

Akt激酶小分子抑制剂研究进展

——ATP竞争性抑制剂研究概述

王彦凯, 黎文海

中国药科大学理学院, 江苏 南京

Email: wangyankai9514@163.com, liwenhai3@126.com

收稿日期: 2021年4月14日; 录用日期: 2021年6月10日; 发布日期: 2021年6月17日

摘要

PI3K-Akt-mTOR信号通路是调节细胞周期活动的重要通路之一, 该通路的失调是导致肿瘤产生的原因之一。目前以Akt为靶点的小分子抑制剂已经成为抗肿瘤药物研发的思路之一, 在近二十年中, 研究人员通过高通量筛选及计算机辅助药物设计等方法, 设计、优化并合成了大量有选择性和高活性的Akt小分子抑制剂, 本文对近年来文献所报道的ATP竞争性抑制剂按照其结构类型进行综述。

关键词

PI3K/Akt信号通路, ATP竞争性抑制剂, 抗肿瘤药物

Research Progress of Small Molecule Inhibitors of Akt Kinase

—Overview of ATP Competitive Inhibitor Research

Yankai Wang, Wenhai Li

School of Science, China Pharmaceutical University, Nanjing Jiangsu

Email: wangyankai9514@163.com, liwenhai3@126.com

Received: Apr. 14th, 2021; accepted: Jun. 10th, 2021; published: Jun. 17th, 2021

Abstract

The PI3K-Akt-mTOR signaling pathway is one of the important pathways that regulate cell cycle activities, and the imbalance of this pathway is one of the causes of tumors. Small molecule inhibitors targeting Akt have become one of the ideas for the development of anti-tumor drugs. In the

past two decades, researchers have designed, optimized and synthesized a large number of selective and highly active Akt small molecule inhibitors through high-throughput screening and computer-aided drug design. This article reviews the ATP-competitive inhibitors reported in the literature in recent years according to their structure types.

Keywords

PI3K/Akt Signaling Pathway, ATP Competitive Inhibitor, Antitumor Drugs

Copyright © 2021 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 引言

Akt 是一种丝氨酸/苏氨酸激酶(也被称为 PKB 或蛋白激酶 B)。Akt 在细胞内进行信号传导, 对促进细胞存活和增殖起着重要作用[1]。Akt 是磷脂酰肌醇-3-激酶(PI3K)信号传导途径的关键下游成分[2]。研究表明, 当胞外信号与细胞膜上的受体(通常是 RTK, 酪氨酸激酶受体)结合后, 通过磷酸化衔接蛋白 IRS1 来激活 PI3K (磷脂酰肌醇-3 激酶), 进而催化胞质内的 PIP2 (磷脂酰肌醇-4,5-二磷酸)转化生成 PIP3 (磷脂酰肌醇-3,4,5-三磷酸), PIP3 作为第二信使将信号通过特异性识别 PH 结构域与 Akt 结合, 通过招募 PDK1 并且介导 mTOR2 (雷帕霉素靶蛋白复合物)的磷酸化来完全激活 Akt [3]。研究表明, 通过 PI3K-PKB-mTOR 细胞内激酶的信号传导是控制细胞增殖和存活的主要组成部分, 而该途径的失调与几种人类癌症的发展密切相关[4]。

2. ATP 竞争性 Akt 小分子激酶抑制剂分类

近些年以 Akt 为靶点的小分子抑制剂作为药物化学研究的一个热点, 相关科研工作者研发并且报道了许多相关 Akt 抑制剂的设计、合成及后续的活性检测, 根据其其与激酶的作用位点和抑制方式可以将 Akt 抑制剂大致分为 ATP-竞争性抑制剂、变构抑制剂、磷脂酰肌醇类似物抑制剂、假底物抑制剂和其他类型抑制剂。其中 ATP-竞争性抑制剂作为 Akt 小分子激酶抑制剂研究领域的热点之一, 近年来众多该类型抑制剂被研发报道, ATP 竞争性抑制剂是通过直接作用于激活的 Akt 的 ATP 结合位点, 与 ATP 竞争性结合 Akt, 从而阻碍活化的 Akt 对下游底物的磷酸化。本文将对近年来被报道的 ATP-竞争性抑制剂按其结构类型进行分类总结。

