogos hormonales; inhibidores de la ruta de transducción de señales; inhibidores de la angiogénesis que son inhibidores de tirosinas quinasas no asociadas a receptores; agentes inmunoterapéuticos; agentes proapoptóticos; e inhibidores de la señalización del ciclo celular.

Son ejemplos de un ingrediente o ingredientes activos adicionales para uso en combinación con o coadministrados con los presentes compuestos inhibidores de la PI3 quinasa agentes quimioterapéuticos.

Los agentes antimicrotúbulos o antimitóticos son agentes con especificidad de fase activos contra los microtúbulos de las células tumorales durante la fase M o de mitosis del ciclo celular. Los ejemplos de agentes antimicrotúbulos incluyen, pero

sin limitación, diterpenoides y alcaloides de la vinca.

Los diterpenoides, que se obtienen a partir de fuentes naturales, son agentes anticancerosos con especificidad de fase que operan en las fases G₂/M del ciclo celular. Se cree que los diterpenoides estabilizan la subunidad β -tubulina de los microtúbulos, uniéndose a esta proteína. Después, parece inhibirse el
5 desmontaje de la proteína, deteniéndose la mitosis y produciéndose muerte celular como consecuencia de ello. Los ejemplos de diterpenoides incluyen, pero sin limitación, paclitaxel y su análogo docetaxel.

El paclitaxel, 4,10-diacetato 2-benzoato 13-éster de 5 β ,20-epoxi-
10 1,2 α ,4,7 β ,10 β ,13 α -hexa-hidroxitax-11-en-9-ona con (2R,3S)-N-benzoil-3-fenilisoserina; es un producto de diterpeno natural aislado a partir del tejo del Pacífico *Taxus brevifolia* y está disponible en el mercado como una solución inyectable conocida como TAXOL®. Es un miembro de la familia de los terpenos que recibe el nombre de taxano. Se aisló por primera vez en 1971 por Wani et al.
15 (J. Am. Chem. Soc, 93: 2325, 1971), que caracterizó su estructura por métodos cristalográficos químicos y de rayos X. Un mecanismo para su actividad se refiere a la capacidad del paclitaxel de unirse a tubulina, inhibiendo de esta manera el crecimiento de las células cancerosas. Schiff et al., Proc. Natl. Acad. Sci. Estados Unidos, 77: 1561-1565 (1980); Schiff et al., Nature, 277: 665-667 (1979); Kumar, J.
20 Biol. Chem, 256: 10435-10441 (1981). Como revisión de la síntesis y la actividad anticancerosa de algunos derivados de 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, Amsterdam, 1986) págs. 219-235.

25 El paclitaxel se ha aprobado para uso clínico en el tratamiento del cáncer de ovario refractario en los Estados Unidos (Markman et al., Yale Journal of Biology and Medicine, 64: 583, 1991; McGuire et al., Ann. Intern. Med., 111: 273, 1989) y para el tratamiento del cáncer de mama (Holmes et al., J. Nat. Cancer Inst., 83: 1797, 1991). Es un posible candidato para el tratamiento de neoplasmas de la piel
30 (Einzig et. al., Proc. Am. Soc. Clin. Oncol., 20: 46) y carcinomas de cabeza y cuello (Forastire et. al., Sem. Oncol., 20: 56, 1990). El compuesto también muestra potencial para el tratamiento de la enfermedad renal poliquística (Woo et. al., Nature, 368: 750, 1994), cáncer de pulmón y malaria. El tratamiento de pacientes con paclitaxel produce supresión de médula ósea (múltiples linajes celulares, Ignoff,
35 R.J. et. al, Cancer Chemotherapy Pocket Guide, 1998) relacionada con la duración

de la dosificación por encima de una concentración umbral (50 nM) (Kearns, C.M. et. al., Seminars in Oncology, 3(6) p. 16-23, 1995).

El docetaxel, (2R,3S)-*N*-carboxi-3-fenilisoserina,*N*-*terc*-butil éster, 13-éster con 4-acetato 2-benzoato de 5 β -20-epoxi-1,2 α ,4,7 β ,10 β ,13 α -hexahidroxitax-11-en-9-ona, trihidrato; está disponible en el mercado como una solución inyectable con el nombre TAXOTERE®. El docetaxel está indicado para el tratamiento del cáncer de mama. El docetaxel es un derivado semisintético del paclitaxel *q.v.*, preparado usando un precursor natural, 10-desacetil-baccatina III, extraída de la aguja del tejo europeo. La toxicidad limitante de la dosis del docetaxel es neutropenia.

Los alcaloides de la vinca son agentes antineoplásicos con especificidad de fase obtenidos a partir de la planta vinca pervinca. Los alcaloides de la vinca actúan en la fase M (mitosis) del ciclo celular por medio de su unión específica a la tubulina. Por consiguiente, la molécula de tubulina unida no puede polimerizar para formar microtúbulos. Se cree que la mitosis se detiene en metafase produciéndose posteriormente muerte celular. Los ejemplos de alcaloides de la vinca incluyen, pero sin limitación, vinblastina, vincristina y vinorelbina.

La vinblastina, sulfato de vincaleucoblastina, está disponible en el mercado como VELBAN®, en forma de una solución inyectable. Aunque tiene una posible indicación como terapia de segunda línea de diversos tumores sólidos, principalmente está indicada en el tratamiento del cáncer testicular y de diversos linfomas, incluyendo la enfermedad de Hodgkin; y linfomas linfocíticos e histiocíticos. El efecto secundario limitante de la dosis de vinblastina es la mielosupresión.

La vincristina, vincaleucoblastina, 22-oxo-, sulfato, está disponible en el mercado como ONCOVIN® en forma de una solución inyectable. La vincristina está indicada para el tratamiento de leucemias agudas y también ha encontrado utilidad en regímenes de tratamiento para linfomas malignos de Hodgkin y no Hodgkin. Los efectos secundarios más comunes de la vincristina son alopecia y efectos neurológicos, y en una menor medida también se producen mielosupresión y mucositis gastrointestinal.

La vinorelbina, 3',4'-dideshidro-4'-desoxi-C'-norvincaleucoblastina [R-(R*,R*)-2,3-dihidroxiutanodioato (1:2) (sal)], disponible en el mercado como una solución inyectable de tartrato de vinorelbina (NAVELBINE®), es un alcaloide de la vinca semisintético. La vinorelbina está indicada como único agente o en combinación con otros agentes quimioterapéuticos, tales como el cisplatino, en el

tratamiento de diversos tumores sólidos, particularmente en el cáncer macrocítico de pulmón, el cáncer de mama avanzado y cánceres de próstata refractarios a hormonas. El efecto secundario limitante de la dosis más común de la vinorelbina es la mielosupresión.

- 5 Los complejos de coordinación de platino son agentes anticancerosos sin especificidad de fase que interaccionan con el ADN. Los complejos de platino entran en las células tumorales, experimentan una reacción de desplazamiento químico por moléculas de agua y forman entrecruzamientos intra- e intercatenarios con el ADN produciendo efectos biológicos adversos en el tumor. Los ejemplos de
10 complejos de coordinación de platino incluyen, pero sin limitación, cisplatino y carboplatino.

El cisplatino, cis-diaminodicloroplatino, está disponible en el mercado como PLATINOL® en forma de una solución inyectable. El cisplatino está indicado principalmente en el tratamiento del cáncer metastásico de testículo y ovario y en el
15 cáncer de vejiga avanzado. Los efectos secundarios limitantes de la dosis principales del cisplatino son nefrotoxicidad, que puede controlarse por hidratación y diuresis, y ototoxicidad.

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

Los agentes alquilantes son agentes anticancerosos sin especificidad de fase y electrófilos fuertes. Típicamente, los agentes alquilantes forman enlaces
25 covalentes, por alquilación, con el ADN a través de restos nucleófilos de la molécula de ADN tales como grupos fosfato, amino, sulfhidrilo, hidroxilo, carboxilo, e imidazol. Esta alquilación altera la función del ácido nucleico produciendo muerte celular. Los ejemplos de agentes alquilantes incluyen, pero sin limitación, mostazas nitrogenadas, tales como ciclofosfamida, melfalán y clorambucilo; alquil sulfonatos
30 tales como busulfán; nitrosoureas tales como carmustina; y triazenos tales como dacarbazina.

La ciclofosfamida, 2-óxido de 2-[bis(2-cloroetil)amino]tetrahidro-2H-1,3,2-oxazafosforina monohidrato, está disponible en el mercado como una solución inyectable o comprimidos con el nombre CYTOXAN®. La ciclofosfamida está
35 indicada como único agente o en combinación con otros agentes

quimioterapéuticos, en el tratamiento de linfomas malignos, mieloma múltiple y leucemias. Los efectos secundarios limitantes de la dosis de ciclofosfamida más comunes son alopecia, náuseas, vómitos y leucopenia.

5 El melfalán, 4-[bis(2-cloroetil)amino]-L-fenilalanina, está disponible en el mercado como una solución inyectable o comprimidos con el nombre ALKERAN®. El melfalán está indicado para el tratamiento paliativo del mieloma múltiple y el carcinoma epitelial no reseccionable del ovario. El efecto secundario limitante de la dosis más común del melfalán es la supresión de la médula ósea.

10 El clorambucilo, ácido 4-[bis(2-cloroetil)amino]bencenobutanoico, está disponible en el mercado como comprimidos LEUKERAN®. El clorambucilo está indicado para el tratamiento paliativo de la leucemia linfática crónica y linfomas malignos tales como linfosarcoma, linfoma folicular gigante y enfermedad de Hodgkin. El efecto secundario limitante de la dosis más común del clorambucilo es la supresión de la médula ósea.

15 El busulfán, dimetanosulfonato de 1,4-butanodiol, está disponible en el mercado como MYLERAN® TABLETS. El busulfán está indicado para el tratamiento paliativo de leucemia mielógena crónica. El efecto secundario limitante de la dosis más común del busulfán es la supresión de la médula ósea.

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

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

30 Los antibióticos anti-neoplásicos son agentes sin especificidad de fase que se unen o intercalan con el ADN. Típicamente, esta acción produce complejos de ADN estables o la ruptura de la cadena, lo cual altera la función normal de los ácidos nucleicos produciendo muerte celular. Los ejemplos de agentes antibióticos antineoplásicos incluyen, pero sin limitación, actinomicinas tales como la

actinomicina, antraciclinas tales como daunorrubicina y doxorrubicina; y bleomicinas.

La dactinomicina, también conocida como Actinomicina D, está disponible en el mercado en forma inyectable como COSMEGEN®. La dactinomicina está
5 indicada para el tratamiento del tumor de Wilm y el rhabdomiosarcoma. Los efectos secundarios limitantes de la dosis más comunes de la dactinomicina son náuseas, vómitos y anorexia.

La daunorrubicina, hidrocloreto de (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-
10 5,12-naftacenodiona, está disponible en el mercado como una forma inyectable liposomal con el nombre DAUNOXOME® o como un inyectable con el nombre CERUBIDINE®. La daunorrubicina está indicada para la inducción de remisión en el tratamiento de la leucemia no linfocítica aguda y el sarcoma de Kaposi asociado con VIH avanzado. El efecto secundario limitante de la dosis más común de la
15 daunorrubicina es la mielosupresión.

La doxorrubicina, hidrocloreto de (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-naftacenediona, está disponible en el mercado como una forma inyectable con el nombre RUBEX® o ADRIAMYCIN RDF®. La doxorrubicina está indicada
20 principalmente para el tratamiento de la leucemia linfoblástica aguda y la 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 la doxorrubicina es mielosupresión.

La bleomicina, una mezcla de antibióticos glicopéptidos citotóxicos aislados a partir de una cepa de *Streptomyces verticillus*, está disponible en el mercado como BLENOXANE®. La bleomicina está indicada como un tratamiento paliativo, como único agente o en combinación con otros agentes, del carcinoma de células escamosas, linfomas y carcinomas testiculares. Los efectos secundarios limitantes de la dosis más comunes de la bleomicina son toxicidades pulmonar y cutánea.

30 Los inhibidores de la topoisomerasa II incluyen, pero sin limitación, epipodofilotoxinas.

Las epipodofilotoxinas son agentes antineoplásicos con especificidad de fase precedentes de la planta mandrágora. Las epipodofilotoxinas típicamente afectan a las células en las fases S y G₂ del ciclo celular formando un complejo
35 ternario con la topoisomerasa II y el ADN produciendo rupturas de las cadenas de

ADN. Las rupturas de las cadenas se acumulan y se produce muerte celular. Los ejemplos de epipodofilotoxinas incluyen, pero sin limitación, etopósido y tenipósido.

El etopósido, 4'-desmetil-epipodofilotoxina 9[4,6-0-(R)-etilideno- β -D-glucopiranosido], está disponible en el mercado como una solución inyectable o cápsulas con el nombre VePESID® y se conoce comúnmente como VP-16. El etopósido está indicado como un único agente o en combinación con otros agentes quimioterapéuticos en el tratamiento de cánceres testiculares y macrocíticos de pulmón. El efecto secundario más común del etopósido es la mielosupresión. La incidencia de leucopenia tiende a ser más severa que de trombocitopenia.

El tenipósido, 4'-desmetil-epipodofilotoxina 9[4,6-0-(R)-tenilideno- β -D-glucopiranosido] está disponible en el mercado como una solución inyectable con el nombre VUMON® y se conoce comúnmente como VM-26. El tenipósido está indicado como único agente o en combinación con otros agentes quimioterapéuticos en el tratamiento de la leucemia aguda en niños. El efecto secundario limitante de la dosis más común del tenipósido es mielosupresión. El tenipósido puede inducir tanto leucopenia como trombocitopenia.

Los agentes antineoplásicos antimetabolito son agentes antineoplásicos con especificidad de fase que actúan en la fase S (síntesis de ADN) del ciclo celular inhibiendo la síntesis de ADN o inhibiendo la síntesis de purinas o pirimidinas y de esta manera limitando la síntesis de ADN. Por consiguiente, la fase S no avanza y se produce muerte celular. Los ejemplos de agentes antineoplásicos antimetabolito incluyen, pero sin limitación, fluorouracilo, metotrexato, citarabina, mercaptopurina, tioguanina y gemcitabina.

El 5-fluorouracilo, 5-fluoro-2,4-(1H,3H) pirimidinadiona, está disponible en el mercado como fluorouracilo. La administración de 5-fluorouracilo conduce a la inhibición de la síntesis de timidilato y también se incorpora tanto en el ARN como en el ADN. El resultado típicamente es la muerte celular. El 5-fluorouracilo está indicado como único agente o en combinación con otros agentes quimioterapéuticos en el tratamiento de carcinomas de mama, colon, recto, estómago y páncreas. Los efectos secundarios limitantes de la dosis de 5-fluorouracilo son mielosupresión y mucositis. Otros análogos de fluoropirimidina incluyen 5-fluorodesoxiuridina (floxuridina) y 5-fluorodesoxiuridina monofosfato.

La citarabina, 4-amino-1- β -D-arabinofuranosil-2(1H)-pirimidinona, está disponible en el mercado como CYTOSAR-U® y se conoce comúnmente como Ara-C. Se cree que la citarabina presenta especificidad de fase celular en la fase S

inhibiendo el alargamiento de la cadena de ADN por la incorporación terminal de citarabina en la cadena de ADN en crecimiento. La citarabina está indicada como único agente o en combinación con otros agentes quimioterapéuticos en el tratamiento de la leucemia aguda. Otros análogos de citidina incluyen 5-azacitidina y 2',2'-difluorodesoxicitidina (gemcitabina). La citarabina induce leucopenia, trombocitopenia y mucositis.

La mercaptopurina, 1,7-dihidro-6H-purina-6-tiona monohidrato, está disponible en el mercado como PURINETHOL®. La mercaptopurina presenta especificidad de fase celular en la fase S inhibiendo la síntesis de ADN por un mecanismo no especificado hasta ahora. La mercaptopurina está indicada como único agente o en combinación con otros agentes quimioterapéuticos en el tratamiento de la leucemia aguda. La mielosupresión y la mucositis gastrointestinal son efectos secundarios esperados de la mercaptopurina cuando se administra a altas dosis. Un análogo de mercaptopurina útil es azatioprina.

La tioguanina, 2-amino-1,7-dihidro-6H-purina-6-tiona, está disponible en el mercado como TABLOID®. La tioguanina presenta especificidad de fase celular en la fase S inhibiendo la síntesis de ADN por un mecanismo no especificado hasta ahora. La tioguanina está indicada como único agente o en combinación con otros agentes quimioterapéuticos en el tratamiento de la leucemia aguda. El efecto secundario limitante de la dosis más común de la administración de tioguanina es mielosupresión, incluyendo leucopenia, trombocitopenia y anemia. Sin embargo, se producen efectos secundarios gastrointestinales y pueden ser limitantes de la dosis. Otros análogos de purina incluyen pentostatina, eritrohidroxinoniladenina, fludarabina fosfato y cladribina.

La gemcitabina, monohidrocloruro de 2'-desoxi-2',2'-difluorocitidina (isómero β), está disponible en el mercado como GEMZAR®. La gemcitabina presenta especificidad de fase celular en la fase S bloqueando la progresión de las células a través del límite G1/S. La gemcitabina está indicada en combinación con el cisplatino en el tratamiento del cáncer macrocítico de pulmón localmente avanzado y sola en el tratamiento del cáncer pancreático localmente avanzado. El efecto secundario limitante de la dosis más común de la administración de gemcitabina es mielosupresión, incluyendo leucopenia, trombocitopenia y anemia.

El metotrexato, ácido N-[4[[[2,4-diamino-6-pteridinil)metil]metilamino]benzoil]-L-glutámico está disponible en el mercado como metotrexato sódico. El metotrexato presenta efectos de fase celular específicamente en la fase S

al

inhibiendo la síntesis, reparación y/o replicación del ADN por medio de la inhibición de la ácido dihidrofólico reductasa que se necesita para la síntesis de nucleótidos de purina y timidilato. El metotrexato está indicado como único agente o en combinación con otros agentes quimioterapéuticos en el tratamiento de

5 coriocarcinoma, leucemia meníngea, linfoma no Hodgkin y carcinomas de mama, cabeza, cuello, ovario y vejiga. Los efectos secundarios esperados de la administración de metotrexato son mielosupresión (leucopenia, trombocitopenia y anemia) y mucositis.

Las camptotecinas, incluyendo la camptotecina y derivados de

10 camptotecina, están disponibles o en desarrollo como inhibidores de la topoisomerasa I. Se cree que la actividad citotóxica de las camptotecinas está relacionada con su actividad inhibidora de la topoisomerasa I. Los ejemplos de camptotecinas incluyen, pero sin limitación, irinotecan, topotecan y las diversas formas ópticas de 7-(4-metilpiperazino-metileno)-10,11-etilenodioxi-20-camptotecina

15 descritas más adelante.

El irinotecan HCl, hidrocloreuro de (4S)-4,11-dietil-4-hidroxi-9-[(4-piperidinopiperidino) carboniloxi]-1H-pirano[3',4',6,7]indolizino[1,2-b]quinolina-3,14(4H,12H)-diona está disponible en el mercado como la solución inyectable CAMPTOSAR®.

20 El irinotecan es un derivado de la camptotecina que se une, junto con su metabolito activo SN-38, al complejo topoisomerasa I - ADN. Se cree que se produce citotoxicidad como resultado de rupturas irreparables de la doble cadena producidas por interacción de la topoisomerasa I : ADN : irinotecan o el complejo ternario SN-38 con enzimas de la replicación. El irinotecan está indicado para el

25 tratamiento del cáncer metastásico de colon o recto. Los efectos secundarios limitantes de la dosis del irinotecan HCl son mielosupresión, incluyendo neutropenia y efectos GI, incluyendo diarrea.

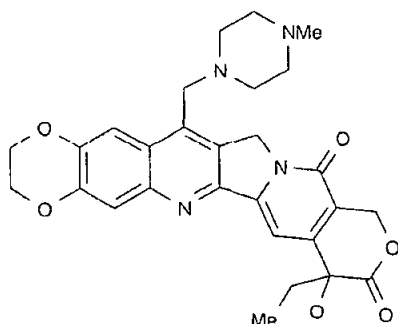
El topotecan HCl, monohidrocloreuro de (S)-10-[(dimetilamino)metil]-4-etil-4,9-dihidroxi-1H-pirano[3',4',6,7]indolizino[1,2-b]quinolina-3,14-(4H,12H)-diona, está

30 disponible en el mercado como la solución inyectable HYCAMTIN®. El topotecan es un derivado de camptotecina que se une al complejo topoisomerasa I - ADN y previene el religamiento de rupturas de una sola cadena producidas por la topoisomerasa I en respuesta a la tensión torsional de la molécula de ADN. El topotecan está indicado para el tratamiento de segunda línea del carcinoma

35 metastásico del cáncer de ovario y microcítico de pulmón. El efecto limitante de la

dosis de topotecan HCl es mielosupresión, principalmente neutropenia.

También es de interés el derivado de camptotecina de fórmula A que se muestra a continuación, actualmente en desarrollo, incluyendo la mezcla racémica (R,S) así como los enantiómeros R y S:



A

5

conocido con 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). En las Patentes de Estados Unidos N° 6.063.923; 5.342.947; 5.559.235; 5.491.237 y en la Solicitud de Patente de Estados Unidos en trámite N° 08/977.217, presentada el 24 de noviembre de 1997, se describen estos compuestos así como compuestos relacionados, incluyendo métodos de fabricación.

Las hormonas y análogos hormonales son compuestos útiles para tratar
15 *cánceres en los que hay una relación entre las hormonas y el crecimiento y/o ausencia de crecimiento del cáncer. Los ejemplos de hormonas y análogos hormonales útiles en el tratamiento de cánceres incluyen, pero sin limitación, adrenocorticosteroides tales como prednisona y prednisolona que son útiles en el tratamiento de linfomas malignos y de leucemia aguda en niños; aminoglutetimida y*
20 *otros inhibidores de aromatasa tales como anastrozol, letrozol, vorazol y exemestano útiles en el tratamiento del carcinoma adrenocortical y el carcinoma de mama dependiente de hormonas que contiene receptores de estrógenos; progestinas tales como acetato de megestrol útil en el tratamiento del cáncer de mama y el carcinoma endometrial dependientes de hormonas; estrógenos,*
25 *andrógenos y antiandrógenos tales como flutamida, nilutamida, bicalutamida, acetato de ciproterona y 5 α -reductasas tales como finasterida y dutasterida, útiles en el tratamiento del carcinoma prostático y de la hipertrofia prostática benigna; antiestrógenos tales como tamoxifeno, toremifeno, raloxifeno, droloxifeno,*

yodoxifeno, así como moduladores selectivos del receptor de estrógenos (SERMS) tales como los descritos en las Patentes de Estados Unidos N° 5.681.835, 5.877.219 y 6.207.716, útiles en el tratamiento del carcinoma de mama dependiente de hormonas y otros cánceres susceptibles; y hormona liberadora de

5 gonadotropinas (GnRH) y análogos de la misma que estimulan la liberación de hormona luteinizante (LH) y/u hormona estimuladora del folículo (FSH) para el tratamiento del carcinoma de próstata, por ejemplo, agonistas y antagonistas de LHRH tales como acetato de goserelina y luprolida.

Los inhibidores de las rutas de transducción de señales son los inhibidores

10 que bloquean o inhiben un proceso químico que induce un cambio intracelular. Como se usa en este documento, este cambio es la proliferación o diferenciación celular. Los inhibidores de la transducción de señales útiles en la presente invención incluyen inhibidores de tirosina quinasas de tipo receptor, tirosina quinasas no asociadas a receptores, bloqueantes del dominio SH2/SH3,

15 serina/treonina quinasas, fosfatidil inositol-3 quinasas, señalización de mioinositol y oncogenes Ras.

Varias proteínas tirosina quinasas catalizan la fosforilación de restos de tirosilo específicos en diversas proteínas implicadas en la regulación del crecimiento celular. Estas proteínas tirosina quinasas pueden clasificarse en líneas generales

20 como quinasas de tipo receptor o no asociadas con receptores.