2.1. 氨基恶二唑类

GSK690693 是葛兰素史克公司自主研发的一种 ATP 竞争性抑制剂。通过先导化合物 1 和 2 进行先导优化研究, 并从中找到一个对 Akt 三种亚型都有很好抑制效果的化合物 3。GSK690693 是一种新型的 ATP 竞争性 pan-Akt 激酶抑制剂, 其对 Akt1、Akt2 和 Akt3 的半数抑制浓度(IC50)分别为 2 nM、13 nM 和 9 nM。研究还表明 GSK690693 在肿瘤细胞的亚群中抑制增殖并诱导凋亡, 其活性与细胞内对 Akt 激酶活性的抑制相一致。在体内也表现出药效活性, 并已显示出可抑制 BT474 肿瘤异种移植物的生长。[5] [6] GSK690693 是第一个进入临床试验的氨基恶二唑类 ATP 竞争性抑制剂, 主要应对血液瘤和实体瘤的治疗。但后续的研究表明 GSK690693 在体内可能存在抑制糖原合成或激活糖原分解的作用从而引起高血糖产生, 因此不得不终止临床 I 期试验[7] (见图 1)。

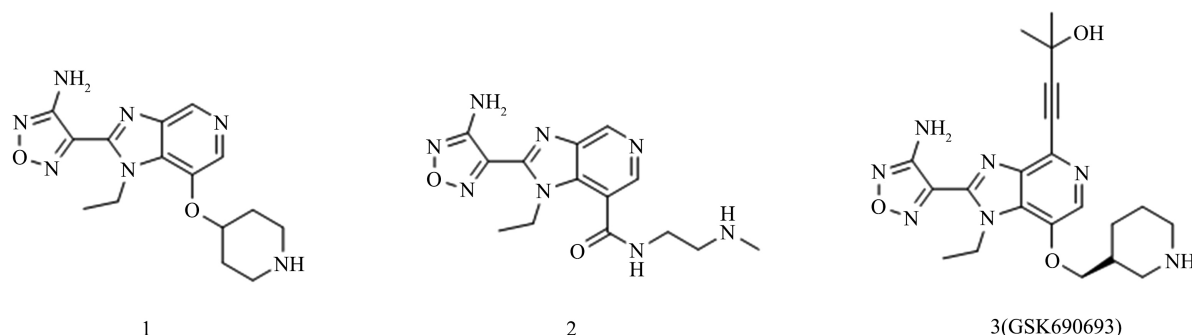


Figure 1. The structure of amino oxadiazole compounds (compounds 1~3)

图 1. 氨基恶二唑类化合物结构(化合物 1~3)

2.2. 吡咯并嘧啶类

辉瑞公司通过高通量筛选发现了以吡咯并嘧啶为母核的化合物 4 对 Akt1 的酶抑制活性达到 290 nM, 并以该化合物作为母核对其进行了结构修饰和相关构效关系的探究, 通过其与 Akt1 激酶结构域结合生成的 X 射线共晶体结构显示吡咯并嘧啶实际上是与 Akt1 的铰链区结合的氢键供体 - 受体。晶体结构进一步揭示了三唑与结合水形成的分子间氢键可能是使其活性减弱的重要原因, 因此将氢键替换为共价键从而将刚性引入分子中产生新的环, 并得到了相较于化合物 4 抑制率提高 7 倍的化合物 5, 分析发现化合物 5 在吡咯并嘧啶 C5 处的氯取代发挥了重要作用, 代表了拮抗 Akt1 的关键效价[8]。

随后通过对化合物 5 的 X 射线共晶结构分析, 发现含有螺二吡啶结构的系列化合物的抑制活性表现突出, 含有氰基的化合物 6 的 IC₅₀ 为 2.4 ± 0.6 nM, 细胞药效为 50 ± 19 nM。虽然化合物 6 对肿瘤生长具有良好的抑制效果, 但其安全性和激酶选择性都较差, 基于此 Kevin D. Freeman-Cook 等人利用“high speed parallel chemistry”展开了新一轮的结构探索, 并从数千种结构中发现了 3-氨基吡咯烷作为环胺部分在该系列化合物中显示出的独特选择性, 但其抑制效率很差, 因此通过进一步设计得到化合物 7, 其对 Akt 的选择性大大提高, 而且对 Akt1 的 IC₅₀ 值为 0.5 nM, 是一种广泛选择性的, 有效的, ATP 竞争性 Akt 抑制剂, 目前正处于临床试验中[9] (见图 2)。

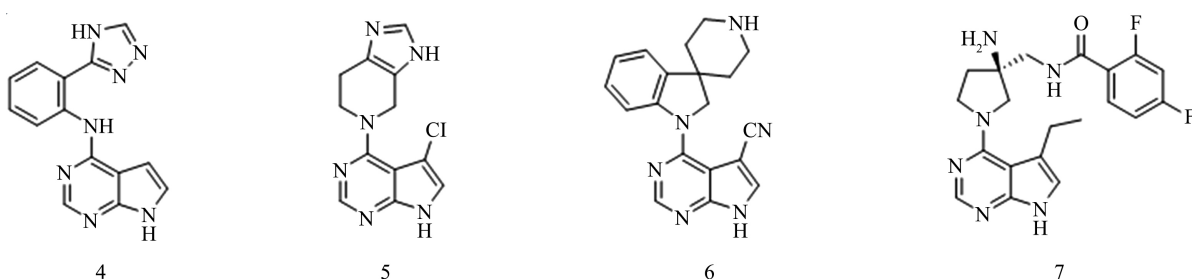


Figure 2. The structure of pyrrolopyrimidine compounds (compounds 4~7)

图 2. 吡咯并嘧啶类化合物结构(化合物 4~7)

CCT128930 (化合物 8) 是基于药物片段筛选而得到的高选择性 (PKA/Akt = 28) 和高抑制效力 (IC₅₀ = 6 nM) 的抑制剂[10]。CCT128930 虽然在细胞测定中具有活性, 但在体内进行代谢时会导致快速清除和较低的生物口服利用度, 因此对 CCT128930 进行了进一步的结构优化修饰得到化合物 9。化合物 9 是有效的和口服可生物利用的 PKB 抑制剂, 对 Akt 的 IC₅₀ 值为 2.2 nM。其以良好的耐受剂量调节了体内 PKB 信号转导的生物标志物, 并强烈抑制了裸鼠中人肿瘤异种移植物的生长[11]。研究表明, 化合物 9 是所有三

种 Akt 亚型的有效酶抑制剂, 并且是人 MDAMB468 细胞中 Akt 糖原合酶激酶 3 β (GSK3 β)磷酸化的中度有效抑制剂。但基于酶活性其对于 ROCK2 的酶选择性不足, 且对于 hERG 离子通道的活性的 IC₅₀ 为 5 μ M, 易导致心源性猝死。因此 Matt Addie 等人在化合物 9 的基础上发现了临床候选药 AZD5363 (化合物 10), 该化合物显示出增强的功效, 降低的 hERG 亲和力和对密切相关的 AGC 激酶 ROCK 的更高选择性。该化合物表现出良好的临床前药物代谢和药代动力学(DMPK)特性, 口服给药后, 体内 Akt 和下游生物标记的磷酸化具有药效学抑制作用, 并在乳腺癌异种移植模型中抑制了肿瘤的生长[12] (见图 3)。

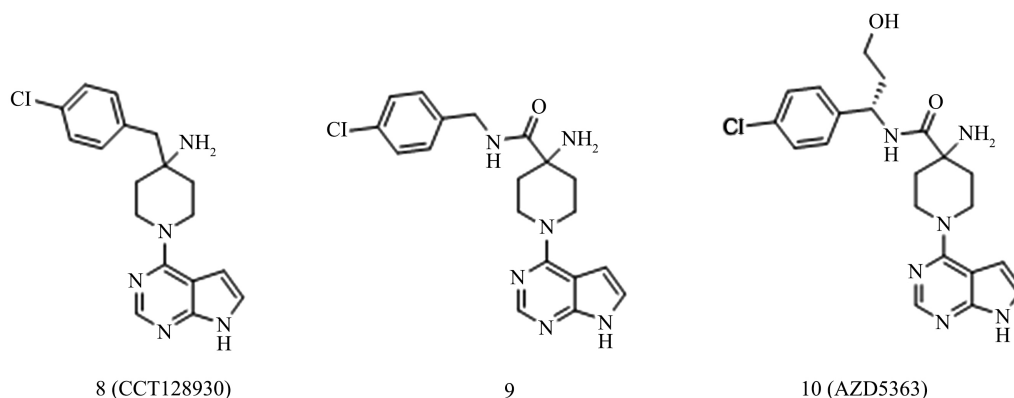


Figure 3. The structure of pyrrolopyrimidine compounds (compounds 8~10)