Las tirosina quinasas de tipo receptor son proteínas transmembrana que tienen un dominio extracelular de unión al ligando, un dominio transmembrana y un dominio tirosina quinasa. Las tirosina quinasas de tipo receptor están implicadas en la regulación del crecimiento celular y generalmente se denominan receptores de

25 factores de crecimiento. Se ha demostrado que una activación inapropiada o incontrolada de muchas de estas quinasas, es decir, una actividad aberrante de la quinasa de un receptor de factor de crecimiento, por ejemplo, por sobreexpresión o mutación, produce un crecimiento celular incontrolado. Por consiguiente, la actividad aberrante de estas quinasas se ha asociado a un crecimiento tisular

30 maligno. Por consiguiente, los inhibidores de estas quinasas podrían proporcionar métodos de tratamiento de cánceres. Los receptores de los factores de crecimiento incluyen, por ejemplo, el receptor del factor de crecimiento epidérmico (EGFr), el receptor del factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGFr), erbB2, erbB4, el receptor del factor de crecimiento del endotelio vascular (VEGFr), tirosina quinasa

35 con dominios de homología al factor de crecimiento de tipo 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 de efrina (eph) y el protooncogén RET. Varios inhibidores de receptores de factores de crecimiento están en desarrollo e incluyen antagonistas de ligandos, anticuerpos, inhibidores de tirosina quinasa y oligonucleótidos antisentido. Se describen receptores de factores de crecimiento y agentes que inhiben la función de receptores de factores de crecimiento, por ejemplo, en Kath, John C., Exp. Opin. Ther. Patents (2000) 10(6): 803-818; Shawver et al DDT Vol 2, No. 2 febrero de 1997; y Lofts, F. J. et al, "Growth factor receptors as targets", New Molecular Targets for Cancer Chemotherapy, ed. Workman, Paul y Kerr, David, CRC press 1994, London.

Las tirosina quinasas que no son quinasas de receptores de factores de crecimiento se denominan tirosina quinasas no asociadas a receptores. Las tirosina quinasas no asociadas a receptores útiles 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 de Bruton y Bcr-Abl. En Sinh, S. y 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, se describen estas quinasas no asociadas a receptores y agentes que inhiben la función de tirosina quinasas no asociadas a receptores.

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

Los inhibidores de serina/treonina quinasas incluyen bloqueantes de la cascada de la MAP quinasa que incluyen bloqueantes de Raf quinasas (rafk), de quinasas reguladas por mitógeno o extracelulares (MEK) y quinasas reguladas extracelulares (ERK); y bloqueantes de miembros de la familia de la proteína quinasa C incluyendo bloqueantes de PKC (alfa, beta, gamma, épsilon, mu, lambda, iota y zeta), de la familia de Ikb quinasa (IKKa, IKKb), de la familia de PKB quinasas, miembros de la familia AKT quinasas y quinasas del receptor TGF beta. Estas serina/treonina quinasas y sus inhibidores se describen en Yamamoto, T.,

95

- Taya, S., Kaibuchi, K., (1999), *Journal of Biochemistry*. 126 (5) 799-803; Brodt, P, Samani, A., y Navab, R. (2000), *Biochemical Pharmacology*, 60, 1101-1107; Massague, J., Weis-Garcia, F. (1996) *Cancer Surveys*. 27: 41-64; Philip, P.A., y Harris, A.L. (1995), *Cancer Treatment y Research*. 78: 3-27, Lackey, K. et al
- 5 Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters, (10), 2000, 223-226; Patente de Estados Unidos N° 6.268.391; y Martinez-lacaci, L., et al, *Int. J. Cancer* (2000), 88(1), 44-52.

En la presente invención también son útiles inhibidores de miembros de la familia de la fosfatidil inositol-3 quinasa incluyendo bloqueantes de PI3-quinasa,

10 ATM, DNA-PK y Ku. Estas 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, H. et al, *Cancer res*, (2000) 60(6), 1541-1545.

También son útiles en la presente invención inhibidores de la señalización

15 de mioinositol tales como bloqueantes de la fosfolipasa C y análogos de Mioinositol. Estos inhibidores de señales se describen en Powis, G., y Kozikowski A., (1994) *New Molecular Targets for Cancer Chemotherapy* ed., Paul Workman y David Kerr, CRC press 1994, London.

Otro grupo de inhibidores de la ruta de transducción de señales son

20 inhibidores del oncogén Ras. Estos inhibidores incluyen inhibidores de farnesiltransferasa, geranil-geranil transferasa y CAAX proteasas así como oligonucleótidos antisentido, ribozimas e inmunoterapia. Se ha demostrado que estos inhibidores bloquean la activación de ras en células que contienen el mutante ras de tipo silvestre, actuando de esta manera como agentes antiproliferativos. En

25 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. Biophys. Acta*, (1989) 1423(3): 19-30 se describe la inhibición del oncogén Ras.

Como se ha mencionado anteriormente, los anticuerpos antagonistas de la

30 unión de ligandos a quinasas de tipo receptor también pueden servir como inhibidores de la transducción de señales. Este grupo de inhibidores de la ruta de transducción de señales incluye el uso de anticuerpos humanizados contra el dominio de unión al ligando extracelular de tirosina quinasas de tipo receptor. Por ejemplo, el anticuerpo específico Imclone C225 EGFR (véase Green, M.C. et al,

35 *Monoclonal Antibody Therapy for Solid Tumors, Cancer Treat. Rev.*, (2000), 26(4),

269-286); el anticuerpo Herceptin® erbB2 (véase Tyrosine Kinase Signalling in Breast cancer:erbB Family Receptor Tyrosine Kinases, Breast cancer Res., 2000, 2(3), 176-183); y el anticuerpo específico 2CB VEGFR2 (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).

Los inhibidores de la angiogénesis de quinasas no asociadas a receptores también pueden encontrar utilidad en la presente invención. Anteriormente se han descrito inhibidores de la angiogénesis relacionados con VEGFR y TIE2 en relación con los inhibidores de la transducción de señales (los dos receptores son tirosina quinasas asociadas a receptores). La angiogénesis en general está asociada a la señalización de erbB2/EGFR ya que se ha demostrado que los inhibidores de erbB2 y EGFR inhiben la angiogénesis, principalmente la expresión de VEGF. De esta manera, es conveniente la combinación de un inhibidor de erbB2/EGFR con un inhibidor de la angiogénesis. Por consiguiente, pueden usarse inhibidores de tirosina quinasas no asociadas a receptores en combinación con los inhibidores de EGFR/erbB2 de la presente invención. Por ejemplo, los anticuerpos anti-VEGF, que no reconocen VEGFR (la tirosina quinasa de tipo receptor), pero se unen al ligando; inhibidores de molécula pequeña de integrina ($\alpha_v\beta_3$) que inhibirán la angiogénesis; endostatina y angiostatina (tirosina quinasas no asociadas a receptores) también pueden resultar útiles en combinación con los inhibidores descritos de la familia erb. (Véase Bruns CJ et al (2000), Cancer Res., 60: 2926-2935; Schreiber AB, Winkler ME, y Derynck R. (1986), Science, 232: 1250-1253; Yen L et al. (2000), Oncogene 19: 3460-3469).

Algunos agentes usados en regímenes inmunoterapéuticos también pueden ser útiles en combinación con los compuestos de fórmula (I). Hay varias estrategias inmunológicas para generar una respuesta inmune contra erbB2 o EGFR. Estas estrategias generalmente están en el campo de vacunaciones contra tumores. La eficacia de las estrategias inmunológicas puede mejorarse en gran medida por medio de la inhibición combinada de rutas de señalización de erbB2/EGFR usando un inhibidor de molécula pequeña. Se encuentra una discusión de la estrategia de vacuna inmunológica/tumoral contra erbB2/EGFR en Reilly RT et al. (2000), Cancer Res. 60: 3569-3576; y Chen Y, Hu D, Eling DJ, Robbins J, y Kipps TJ. (1998), Cancer Res. 58: 1965-1971.

En la combinación de la presente invención también pueden usarse agentes usados en regímenes proapoptóticos (por ejemplo, oligonucleótidos antisentido bcl-

2). Los miembros de la familia de proteínas Bcl-2 bloquean la apoptosis. La regulación positiva de bcl-2, por lo tanto, se ha asociado a quimiorresistencia. Ciertos estudios han demostrado que el factor de crecimiento epidérmico (EGF) estimula miembros anti-apoptóticos de la familia bcl-2 (es decir, mcl-1). Por lo tanto,

5 las estrategias diseñadas para regular negativamente la expresión de bcl-2 en tumores han demostrado efectos clínicos beneficiosos y ahora están en ensayos de Fase II/III, particularmente el oligonucleótido antisentido bcl-2 G3139 de Genta. Estas estrategias proapoptóticas que usan la estrategia de oligonucleótidos antisentido para bcl-2 se describen en Water JS et al. (2000), J. Clin. Oncol. 18:

10 1812-1823; y Kitada S et al. (1994), Antisense Res. Dev. 4: 71-79.

Los inhibidores de la señalización del ciclo celular inhiben moléculas implicadas en el control del ciclo celular. Una familia de proteína quinasas denominadas quinasas dependientes de ciclina (CDK) y su interacción con una familia de proteínas denominadas ciclinas controla la progresión a través del ciclo

15 celular eucariota. Se necesita la activación e inactivación coordinada de diferentes complejos de ciclina/CDK para una progresión normal a lo largo del ciclo celular. Actualmente están en desarrollo varios inhibidores de la señalización del ciclo celular. Por ejemplo, se describen ejemplos de quinasas dependientes de ciclina, incluyendo CDK2, CDK4 y CDK6 e inhibidores de las mismas, por ejemplo, en

20 Rosania et al, Exp. Opin. Ther. Patents (2000) 10(2):215-230.

En una realización, el método de tratamiento de cánceres de la invención reivindicada incluye la coadministración de un compuesto de fórmula I y/o una sal farmacéuticamente aceptable, hidrato, solvato o profármaco del mismo y al menos un agente antineoplásico, tal como uno seleccionado entre el grupo consistente en

25 agentes antimicrotúbulos, complejos de coordinación de platino, agentes alquilantes, agentes antibióticos, inhibidores de la topoisomerasa II, antimetabolitos, inhibidores de la topoisomerasa I, hormonas y análogos hormonales, inhibidores de la ruta de transducción de señales, inhibidores de la angiogénesis que son inhibidores de tirosina quinasas no asociadas a receptores, agentes

30 inmunoterapéuticos, agentes proapoptóticos e inhibidores de la señalización del ciclo celular.

Como los compuestos farmacéuticamente activos de la presente invención son activos como inhibidores de la PI3 quinasa, particularmente los compuestos que modulan/inhiben PI3K γ , selectivamente o junto con una o más PI3K δ , PI3K β ,

35 y/o PI3K α , presentan utilidad terapéutica en el tratamiento de un estado de

enfermedad seleccionado entre: trastornos autoinmunes, enfermedades inflamatorias, enfermedades cardiovasculares, enfermedades neurodegenerativas, alergia, asma, pancreatitis, fallo multiorgánico, enfermedades renales, agregación plaquetaria, motilidad de los espermatozoides, rechazo de trasplantes, rechazo de
5 injertos y lesiones pulmonares.

Cuando un compuesto de Fórmula (I) se administra para el tratamiento de un estado de enfermedad seleccionado entre: trastornos autoinmunes, enfermedades inflamatorias, enfermedades cardiovasculares, enfermedades neurodegenerativas, alergia, asma, pancreatitis, fallo multiorgánico, enfermedades
10 renales, agregación plaquetaria, motilidad de los espermatozoides, rechazo de trasplantes, rechazo de injertos o lesiones pulmonares, el término "coadministración" y derivados del mismo como se usan en este documento, se entiende la administración simultánea o cualquier manera de administración secuencial separada de un compuesto inhibidor de la PI3 quinasa como se describe
15 en este documento, y uno o más ingredientes activos adicionales que se consideran útiles en el tratamiento de trastornos autoinmunes, enfermedades inflamatorias, enfermedades cardiovasculares, enfermedades neurodegenerativas, alergia, asma, pancreatitis, fallo multiorgánico, enfermedades renales, agregación plaquetaria, motilidad de los espermatozoides, rechazo de trasplantes, rechazo de injertos y/o
20 lesiones pulmonares.

Ensayos biológicos

Ensayo de PI3K alfa en perlas Leadseeker SPA

Los compuestos de la presente invención se ensayaron de acuerdo con los siguientes ensayos y se descubrió que eran inhibidores de PI3 quinasas, particularmente de PI3K α . Las actividades (CI₅₀) contra PI3K α varían de 1 nM a 500
25 μ M.

El compuesto del ejemplo 1 se ensayó y se descubrió que tenía un valor de CI₅₀ de 1 nM contra PI3K α en los ensayos.

Principio del ensayo

30 Las perlas de formación de imágenes SPA son microesferas que contienen un material de centelleo que emite luz en la región roja del espectro visible. Como resultado, estas perlas son muy adecuadas para uso con un aparato de formación de imágenes CCD tal como el Viewlux. Las perlas Leadseeker usadas en este sistema son perlas de poliestireno que se han acoplado con polietilenimina. Cuando
35 se añaden a la mezcla de ensayo, las perlas absorben tanto el sustrato (PIP2)

como el producto (PIP3). El P^{33} -PIP3 adsorbido producirá un aumento en la señal, medida como ADU (unidades analógico-digitales). Este protocolo detalla el uso de las perlas PEI-PS Leadseeker para ensayos usando His-p110/p85 PI3K alfa.

Protocolo de ensayo

5 Los compuestos sólidos típicamente se ponen en placas con 0,1 μ l de DMSO al 100% en todos los pocillos (excepto en las columnas 6 y 18) de una placa de bajo volumen, de fondo plano, de 384 pocillos (Greiner 784075). Los compuestos se diluyen en serie (3 veces en DMSO al 100%) a través de la placa desde la columna 1 a la columna 12 y desde la columna 13 a la columna 24, 10 dejando que las columnas 6 y 18 contengan únicamente DMSO, para producir 11 concentraciones para cada compuesto de ensayo. El tampón de ensayo contiene MOPS (pH 6,5), CHAPS y DTT. Se mezclan PI3K alfa y PIP2 (L-alfa-D-miofosfatidilinositol 4,5-bisfosfato [PI(4,5)P2]3-O-unido a fosfo, D(+)-sn-1,2-di-Octanoilglicerilo, CellSignals N° 901) y la mezcla se incuba en la placa con 15 compuesto durante 30 minutos antes de iniciar la reacción con la adición de P^{33} -ATP y $MgCl_2$ (reactivos añadidos usando Zoom). Típicamente se preparan pocillos sin enzima (columna 18) para determinar el control bajo. Se añaden perlas PEI-PS Leadseeker en PBS/EDTA/CHAPS (por medio de un Multidrop) para inactivar la reacción y las placas se dejan en incubación durante al menos una hora 20 (típicamente durante una noche) antes de la centrifugación. La señal se determina usando un detector Viewlux y después se importa a un software de ajuste de curvas (Activity Base) para la construcción de curvas de concentración-respuesta. El porcentaje de inhibición de actividad se calculó con respecto a los controles elevados (C1, 0,1 μ l de DMSO en columna 6, filas A-P)) y los controles bajos (C2, 5 25 μ l de PIP2 40 μ M en tampón en columna 18, filas A-P) usando $100 \times (1 - (U1 - C2) / (C1 - C2))$. La concentración de compuesto de ensayo que producía una inhibición de 50% se determinó usando la ecuación $y = ((V_{max} \times x) / (K + x)) + Y_2$, donde "K" era igual a la Cl_{50} . Los valores de Cl_{50} se convirtieron en valores de pCl_{50} es decir, $-\log Cl_{50}$ en concentración molar.

30 **Ensayos celulares:**

DÍA 1

Poner las células en placas antes del mediodía

10K células/pocillo en placas de 96 pocillos transparentes de fondo plano (f.v. 105 μ l)

35 Los últimos cuatro pocillos de la última columna reciben sólo medio

Poner en un incubador a 37°C durante una noche

Placa del compuesto

Preparar en placas de 96 pocillos de fondo redondo de polipropileno; 8 compuestos por placa, titulaciones 11-pt de cada uno (dilución en serie 3x), DMSO en la última columna (0,15% f.c. en las células)

5

15 µl en el primer pocillo, 10 µl de DMSO en el resto; coger 5 µl del primer pocillo y mezclar en el siguiente, continuar a lo largo de la placa (excluyendo la última columna; cerrar con la tapa y poner a 4°C

DÍA 2

- 10 Sacar inhibidores de tampón de lisis (4°C/-20°C) y placas de compuesto (4°C), descongelar en la mesa de trabajo; preparar tampón de lavado 1x Tris (WB) para rellenar el depósito del lavador de placas y completar las reservas de la mesa de trabajo (uso de MiliQ), encender la centrifuga para permitir que se enfríe

Bloquear las placas de MSD

- 15 Preparar 20 ml de solución de bloqueo al 3%/placa (600 mg de bloqueante A en 20 ml de WB), añadir 150 µl/pocillo e incubar a TA durante al menos 1 h

Añadir compuesto (mientras se produce el bloqueo)

Añadir 300 µl de medio de crecimiento (RPMI con Q, 10% de FBS) por pocillo (682x dilución de compuesto) a cada placa de compuesto

- 20 Añadir 5 µl de dilución de compuesto en cada pocillo (*f.v. 110 µl*) en placas duplicadas

Poner en un incubador a 37°C durante 30 min

Realizar lisados

- 25 Preparar tampón de Lisis MSD; para 10 ml, añadir 200 µl de solución de inhibidor de proteasa y 100 µl de inhibidores de Fosfatasa I y II (*Mantener en hielo hasta que esté listo para el uso*)

Retirar las placas después de la incubación, aspirar el medio con un lavador de placas, lavar una vez con PBS fría y añadir 80 µl de tampón de Lisis MSD por pocillo; incubar en un agitador a 4°C durante ≥30min

- 30 Centrifugar en frío a 2500 rpm durante 10 min; dejar las placas en la centrifuga a 4°C hasta que estén listas para el uso

Ensayo AKT doble

Lavar las placas (4x con 200 µl/pocillo de WB en el lavador de placas); golpear ligeramente las placas sobre papel secante para secarlas.

- 35 Añadir 60 µl de lisados/pocillo, incubar en un agitador a TA durante 1 h

Durante la incubación, preparar Ab de detección (3 ml/placa; 2 ml de WB y 1 ml de solución de bloqueo con Ab a 10 nM); repetir la etapa del lavado como se ha indicado anteriormente

Añadir 25 µl de Ab/pocillo, incubar en un agitador a TA durante 1 h; repetir la etapa de lavado como se ha indicado anteriormente

Añadir 150 µl/pocillo de 1x Tampón de Lectura (diluir 4x solución madre en ddH₂O, 20 ml/placa), leer inmediatamente

Análisis

Observar todos los puntos de datos a cada concentración de compuesto.

- 10 El punto de datos de la mayor concentración de inhibidor debe ser igual o mayor que 70% del control de DMSO.

Los valores de CI_{50} para los ensayos realizados por duplicado deben tener una diferencia menor del doble (sin marca en la plantilla de resumen).

- 15 Y min debe ser mayor de cero; si los dos mins están marcados en rojo (>35), entonces se dice que el compuesto es inactivo ($CI_{50} \geq$ dosis superior). Si sólo se marca en rojo un min, pero es ≤ 50 , entonces se dice que la CI_{50} es la indicada.

No se considerará ningún punto de datos igual o mayor que 30% por fuera de la curva.

Ensayo de Crecimiento/Muerte Celular:

- 20 Se cultivaron BT474, HCC1954 y T-47D (mama humana) en RPMI-1640 que contenía suero bovino fetal al 10% a 37°C en un incubador con 5% de CO₂. Las células se dividieron en un matraz T75 (Falcon N° 353136) de dos a tres días antes del ensayo a una densidad que produjo una confluencia de aproximadamente 70-80% en el momento de la recolección para el ensayo. Las células se recogieron
- 25 usando tripsina al 0,25%-EDTA (Sigma N° 4049). Los recuentos de células se realizaron en suspensión celular usando tinción por exclusión de azul Tripán. Las células después se cultivaron en placas negras de poliestireno de fondo plano de 384 pocillos (Greiner N° 781086) en 48 µl de medio de cultivo por pocillo a 1.000 células/pocillo. Todas las placas se pusieron en un medio con 5% de CO₂, 37°C
- 30 durante una noche y los compuestos de ensayo se añadieron al día siguiente. Una placa se trató con CellTiter-Glo (Promega N° G7573) durante un día. Las mediciones y las lecturas en el día 0 (t = 0) se realizaron como se describe más adelante. Los compuestos de ensayo se prepararon en placas de polipropileno de fondo transparente de 384 pocillos (Greiner N° 781280) con diluciones a la mitad
- 35 consecutivas. 4 µl de estas diluciones se añadieron a 105 µl de medio de cultivo.

Después de mezclar la solución, 2 μ l de estas diluciones se añadieron en cada pocillo de las placas de células. La concentración final de DMSO en todos los pocillos fue 0,15%. Las células se incubaron a 37°C con 5% de CO₂ durante 72 horas. Después de 72 horas de incubación con compuestos, cada placa se reveló y se leyó. Se añadió reactivo CellTiter-Glo a las placas de ensayo usando un volumen equivalente al volumen de cultivo celular en los pocillos. Las placas se agitaron durante aproximadamente dos minutos y se incubaron a temperatura ambiente durante aproximadamente 30 minutos, y la señal quimioluminiscente se leyó en el lector Analyst GT (Molecular Devices). Los resultados se expresaron como un porcentaje de t = 0 y se representaron frente a la concentración de compuesto. La inhibición del crecimiento celular se determinó para cada compuesto por ajuste de la respuesta a la dosis con un ajuste de curvas de 4 ó 6 parámetros usando el software XLfit y determinando la concentración que inhibía 50% del crecimiento celular (gCI₅₀) con Y min como t = 0 e Y max como control de DMSO. El valor de los pocillos sin células se restó de todas las muestras para la corrección con respecto al efecto de fondo.

Referencias adicionales:

Los compuestos de la presente invención también pueden ensayarse para determinar su actividad inhibidora en PI3K α , PI3K δ , PI3K β y PI3K γ de acuerdo con las siguientes referencias:

Para todas las isoformas de PI3K:

Cloning, expression, purification, and characterization of the human Class Ia fosfoinositide 3-kinase isoforms: Meier, T.L.; Cook, J.A.; Thomas, J.E.; Radding, J.A.; Horn, C; Lingaraj, T.; Smith, M.C. Protein Expr. Purif., **2004**, 35(2), 218, Competitive fluorescence polarization assays for the detection of fosfoinositide kinase and fosfatase activity: Drees, B.E.; Weipert, A.; Hudson, H.; Ferguson, C.G.; Chakravarty, L; Prestwich, G.D. Comb. Chem. High Throughput.Screen., **2003**, 6(4), 321.

Para PI3K γ : Documento WO 2005/011686 A1

Los compuestos farmacéuticamente activos dentro del alcance de esta invención son útiles como inhibidores de la PI3 quinasa en mamíferos, particularmente en seres humanos, que lo necesitan.

La presente invención, por lo tanto, proporciona un método para tratar enfermedades asociadas con la inhibición de la PI3 quinasa, particularmente: trastornos autoinmunes, enfermedades inflamatorias, enfermedades

cardiovasculares, enfermedades neurodegenerativas, alergia, asma, pancreatitis, fallo multiorgánico, enfermedades renales, agregación plaquetaria, cáncer, motilidad de los espermatozoides, rechazo de trasplantes, rechazo de injertos y lesiones pulmonares y otras afecciones que requieren modulación/inhibición de la

5 PI3 quinasa, que comprende administrar un compuesto eficaz de Fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable, hidrato, solvato o profármaco del mismo. Los compuestos de Fórmula (I) también proporcionan un método para tratar los estados de enfermedad indicados anteriormente debido a su capacidad de actuar como

10 inhibidores de PI3. El fármaco puede administrarse a un paciente que lo necesita por cualquier vía de administración convencional, incluyendo pero sin limitación la vía intravenosa, intramuscular, oral, subcutánea, intradérmica y parenteral.

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

15 sólidos o líquidos. Los vehículos sólidos incluyen almidón, lactosa, sulfato cálcico dihidrato, terra alba, sacarosa, talco, gelatina, agar, pectina, goma arábiga, estearato de magnesio y ácido esteárico. Los vehículos líquidos incluyen jarabe, aceite de cacahuete, aceite de oliva, solución salina y agua. De forma similar, el vehículo o diluyente puede incluir cualquier material de liberación prolongada, tal

20 como monoestearato de glicerilo o diestearato de glicerilo, solo o junto con una cera. La cantidad de vehículo sólido varía ampliamente, pero preferiblemente será de aproximadamente 25 mg a aproximadamente 1 g por unidad de dosificación. Cuando se usa un vehículo líquido, la preparación estará en forma de un jarabe, elixir, emulsión, cápsula de gelatina blanda, líquido inyectable estéril tal como una

25 ampolla o una suspensión líquida acuosa o no acuosa.

Las preparaciones farmacéuticas se preparan siguiendo técnicas convencionales de un químico farmacéutico que implican mezcla, granulación y compresión, cuando es necesario, para las formulaciones de comprimidos, o mezcla, relleno y disolución de los ingredientes, cuando es apropiado, para

30 proporcionar los productos orales o parenterales deseados.