图 3. 吡咯并嘧啶类化合物结构(化合物 8~10)

2.3. 吡唑并嘧啶类

具有选择性的 p70S6K (化合物 11) 是一类吡唑并嘧啶类 Akt 抑制剂, 并发现当用溴取代吡唑并嘧啶上的 3 位乙基时可能会导致其选择性降低和酶促 Akt 活性更高。将其与已知 Akt 抑制剂进行叠合分析发现, 在氯取代基所在的位置上引入一个疏水基团进入该口袋, 从而有可能较大地增强 Akt 激酶的效力, 基于此设计筛选出化合物 12 和化合物 13。化合物 12 和 13 是能够抑制 p70S6K 和 Akt1 的双靶点抑制化合物, 对 Akt1 的 IC₅₀ 分别达到 5 nM 和 1 nM, 并且能够显著抑制前列腺癌细胞中的 GSK3 β 磷酸化。同时在不同的生物体中也都具有良好的药代动力学特征, 口服利用度分别达到了 58% 和 77%。由于化合物 13 在体外和体内的优异活性以及在较高物种中良好的口服生物利用度, 因此被提名为临床候选药物, 并以 XL418 的名称作为用于实体瘤和血液系统恶性肿瘤患者的口服制剂而得到开发[13] (见图 4)。

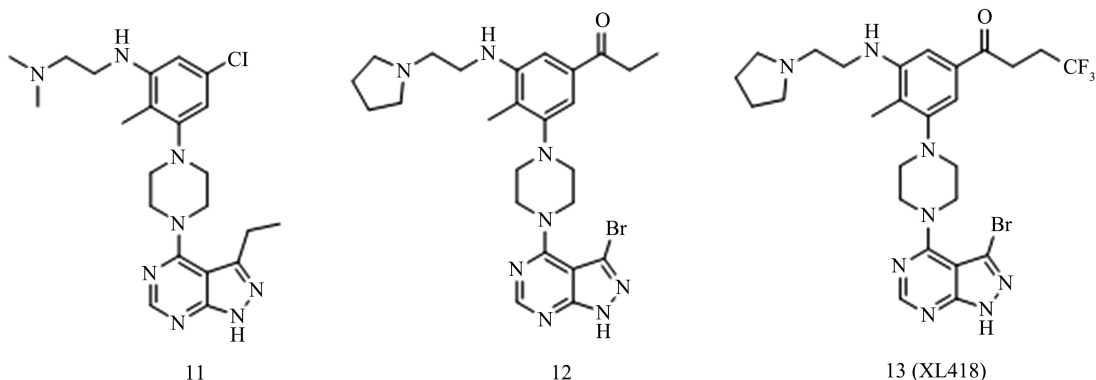


Figure 4. The structure of pyrazolopyrimidine compounds (compounds 11~13)

图 4. 吡唑并嘧啶类化合物结构(化合物 11~13)

2.4. 氨基嘧啶类

以氨基嘧啶为母核, 设计并筛选出活性最好的化合物 14。化合物 14 对多种激酶的中等至出色的选择性, 但对 AGC 家族激酶的选择性很差[14]。因此基于原先化合物设计并合成了一系列新的 2-取代噻唑羧酰胺作为针对 Akt 的所有三种同工型的有效泛抑制剂, 并得到了抑制活性较好的化合物 15, 其对 Akt1, Akt2 和 Akt3 的 IC₅₀ 值分别达到 33 nM, 1.95 μM 和 83 nM。该化合物还有效抑制下游 MDM2 和 GSK3β 蛋白的磷酸化, 并在前列腺癌细胞中显示出强大的抗增殖活性[15] (见图 5)。

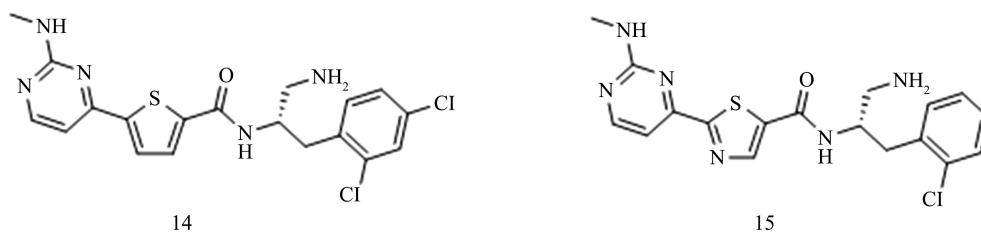


Figure 5. The structure of aminopyrimidine compounds (compounds 14~15)