Las dosis de los compuestos farmacéuticamente activos de la presente invención en una unidad de dosificación farmacéutica como se ha descrito anteriormente estarán en una cantidad eficaz no tóxica, preferiblemente seleccionada del intervalo de 0,001-100 mg/kg de compuesto activo,

35 preferiblemente 0,001-50 mg/kg. Cuando se trata un paciente humano que necesita

104

un inhibidor de PI3K, la dosis seleccionada se administra preferiblemente de 1-6 veces al día, por vía oral o parenteral. Las formas preferidas de administración parenteral incluyen la vía tópica, rectal, transdérmica, por inyección y por infusión continua. Las unidades de dosificación orales para administración humana

5 preferiblemente contienen de 0,05 a 3500 mg de compuesto activo. Se prefiere la administración oral, que usa dosificaciones inferiores. Sin embargo, también puede usarse la administración parenteral, a dosis elevadas, cuando es seguro y conveniente para el paciente.

Las dosificaciones óptimas a administrar pueden determinarse fácilmente

10 por los especialistas en la técnica y variarán con el inhibidor de PI3 quinasa particular que se esté usando, la concentración de la preparación, el modo de administración y el avance del estado de enfermedad. Otros factores que dependen del paciente particular que se está tratando harán necesario ajustar las dosificaciones, incluyendo la edad del paciente, el peso, la dieta y el momento de

15 administración.

El método de esta invención para inducir la actividad inhibidora de PI3 quinasa en mamíferos, incluyendo seres humanos, comprende administrar a un sujeto que necesita dicha actividad una cantidad eficaz para modular/inhibir la PI3 quinasa de un compuesto farmacéuticamente activo de la presente invención.

20 La invención también proporciona el uso de un compuesto de Fórmula (I) en la fabricación de un medicamento para uso como un inhibidor de la PI3 quinasa.

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

La invención también proporciona el uso de un compuesto de Fórmula (I) en

25 la fabricación de un medicamento para uso en el tratamiento de trastornos autoinmunes, enfermedades inflamatorias, enfermedades cardiovasculares, enfermedades neurodegenerativas, alergia, asma, pancreatitis, insuficiencia multiorgánica, enfermedades renales, agregación plaquetaria, cáncer, motilidad de los espermatozoides, rechazo de trasplantes, rechazo de injertos y lesiones

30 pulmonares.

La invención también proporciona una composición farmacéutica para uso como un inhibidor de PI3 que comprende un compuesto de Fórmula (I) y un vehículo farmacéuticamente aceptable.

La invención también proporciona una composición farmacéutica para uso

35 en el tratamiento de trastornos autoinmunes, enfermedades inflamatorias,

105

enfermedades cardiovasculares, enfermedades neurodegenerativas, alergia, asma, pancreatitis, fallo multiorgánico, enfermedades renales, agregación plaquetaria, cáncer, motilidad de los espermatozoides, rechazo de trasplantes, rechazo de injertos y lesiones pulmonares, que comprende un compuesto de Fórmula (I) y un

5 vehículo farmacéuticamente aceptable.

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

Además, los compuestos farmacéuticamente activos de la presente invención puede coadministrarse con otros ingredientes activos, incluyendo

10 compuestos que se sabe que tienen utilidad cuando se usan en combinación con un inhibidor de PI3 quinasa.

Sin elaboración adicional, se cree que un especialista en la técnica puede, usando la descripción anterior, utilizar la presente invención en su mayor medida. Por lo tanto, los siguientes ejemplos deben considerarse simplemente ilustrativos y

15 de ninguna manera limitantes del alcance de la presente invención.

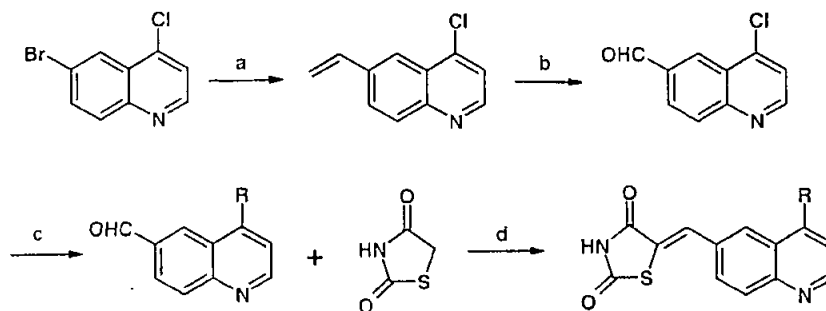
Detalles Experimentales

Preparación

Los derivados descritos en este documento se preparan mediante los métodos generales que se describen a continuación:

20 Esquemas/Experimentales

Esquema I:



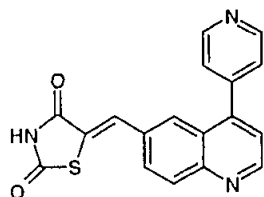
Condiciones: a) Tributil(vinil)estaño, $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$, dioxano, reflujo; b) OsO_4 , NaIO_4 , 2,6-lutidina, *t*-BuOH, dioxano, H_2O , ta; c) ácido heteroaril-(R)-borónico, $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$, K_2CO_3 2 M, DMF, 100°C ; d) 2,4-tiazolidinadiona, piperidina, AcOH, EtOH, μ ondas, 150°C

25

Ejemplos:

Ejemplo 1: (5Z)-5-([4-(4-piridinil)-6-quinolinil]metilideno)-1,3-tiazolidina-2,4-diona

106



a) 4-cloro-6-etenilquinolina

Una mezcla de 6-bromo-4-cloroquinolina (6,52 g, 26,88 mmol; véase *J. Med. Chem.*, 21, 268 (1978)), tributil(vinil)estaño (8,95 g, 28,22 mmol) y tetraquistrifenilfosfina paladio (0) (0,62 g, 0,54 mmol) en 1,4-dioxano (150 ml) se calentó a reflujo durante 2,0 h, se enfrió a temperatura ambiente y se concentró al vacío. El residuo se purificó por cromatografía ultrarrápida sobre gel de sílice (MeOH al 0-4%:CH₂Cl₂) para dar el compuesto del título (5,1 g) en forma de un sólido amarillo pálido. MS (ES)+ m/e 190 [M+H]⁺. Este material se usó directamente en la siguiente etapa.

b) 4-cloro-6-quinolinacetaldehído

Una mezcla de 4-cloro-6-etenilquinolina (5,1 g, 26,88 mmol), 2,6-lutidina (5,76 g, 53,75 mmol), (meta)peryodato sódico (22,99 g, 107,51 mmol) y tetróxido de osmio (5,48 g de una solución al 2,5% en terc-butanol, 0,538 mmol) en 1,4-dioxano:H₂O (350 ml de una mezcla 3:1) se agitó durante 3,5 h a temperatura ambiente y se concentró al vacío. El residuo se purificó por cromatografía ultrarrápida sobre gel de sílice (CH₂Cl₂) para dar el compuesto del título (4,26 g, 83% en 2 etapas) en forma de un sólido amarillo pálido. MS (ES)+ m/e 192 [M+H]⁺.

c) 4-(4-piridinil)-6-quinolinacetaldehído

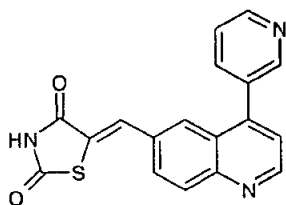
Una mezcla de 4-cloro-6-quinolinacetaldehído (3,24 g, 16,92 mmol), ácido 4-piridilborónico (3,12 g, 25,38 mmol), tetraquistrifenilfosfina paladio (0) (0,978 g, 0,846 mmol) y K₂CO₃ acuoso 2 M (7,02 g, 50,76 mmol, 25,4 ml de una solución 2 M) en DMF (100 ml) se calentó a 100°C durante 3,0 h y se enfrió a temperatura ambiente. La mezcla se filtró a través de celite y el celite se lavó con EtOAc. El filtrado se transfirió a un embudo de decantación, se lavó con agua y NaCl saturado, se secó (Na₂SO₄), se filtró y se concentró al vacío. El residuo se purificó por cromatografía ultrarrápida sobre gel de sílice (MeOH al 5%:CH₂Cl₂) para dar el compuesto del título (2,03 g, 51%) en forma de un sólido castaño. MS (ES)+ m/e 235 [M+H]⁺.

d) (5Z)-5-[[4-(4-piridinil)-6-quinolinil]metilideno]-1,3-tiazolidina-2,4-diona

Una mezcla de 4-(4-piridinil)-6-quinolinacetaldehído (0,108 g, 0,463 mmol),

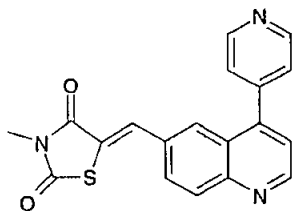
2,4-tiazolidinadiona (0,0417 g, 0,356 mmol), piperidina (0,0303 g, 0,356 mmol) y ácido acético (0,0214 g, 0,356 mmol) en EtOH (5 ml) se calentó a 150°C durante 30 minutos en un horno microondas. La reacción se enfrió a temperatura ambiente y el precipitado resultante se filtró y se secó en un embudo Buchner para dar el compuesto del título (0,0594 g, 50%) en forma de un sólido castaño. MS (ES)+ m/e 334 [M+H]⁺. ¹H RMN (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ ppm 9,08 (d, J = 4,42 Hz, 1 H) 8,80 - 8,88 (m, 2 H) 8,25 (d, J = 8,72 Hz, 1 H) 8,00 - 8,07 (m, 2 H) 7,98 (s, 1 H) 7,65 - 7,68 (m, 2 H) 7,63 (d, J = 4,42 Hz, 1 H).

10 **Ejemplo 2: (5Z)-5-{[4-(3-piridinil)-6-quinolinil]metilideno}-1,3-tiazolidina-2,4-diona**



Si siguiendo el procedimiento usado para preparar el Ejemplo 1, se preparó el compuesto del título sustituyendo ácido 4-piridinilborónico por ácido 3-piridinilborónico. MS (ES)+ m/e 334 [M+H]⁺.

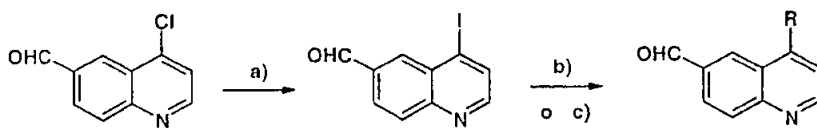
15 **Ejemplo 3: (5Z)-3-metil-5-{[4-(4-piridinil)-6-quinolinil]metilideno}-1,3-tiazolidina-2,4-diona**



Si siguiendo el procedimiento usado para preparar el Ejemplo 1, se preparó el compuesto del título sustituyendo 3-metil-1,3-tiazolidina-2,4-diona en lugar de 1,3-tiazolidina-2,4-diona, para dar un sólido amarillo claro. MS (ES)+ m/e 348 [M+H]⁺. Como alternativa, algunos ejemplos se prepararon por acoplamiento de Suzuki (o Stille) mediado por paladio de un ácido heteroarilborónico (o heteroarilestannano) con 4-yodo-6-quinolinacetaldehído (Esquema II). El intermedio de yoduro se preparó por tratamiento del cloruro correspondiente con HCl 4 N, seguido de yoduro sódico. Los heteroaril aldehídos se convirtieron en los compuestos del título siguiendo el mismo procedimiento usado para preparar el Ejemplo 1.

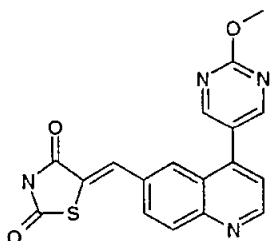
Esquema II:

108



Condiciones: a) HCl 4 N en dioxano, ta, 5 min; después NaI, 105°C, 18 h; b) ácido heteroaril-(R)-borónico, Pd(PPh₃)₄, K₂CO₃ 2. M, dioxano, 100°C o c) tributil(heteroaril)estaño, Pd(PPh₃)₄, dioxano, reflujo.

5 **Ejemplo 4: (5Z)-5-([4-[2-(metiloxi)-5-pirimidinil]-6-quinolinil]metilideno)-1,3-tiazolidina-2,4-diona**



a) 4-yodo-6-quinolinacetaldehído

En un tubo de reacción grande, a una solución de 4-cloro-6-quinolinacetaldehído (4,26 g, 22,2 mmol) en propionitrilo (125 ml) se le añadió HCl 4 N en dioxano (2 equiv. de HCl, 11,1 ml, 44,4 mmol). La solución se agitó durante 15 minutos y se cargó con 3 equiv. de yoduro sódico (10 g, 66 mmol). El tubo de reacción se cerró herméticamente y se calentó a 105°C durante una noche. La reacción se controló por LCMS. La reacción se dejó enfriar a temperatura ambiente y el producto se retiró por filtración y se lavó con acetonitrilo. Después, el sólido bruto se puso en un vaso de precipitados y se añadió bicarbonato sódico saturado con agitación hasta que se alcanzó un valor de pH de 9,5. Después, el sólido se extrajo en cloruro de metileno. Después, la capa de cloruro de metileno se lavó con agua, se secó sobre sulfato sódico y se concentró al vacío para dar el compuesto del título con un rendimiento de 85%.

b) 4-[6-(metiloxi)-3-piridinil]-6-quinolinacetaldehído

Una mezcla de ácido 6-(metiloxi)-3-piridinil]borónico (225 mg, 1,5 mmol), 4-yodo-6-quinolinacetaldehído (283 mg, 1 mmol), tetraquistrifenilfosfina paladio (0) (57 mg, 0,05 mmol), K₂CO₃ acuoso 2 M (2,5 ml de una solución 2 M) y dioxano (5 ml) se calentó a 100°C durante 8 h y se enfrió a temperatura ambiente. El dioxano se retiró a presión reducida, el residuo se disolvió en una mezcla 2:1 de cloruro de metileno/agua y la solución se filtró. La capa orgánica se separó y se secó con sulfato sódico y el producto bruto se obtuvo por decantación de la solución y

10d

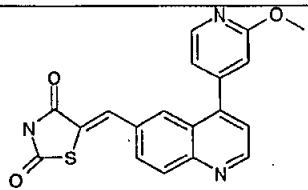
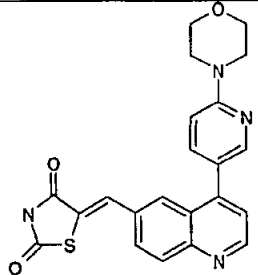
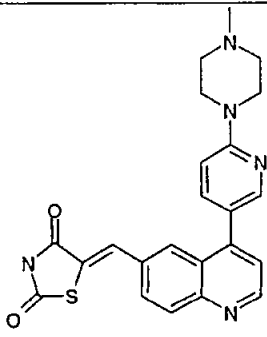
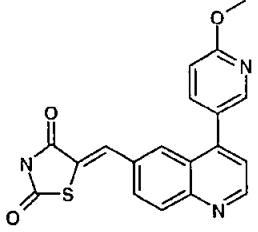
evaporación del cloruro de metileno. El producto bruto se purificó por cromatografía sobre gel de sílice eluyendo con cloruro de metileno/metanol (gradiente de metanol al 0-1%) para dar el compuesto del título (250 mg, 95%). MS (ES)+ m/e 265 [M+H]⁺.

Después, se preparó (5Z)-5-((4-[2-(metiloxi)-5-pirimidinil]-6-quinolinil)metilideno)-1,3-tiazolidina-2,4-diona siguiendo el procedimiento del Ejemplo 1d. MS (ES)+ m/e 365 [M+H]⁺.

Los compuestos 5, 6, 7 y 8 se preparan siguiendo el procedimiento usado para preparar

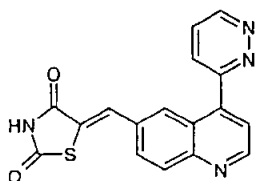
Ejemplo 4:

10

Ejemplo	Estructura	MS (ES) [M+H] ⁺
5		364
6		419
7		432
8		364

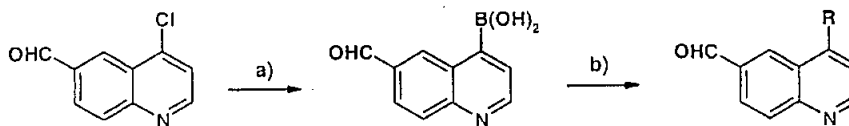
110

Ejemplo 9: (5Z)-5-{{[4-(3-piridazinil)-6-quinolinil]metilideno}-1,3-tiazolidina-2,4-diona}



- 5 a) 4-(3-piridazinil)-6-quinolinacetaldehído
- Una mezcla de 4-yodo-6-quinolinacetaldehído (142 mg, 0,5 mmol), 3-(tributylestannil)piridizina (220 mg, 0,6 mmol) y aducto de dicloro-[1,1'-bis(difenilfosfino)ferroceno]paladio (II) y diclorometano (12,2 mg, 0,015 mmol) en dioxano (3 ml) se calentó a 100°C durante 5 h y se enfrió a temperatura ambiente.
- 10 A la reacción se le añadieron trescientos miligramos de gel de sílice y el dioxano se evaporó. El envase seco se cargó por la parte superior de una columna de 10 gramos de sílice cargada en cloruro de metileno y se eluyó con (MeOH al 0-3%:CH₂Cl₂) para dar el compuesto del título (170 mg, 72%) en forma de un sólido. MS (ES)+ m/e 236 [M+H]⁺. Después, se preparó (5Z)-5-{{[4-(3-piridazinil)-6-
- 15 quinolinil]metilideno}-1,3-tiazolidina-2,4-diona siguiendo el procedimiento del Ejemplo 1d. MS (ES)+ m/e 335 [M+H]⁺. Se prepararon ejemplos adicionales mediante un acoplamiento de Suzuki mediado con paladio de un bromuro de heteroarilo con 4-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)-6-quinolinacetaldehído (Esquema III). El intermedio de boronato se preparó mediante una reacción
- 20 mediada con paladio (0) del cloruro correspondiente. Los heteroaril aldehídos se convirtieron en los compuestos del título siguiendo el mismo procedimiento usado para preparar el Ejemplo 1.

Esquema III:

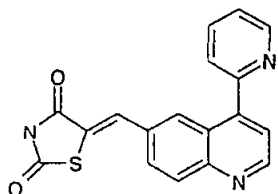


- 25 Condiciones: a) 4,4,4',4',5,5,5',5'-octametil-2,2'-bi-1,3,2-dioxaborolano, acetato potásico, aducto de dicloro-[1,1'-bis(difenilfosfino)ferroceno]paladio (II) y diclorometano, dioxano, 100°C, 18 h; b) (R)-bromuro de heteroarilo (1,3 equiv.), tetraquistrifenilfosfina paladio (0), K₂CO₃ acuoso 2 M, dioxano, 100°C, 8 h.

Ejemplo 10: (5Z)-5-{{[4-(2-piridinil)-6-quinolinil]metilideno}-1,3-tiazolidina-2,4-

11

diona



a) 4-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)-6-quinolinacarbaldéhid

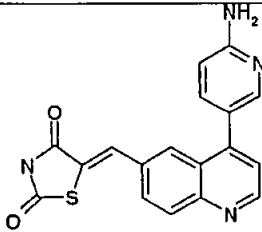
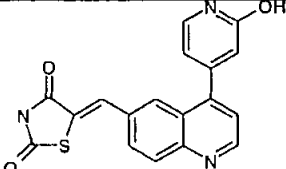
Una mezcla de 4-cloro-6-quinolinacarbaldéhid (2,5 g, 13 mmol),
5 4,4,4',4',5,5,5',5'-octametil-2,2'-bi-1,3,2-dioxaborolano (7 g, 27 mmol), acetato
potásico (5 g, 39 mmol) y aducto de dicloro-[1,1'-bis(difenilfosfino)ferroceno]paladio
(II) y diclorometano (530 mg, 0,0,65 mmol) en dioxano (30 ml) se calentó a 100°C
durante 18 h y se enfrió a temperatura ambiente. El dioxano se retiró a presión
reducida, el residuo se disolvió en una mezcla 2:1 de acetato de etilo/agua y la
10 solución se filtró. La capa orgánica se separó y se secó con sulfato sódico y el
producto bruto se obtuvo por decantación de la solución y evaporación del acetato
de etilo. El producto bruto se purificó por cromatografía sobre gel de sílice eluyendo
con cloruro de metileno/metanol (gradiente de metanol al 0-2%) para dar el
compuesto del título (2,9 g, 78%).

15 b) 4-(2-piridinil)-6-quinolinacarbaldéhid

Una mezcla de 4-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)-6-
quinolinacarbaldéhid (180 mg, 0,64 mmol), 2-bromopiridina (158 mg, 1,0 mmol),
tetraquistrifenilfosfina paladio (0) (38 mg, 0,0335 mmol), K₂CO₃ acuoso 2 M (1 ml de
una solución 2 M) y dioxano (4 ml)) se calentó a 100°C durante 8 h y se enfrió a
20 temperatura ambiente. El dioxano se retiró a presión reducida, el residuo se disolvió
en una mezcla 2:1 de cloruro de metileno/agua y la solución se filtró. La capa
orgánica se separó y se secó con sulfato sódico y el producto bruto se obtuvo por
decantación de la solución y evaporación del cloruro de metileno. El producto bruto
se purificó por cromatografía sobre gel de sílice eluyendo con cloruro de
25 metileno/metanol (gradiente de metanol al 0-2%) para dar el compuesto del título
(80 mg, 65%). MS (ES)+ m/e 235 [M+H]⁺.

Después, se preparó (5Z)-5-([4-(2-piridinil)-6-quinolinil]metilideno)-1,3-
tiazolidina-2,4-diona siguiendo el procedimiento de Ejemplo 1d. MS (ES)+ m/e 334
[M+H]⁺. Los compuestos 11 y 12 se preparan siguiendo el procedimiento usado
30 para preparar el Ejemplo 10.

AR

Ejemplo	Estructura	MS (ES) [M+H] ⁺
11		349
12		350

Los compuestos de los siguientes ejemplos pueden prepararse fácilmente de acuerdo con el Esquema I o por métodos análogos.

Composición de Cápsulas Ejemplar

- 5 Una forma de dosificación oral para administrar la presente invención se produce rellenando una cápsula de gelatina dura convencional de dos piezas con los ingredientes en las proporciones que se muestran a continuación en la Tabla I.

Tabla I

<u>INGREDIENTES</u>	<u>CANTIDADES</u>
(5Z)-5-([4-(4-piridinil)-6-quinolinil]metilideno)-1,3-tiazolidina-2,4-diona	25 mg
Lactosa	55 mg
Talco	16 mg
Estearato de Magnesio	4 mg

10 Composición Parenteral Inyectable Ejemplar

Una forma para administrar la presente invención se produce por agitación de 1,5% en peso de (5Z)-5-([4-(4-piridinil)-6-quinolinil]metilideno)-1,3-tiazolidina-2,4-diona en 10% en volumen de propilenglicol en agua.

Composición de Comprimidos Ejemplar

- 15 Se mezclan y se granulan sacarosa, sulfato de calcio dihidrato y un inhibidor de PI3K como se muestra en la siguiente Tabla II, 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

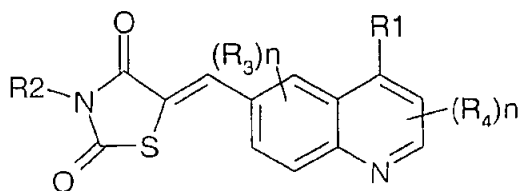
<u>INGREDIENTES</u>	<u>CANTIDADES</u>
(5Z)-5-{[4-(4-piridinil)-6-quinolinil]metilideno}-1,3-tiazolidina-2,4-diona	20 mg
sulfato de calcio dihidrato	30 mg
Sacarosa	4 mg
Almidón	2 mg
Talco	1 mg
ácido esteárico	0,5 mg

5 Aunque las realizaciones preferidas de la invención se ilustran mediante lo anterior, debe entenderse que la invención no se limita a las instrucciones precisas descritas en este documento y que se reserva el derecho a que todas las modificaciones entren dentro del alcance de las siguientes reivindicaciones.

[Handwritten signature]

REIVINDICACIONES

1. Un compuesto de Fórmula (I):



(I)

- 5 en la que

R1 es heteroarilo o heteroarilo sustituido;

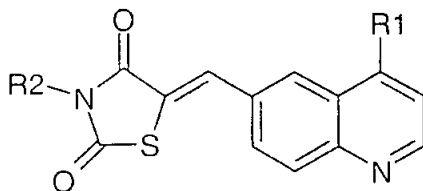
R2 se selecciona entre el grupo que consiste en: hidrógeno, alquilo C1-C6, alquilo sustituido, arilo, arilo sustituido, arilalquilo, arilalquilo sustituido;

- 10 cada uno de R3 y R4 se selecciona independientemente entre el grupo que consiste en: hidrógeno, halógeno, acilo, amino, amino sustituido, alquilo C1-6, alquilo C1-6 sustituido, cicloalquilo C3-7, cicloalquilo C3-7 sustituido, heterocicloalquilo C3-7, heterocicloalquilo C3-7 sustituido, alquilcarboxi, arilo, arilo sustituido, heteroarilo, heteroarilo sustituido, arilalquilo, arilalquilo sustituido, arilcicloalquilo, trifluorometilo sustituido, arilcicloalquilo, heteroarilalquilo, heteroarilalquilo sustituido, ciano, hidroxilo, alcoxi, nitro, aciloxi, acilamino y ariloxi;

15 n es 0-2;

y/o una sal farmacéuticamente aceptable, hidrato, solvato o profármaco del mismo.

- 20 2. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 1 seleccionado entre un compuesto de fórmula (II)



(II)

en la que

R1 es heteroarilo o heteroarilo sustituido;

- 25 R2 se selecciona entre el grupo que consiste en: hidrógeno, alquilo C1-C6,

MS

alquilo sustituido, arilo, arilo sustituido, arilalquilo y arilalquilo sustituido;

y/o una sal farmacéuticamente aceptable, hidrato, solvato o profármaco del mismo.

5 3. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 1 ó 2, en el que R2 es hidrógeno, y/o una sal farmacéuticamente aceptable, hidrato, solvato o profármaco del mismo.

4. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 1 ó 2, en el que R1 es un
10 heteroarilo monocíclico opcionalmente sustituido; y/o una sal farmacéuticamente aceptable, hidrato, solvato o profármaco del mismo.

5. Un compuesto de la reivindicación 1 seleccionado entre el grupo que consiste en:

15 (5Z)-5-{{4-(4-piridinil)-6-quinolinil}metilideno}-1,3-tiazolidina-2,4-diona;

(5Z)-3-metil-5-{{4-(4-piridinil)-6-quinolinil}metilideno}-1,3-tiazolidina-2,4-diona;

(5Z)-5-{{4-(3-piridinil)-6-quinolinil}metilideno}-1,3-tiazolidina-2,4-diona;

(5Z)-5-{{4-(2-piridinil)-6-quinolinil}metilideno}-1,3-tiazolidina-2,4-diona;

20 (5Z)-5-({4-[2-(metiloxi)-5-pirimidinil]-6-quinolinil}metilideno)-1,3-tiazolidina-2,4-diona;

(5Z)-5-({4-[2-(metiloxi)-4-piridinil]-6-quinolinil}metilideno)-1,3-tiazolidina-2,4-diona;

25 (5Z)-5-{{4-(6-amino-3-piridinil)-6-quinolinil}metilideno}-1,3-tiazolidina-2,4-diona;

(5Z)-5-{{4-(2-oxo-1,2-dihidro-4-piridinil)-6-quinolinil}metilideno}-1,3-tiazolidina-2,4-diona;

(5Z)-5-({4-[6-(4-morfolinil)-3-piridinil]-6-quinolinil}metilideno)-1,3-tiazolidina-2,4-diona;

30 (5Z)-5-({4-[6-(4-metil-1-piperazinil)-3-piridinil]-6-quinolinil}metilideno)-1,3-tiazolidina-2,4-diona;

(5Z)-5-{{4-(3-piridazinil)-6-quinolinil}metilideno}-1,3-tiazolidina-2,4-diona; y

(5Z)-5-({4-[2-(metiloxi)-5-pirimidinil]-6-quinolinil}metilideno)-1,3-tiazolidina-2,4-diona;

35 y/o una sal farmacéuticamente aceptable, hidrato, solvato o profármaco del

116

mismo.

6. Un compuesto de fórmula (I) seleccionado entre el grupo que consiste en:
(5Z)-5-{{4-(4-piridinil)-6-quinolinil]metilideno}-1,3-tiazolidina-2,4-diona, y/o una sal
- 5 farmacéuticamente aceptable, hidrato, solvato o profármaco del mismo.
7. Una composición farmacéutica que comprende un compuesto de acuerdo con la reivindicación 1 ó 2 y un vehículo farmacéuticamente aceptable.
- 10 8. Un método para inhibir una o más fosfatoinosítido 3-quinasas (PI3K) en un mamífero; que comprende administrar al mamífero una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de Fórmula (I) y/o una sal farmacéuticamente aceptable, hidrato solvato o profármaco del mismo, como se ha definido en la reivindicación 1.
- 15 9. Un método para tratar uno o más estados de enfermedad seleccionados entre el grupo que consiste en: trastornos autoinmunes, enfermedades inflamatorias, enfermedades cardiovasculares, enfermedades neurodegenerativas, alergia, asma, pancreatitis, fallo multiorgánico, enfermedades renales, agregación plaquetaria, cáncer, motilidad de los espermatozoides, rechazo de trasplantes,
- 20 rechazo de injertos y lesiones pulmonares, en un mamífero, comprendiendo dicho método administrar a dicho mamífero una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de acuerdo con la reivindicación 2.
- 25 10. Un método para tratar un cáncer que comprende la coadministración de un compuesto de acuerdo con la reivindicación 1; y/o una sal farmacéuticamente aceptable, hidrato, solvato o profármaco del mismo; y al menos un agente antineoplásico, tal como uno seleccionado entre el grupo que consiste en agentes antimicrotúbulos, complejos de coordinación de platino, agentes alquilantes, agentes antibióticos, inhibidores de la topoisomerasa II, antimetabolitos, inhibidores
- 30 de la topoisomerasa I, hormonas y análogos hormonales, inhibidores de la ruta de transducción de señales, inhibidores de la angiogénesis que son inhibidores de tirosina quinasas no asociadas a receptores, agentes inmunoterapéuticos, agentes proapoptóticos e inhibidores de la señalización del ciclo celular.
- 35 11. Un método de la reivindicación 9, donde el estado de enfermedad se

selecciona entre el grupo que consiste en: esclerosis múltiple, psoriasis, artritis reumatoide, lupus eritematoso sistémico, enfermedad inflamatoria del intestino, inflamación pulmonar, trombosis, infección/inflamación cerebral, meningitis y encefalitis.

5

12. Un método de la reivindicación 9, donde el estado de enfermedad se selecciona entre el grupo que consiste en: enfermedad de Alzheimer, enfermedad de Huntington, traumatismo del SNC, apoplejía y afecciones isquémicas.

10 13. Un método de la reivindicación 9, donde el estado de enfermedad se selecciona entre el grupo que consiste en: aterosclerosis, hipertofia cardiaca, disfunción de miocitos cardiacos, elevación de la presión sanguínea y vasoconstricción.

15 14. Un método de la reivindicación 9, donde el estado de enfermedad se selecciona entre el grupo que consiste en: enfermedad pulmonar obstructiva crónica, fibrosis por choque anafiláctico, psoriasis, enfermedades alérgicas, asma, apoplejía, isquemia-reperfusión, agregación/activación plaquetaria, atrofia/hipertrofia del músculo esquelético, reclutamiento leucocitario en tejido
20 canceroso, angiogénesis, metástasis invasiva, melanoma, sarcoma de Kaposi, infecciones bacterianas y virales agudas y crónicas, sepsis, rechazo de trasplantes, rechazo de injertos, glomeruloesclerosis, glomerulonefritis, fibrosis renal progresiva, lesiones endoteliales y epiteliales en el pulmón e inflamación de las vías respiratorias pulmonares.

25

15. Un método de la reivindicación 9, donde la enfermedad es cáncer.

16. Un método de la reivindicación 15 donde el cáncer se selecciona entre el grupo que consiste en: cáncer cerebral (gliomas), glioblastomas, leucemias,
30 síndrome de Bannayan-Zonana, enfermedad de Cowden, enfermedad de Lhermitte-Duclos, cáncer de mama, cáncer inflamatorio de mama, tumor de Wilm, sarcoma de Ewing, rhabdomyosarcoma, ependimoma, meduloblastoma, cáncer de colon, de cabeza y cuello, cáncer de riñón, pulmonar, hepático, melanoma, cáncer de ovario, pancreático, de próstata, sarcoma, osteosarcoma, tumor de células gigantes de los
35 huesos y cáncer de tiroides.

MB

17. Un método de la reivindicación 15, donde la enfermedad se selecciona entre el grupo que consiste en: cáncer de ovario, cáncer pancreático, cáncer de mama, cáncer de próstata y leucemia.

5

18. Un método de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 9 a 17, donde el mamífero es un ser humano.

19. Un método de la reivindicación 8, donde dicha PI3 quinasa es una PI3 α .

10

20. Un método de la reivindicación 8, donde dicha PI3 quinasa es una PI3 γ .

21. Un método de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 8 a 17, donde dicho compuesto se selecciona entre:

15

(5Z)-5-([4-(4-piridinil)-6-quinolinil]metilideno)-1,3-tiazolidina-2,4-diona;

(5Z)-3-metil-5-([4-(4-piridinil)-6-quinolinil]metilideno)-1,3-tiazolidina-2,4-diona;

(5Z)-5-([4-(3-piridinil)-6-quinolinil]metilideno)-1,3-tiazolidina-2,4-diona;

(5Z)-5-([4-(2-piridinil)-6-quinolinil]metilideno)-1,3-tiazolidina-2,4-diona;

20

(5Z)-5-([4-[2-(metiloxi)-5-pirimidinil]-6-quinolinil]metilideno)-1,3-tiazolidina-2,4-diona;

(5Z)-5-([4-[2-(metiloxi)-4-piridinil]-6-quinolinil]metilideno)-1,3-tiazolidina-2,4-diona;

(5Z)-5-([4-(6-amino-3-piridinil)-6-quinolinil]metilideno)-1,3-tiazolidina-2,4-

25

diona;

(5Z)-5-([4-(2-oxo-1,2-dihidro-4-piridinil)-6-quinolinil]metilideno)-1,3-tiazolidina-2,4-diona;

(5Z)-5-([4-[6-(4-morfolinil)-3-piridinil]-6-quinolinil]metilideno)-1,3-tiazolidina-2,4-diona;

30

(5Z)-5-([4-[6-(4-metil-1-piperazinil)-3-piridinil]-6-quinolinil]metilideno)-1,3-tiazolidina-2,4-diona;

(5Z)-5-([4-(3-piridazinil)-6-quinolinil]metilideno)-1,3-tiazolidina-2,4-diona; y

(5Z)-5-([4-[2-(metiloxi)-5-pirimidinil]-6-quinolinil]metilideno)-1,3-tiazolidina-2,4-diona;

35

y/o una sal farmacéuticamente aceptable, solvato, hidrato o profármaco de

los mismos.

22. Un método de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 8 a 17,
donde dicho compuesto se selecciona entre el grupo que consiste en: (5Z)-5-
5 piridinil)-6-quinolinil]metilideno}-1,3-tiazolidina-2,4-diona, y/o una sal
farmacéuticamente aceptable, solvato, hidrato o profármaco del mismo.

23. Un método de la reivindicación 8, donde el compuesto de acuerdo con la
reivindicación 1, y/o una sal farmacéuticamente aceptable, hidrato, solvato o
10 profármaco del mismo, se administra en una composición farmacéutica.



RESUMEN DE LA DESCRIPCIÓN

Se ha inventado un método para inhibir la actividad/función de las PI3
quinasas usando derivados de tiazolidinadiona. También se ha inventado un
5 método para tratar uno o más estados de enfermedad seleccionados entre:
trastornos autoinmunes, enfermedades inflamatorias, enfermedades
cardiovasculares, enfermedades neurodegenerativas, alergia, asma, pancreatitis,
fallo multiorgánico, enfermedades renales, agregación plaquetaria, cáncer,
motilidad de los espermatozoides, rechazo de trasplantes, rechazo de injertos y
10 lesiones pulmonares mediante la administración de derivados de tiazolidinadiona.

PATENT COOPERATION TREATY

From the INTERNATIONAL SEARCHING AUTHORITY

To:
 TONY W. PENG
 GLAXOSMITHKLINE
 CORPORATE INTELLECTUAL PROPERTY, UW2220
 709 SWEDELAND ROAD, P.O. BOX 1539
 KING OF PRUSSIA, PA 19406-0939

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)

Applicant's or agent's file reference PU61939	Date of mailing (day/month/year) 23 JUL 2008
International application No. PCT/US07/66359	FOR FURTHER ACTION See paragraphs 1 and 4 below
Applicant SMITHKLINE BEECHAM CORPORATION	International filing date (day/month/year) 11 April 2007 (11.04.2007)

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 officer:

D. Margaret Seaman

Telephone No. 571-272-1600

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)

Applicant's or agent's file reference PU61939	FOR FURTHER ACTION see Form PCT/ISA/220 as well as, where applicable, item 5 below.	
International application No. PCT/US07/66359	International filing date (day/month/year) 11 April 2007 (11.04.2007)	(Earliest) Priority Date (day/month/year) 11 April 2006 (11.04.2006)
Applicant SMITHKLINE BEECHAM CORPORATION		

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 2 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/US07/66359

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

IPC: A61K 31/44(2006.01);C07D 215/04(2006.01)

USPC: 514/314;546/167

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. : 514/314; 546/167

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)

West; STN: Registry, Chemical Abstracts, Marpat

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	WO 2004/007491 (APPLIED RESEARCH SYSTEMS ARS HOLDING M.V.), 23 January 2004 (23.01.2004), abstract.	1-23
A	WO 02/051409 (GERON CORPORATION) 04 July 2002 (04.07.2002), claim 1.	1-23



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
"L" 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

09 July 2008 (09.07.2008)

Date of mailing of the international search report

23 JUL 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

D. Margaret Seaman

Telephone No. 571-272-1600

PATENT COOPERATION TREATY

From the
INTERNATIONAL SEARCHING AUTHORITY

To:
TONY W. PENG
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).

Applicant's or agent's file reference PU61939		Date of mailing (day/month/year) 23 JUL 2008
International application No. PCT/US07/66359		FOR FURTHER ACTION See paragraph 2 below
International filing date (day/month/year) 11 April 2007 (11.04.2007)	Priority date (day/month/year) 11 April 2006 (11.04.2006)	
International Patent Classification (IPC) or both national classification and IPC IPC: A61K 31/44(2006.01);C07D 215/04(2006.01) USPC: 514/314;546/167		
Applicant SMITHKLINE BEECHAM CORPORATION		

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 09 July 2008 (09.07.2008)	Authorized officer D. Margaret Seaman Telephone No. 571-272-1600
--	---	--

Form PCT/ISA/237 (cover sheet) (April 2007)

WRITTEN OPINION OF THE
INTERNATIONAL SEARCHING AUTHORITY

International application No.

PCT/US07/66359

Box No. I 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 AUTHORITYInternational application No.
PCT/US07/66359**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>1-23</u>	YES
	Claims <u>NONE</u>	NO
Inventive step (IS)	Claims <u>1-23</u>	YES
	Claims <u>NONE</u>	NO
Industrial applicability (IA)	Claims <u>1-23</u>	YES
	Claims <u>NONE</u>	NO

2. Citations and explanations:

Claims 1-23 meet the criteria set out in PCT Article 33(2)-(3), because the prior art does not teach or fairly suggest the instant R1 (4-position) heterocycle on the quinoline ring system. WO 2004/007491 and WO 0251409 both teach the presence of a 4-position carbocyclic or aromatic ring.

Claims 1-23 meet the criteria set out in PCT Article 33(4), and thus have industrial applicability because the subject matter claimed can be made or used in industry.

PATENT COOPERATION TREATY

From the
INTERNATIONAL SEARCHING AUTHORITY

To:
TONY W. PENG
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)

Applicant's or agent's file reference PU61939		Date of mailing (day/month/year)
FOR FURTHER ACTION See paragraph 2 below		
International application No. PCT/US07/66359	International filing date (day/month/year) 11 April 2007 (11.04.2007)	Priority date (day/month/year) 11 April 2006 (11.04.2006)
International Patent Classification (IPC) or both national classification and IPC IPC: A61K 31/44(2006.01); C07D 215/04(2006.01) USPC: 514/314;546/167		
Applicant SMITHKLINE BEECHAM CORPORATION		

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 09 July 2008 (09.07.2008)	Authorized officer D. Margaret Seaman  Telephone No. 571-272-1600
--	---	--

WRITTEN OPINION OF THE
INTERNATIONAL SEARCHING AUTHORITY

International application No.

PCT/US07/66359

Box No. I 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 AUTHORITYInternational application No.
PCT/US07/66359

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>1-23</u>	YES
	Claims <u>NONE</u>	NO
Inventive step (IS)	Claims <u>1-23</u>	YES
	Claims <u>NONE</u>	NO
Industrial applicability (IA)	Claims <u>1-23</u>	YES
	Claims <u>NONE</u>	NO

2. Citations and explanations:

Claims 1-23 meet the criteria set out in PCT Article 33(2)-(3), because the prior art does not teach or fairly suggest the instant R1 (4-position) heterocycle on the quinoline ring system. WO 2004/007491 and WO 0251409 both teach the presence of a 4-position carbocyclic or aromatic ring.

Claims 1-23 meet the criteria set out in PCT Article 33(4), and thus have industrial applicability because the subject matter claimed can be made or used in industry.

PATENT COOPERATION TREATY

From the INTERNATIONAL SEARCHING AUTHORITY

To:
 TONY W. PENG
 GLAXOSMITHKLINE
 CORPORATE INTELLECTUAL PROPERTY, UW2220
 709 SWEDELAND ROAD, P.O. BOX 1539
 KING OF PRUSSIA, PA 19406-0939

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)

Applicant's or agent's file reference PU61939		Date of mailing (day/month/year)
International application No. PCT/US07/66359		FOR FURTHER ACTION See paragraphs 1 and 4 below
Applicant SMITHKLINE BEECHAM CORPORATION		International filing date (day/month/year) 11 April 2007 (11.04.2007)

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 officer D. Margaret Seaman Telephone No. 571-272-1600
--	--

B1

From the INTERNATIONAL BUREAU

PCTNOTIFICATION OF THE RECORDING
OF A CHANGE(PCT Rule 92bis.1 and
Administrative Instructions, Section 422)

To:

PENG, Tony, W.
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) 25 September 2007 (25.09.2007)	IMPORTANT NOTIFICATION
Applicant's or agent's file reference PU61939	
International application No. PCT/US2007/066359	International filing date (day/month/year) 11 April 2007 (11.04.2007)

1. The following indications appeared on record concerning:		
☐ the applicant	☐ the inventor	☐ the agent
☐ the common representative		
Name and Address	State of Nationality	State of Residence
	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 SCHMIDT, Stanley, J. 1250 South Collegeville Road Collegeville, PA 19426 United States of America	State of Nationality US	State of Residence US
	Telephone No.	
	Facsimile No.	
	Teleprinter No.	
3. Further observations, if necessary: The person identified in Box 2 [is now recorded as applicant for the United States of America only and inventor for all designated States.		
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 Birchen Mireille
Facsimile No. +41 22 338 87 40	e-mail pt01.pct@wipo.int Telephone No. +41 22 338 74 01

From the INTERNATIONAL BUREAU

PCT**NOTIFICATION OF THE RECORDING
OF A CHANGE**(PCT Rule 92bis.1 and
Administrative Instructions, Section 422)

To:

PENG, Tony, W.
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) 25 September 2007 (25.09.2007)	IMPORTANT NOTIFICATION
Applicant's or agent's file reference PU61939	
International application No. PCT/US2007/066359	International filing date (day/month/year) 11 April 2007 (11.04.2007)

1. The following indications appeared on record concerning:

☒ the applicant ☒ the inventor ☐ the agent ☐ the common representative

Name and Address	State of Nationality	State of Residence
	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 ADAMS, Nicholas, D. 1250 South Collegeville Road Collegeville, PA 19426 United States of America	State of Nationality US	State of Residence US
	Telephone No.	
	Facsimile No.	
	Teleprinter No.	

3. Further observations, if necessary:
The person identified in Box 2 is now recorded as applicant for the United States of America only and inventor for all designated States.

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 Birchen Mireille e-mail pt01.pct@wipo.int Telephone No. +41 22 338 74 01
---	--

Facsimile No. +41 22 338 87 40

Form PCT/IB/306 (October 2005)

1/DED4J7J20

From the INTERNATIONAL BUREAU

PCT**NOTIFICATION OF THE RECORDING
OF A CHANGE**(PCT Rule 92bis.1 and
Administrative Instructions, Section 422)

To:

PENG, Tony, W.
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) 25 September 2007 (25.09.2007)	IMPORTANT NOTIFICATION
Applicant's or agent's file reference PU61939	
International application No. PCT/US2007/066359	International filing date (day/month/year) 11 April 2007 (11.04.2007)

1. The following indications appeared on record concerning:	
☒ the applicant	☒ the inventor ☐ the agent ☐ the common representative
Name and Address	State of Nationality State of Residence
	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 PARRISH, Cynthia, A. 1250 South Collegeville Road Collegeville, PA 19426 United States of America	State of Nationality State of Residence US US
	Telephone No.
	Facsimile No.
	Teleprinter No.
3. Further observations, if necessary: The applicant/inventor identified in Box 2 should be deleted from the records	
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 Birchen Mireille e-mail pt01.pct@wipo.int Telephone No. +41 22 338 74 01
---	--

Facsimile No. +41 22 338 87 40

Form PCT/IB/306 (October 2005)

I/DED4/GJU0

PATENT COOPERATION TREATY

PCT

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

(PCT Article 18 and Rules 43 and 44)

Applicant's or agent's file reference PU61939	FOR FURTHER ACTION see Form PCT/ISA/220 as well as, where applicable, item 5 below.	
International application No. PCT/US07/66359	International filing date (<i>day/month/year</i>) 11 April 2007 (11.04.2007)	(Earliest) Priority Date (<i>day/month/year</i>) 11 April 2006 (11.04.2006)
Applicant SMITHKLINE BEECHAM CORPORATION		

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 ____ sheets.

☐

It is also accompanied by a copy of each prior art document cited in this report.

I. 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/US07/66359

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

IPC: A61K 31/44(2006.01);C07D 215/04(2006.01)

USPC: 514/314;546/167

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. : 514/314; 546/167

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)

West; STN: Registry, Chemical Abstracts, Marpat

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	WO 2004/007491 (APPLIED RESEARCH SYSTEMS ARS HOLDING M.V.), 23 January 2004 (23.01.2004), abstract.	1-23
A	WO 02/051409 (GERON CORPORATION) 04 July 2002 (04.07.2002), claim 1.	1-23



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
"L"	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

09 July 2008 (09.07.2008)

Date of mailing of the international search report

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

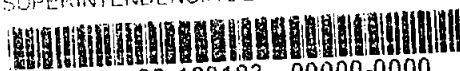
Facsimile No. (571) 273-3201

Authorized officer

D. Margaret Seaman

Telephone No. 571-272-1600

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO



No. 08-108193- -00000-0000

Fecha 2008-10-09 16:37:28 Dep. 2020 NUECREACION
Tra 11 PATENTEIYII Eve 378 FASENACIONALI
Act 411 PRESENTACION Folios 135



Industria y Comercio
SUPERINTENDENCIA

REQUISITOS MINIMOS PARA ADMISION A TRAMITE

PCT

PATENTE DE INVENCION

☒

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 9 OCT / 08

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

REPUBLICA DE COLOMBIA
SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

Folio 137

2020
Bogotá D.C.,

Doctor(a)
OLARTE GARCIA CARLOS REYNALDO
Apoderado(a) y/o Representante de
SMITHKLINE BEECHAM CORPORATION

REFERENCIA	Radicación No.	8 108193
	Solicitud internacional	PCT/US2007/066359
	Fecha inicio fase nacional	11/11/2008
	Trámite	11
	Evento	378
	Actuación	416
	Oficio No.	7127
	Folios	1

Teniendo en cuenta que la solicitud de privilegio de patente que se tramita bajo el expediente indicado en la referencia, reúne los requisitos de forma establecidos en la Decisión 486 de la Comisión de la Comunidad Andina, el Tratado de Cooperación en Materia de Patentes (PCT), el Reglamento y la Circular Única de la Superintendencia de Industria y Comercio, se envía el extracto de la solicitud a la Oficina de Comunicaciones para efecto de su publicación en la Gaceta de Propiedad Industrial.

Cúmplase
Dado en Bogotá DC,

20 NOV. 2008

ALIX CARMENZA CESPEDES DE VERGEL
Jefe de la división de Nuevas Creaciones

adpall

RADICACIÓN EXPEDIENTE No.08-108193

EL EXTRACTO DE LA PRESENTE SOLICITUD DE PATENTE DE INVENCION

FUE PUBLICADO EN LA GACETA DE PROPIEDAD INDUSTRIAL N° 600 DE

FECHA **30 DE ENERO DE 2009** EL TÉRMINO HÁBIL SEÑALADO POR LA LEY

EXPIRA EL 29 DE ABRIL DEL 2009

NOTA: Dentro del plazo de los seis (6) meses siguientes a partir de la fecha de publicación en la gaceta de Propiedad Industrial, deberá solicitar y cancelar el examen de patentabilidad so pena de que la solicitud caiga en abandono, de acuerdo con lo establecido en el Artículo 44 de la Decisión 486/2000.

SE PRESENTARON OPOSICIONES POR PARTE DE TERCEROS.

SI _____ NO _____ X _____