图 5. 氨基嘧啶类化合物结构(化合物 14~15)

基于分子对接的 QSAR 模型来对 Akt 抑制剂分子进行结构优化。以 4-氨基嘧啶为母核得到化合物 16, 其对 Akt1 的 IC₅₀ 达到 7.7 nM, 并对肿瘤细胞 HCT116 和 OVCAR-8 具有良好的抗增殖活性[16] (见图 6)。

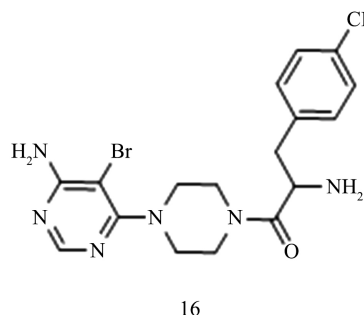


Figure 6. Structure of Aminopyrimidine Compounds (Compound 16)

图 6. 氨基嘧啶类化合物结构(化合物 16)

2.5. 吡唑类

基于片段筛选和计算机辅助药物设计, 发现了一种新型的、低分子量的能够有效抑制 Akt 活性的先导化合物 17, 其 IC₅₀ 值达到 80 μM。以 1H-吡唑作为该系列化合物母核, 对配体有效类似物快速修饰, 得到抑制活性较好的化合物 18, 其 IC₅₀ 值达到 18 nM, 相较于最初的先导化合物 17 抑制活性得到了大幅增强[17]。运用高通量 X 射线晶体学和基于药物片段的分子对接技术设计并合成了化合物 19 (AT13148)。AT13148 是一种口服的 ATP 竞争性多 AGC 激酶抑制剂, 对 Akt1 的 IC₅₀ 为 38 nM。这种口服生物利用药物候选物实现了活性肿瘤暴露, 在体内和体外具有临床相关遗传缺陷的癌细胞中诱导了强大的药效生物标志物调节和凋亡, 并在多种人类肿瘤异种移植模型中展现出抗肿瘤功效。目前, AT13148 正处于 I 期临床试验中[18]。

GSK2110183 (化合物 20)和 GSK2141795 (化合物 21)是一类新型的口服可用, 具有 ATP 竞争性的泛 Akt 激酶抑制剂。其中 GSK2110183 对 Akt1、Akt2 和 Akt3 的 IC₅₀ 值分别为 0.08 nM、2 nM 和 2.6 nM,

GSK2141795 对 Akt1、Akt2 和 Akt3 的 IC₅₀ 值分别为 0.066 nM、1.4 nM 和 1.5 nM。两种化合物均在体外和体内抑制 Akt 途径和各种肿瘤细胞的增殖, 此外, 它们与先前报道的具有 ATP 竞争能力的 Akt 激酶抑制剂相比具有更有利的葡萄糖动态平衡特性。研究还发现, 当 Akt 抑制剂与 MEK 抑制剂组合, 与任一单一药物相比, GSK1120212 均提高了疗效, 表明了这类 Akt 抑制剂既可以单独用于临床, 也可以与 MEK 抑制剂联用, 为癌症治疗用药提供了新思路。目前, GSK2110183 和 GSK2141795 处于 I 期和 II 期的临床试验中[19] [20]。

2016 年, 浙江大学的 Wenhui Zhan 等研究人员以 GSK2141795 (化合物 20)为先导化合物, 设计、合成了一系列新颖的吡唑-咪唑羧酰胺类似物, 并对它们的 Akt1 抑制活性以及抗增殖功效进行了生物学评估。针对 HCT116 和 OVCAR-8 细胞系, 大多数化合物显示出中等至出色的 Akt1 抑制活性, 以及良好的细胞毒性。其中化合物 22 抑制活性最好, 其对 Akt1 的 IC₅₀ 值为 61 nM, 同时发现其对 Akt2, Akt3, ROCK1 和 PKA 都有一定抑制作用。此外, 蛋白质印迹分析则表明化合物 23 可以显著抑制 PC-3 细胞中 Akt 底物 GSK3 β 和 LNCaP 细胞中 PRAS40 的磷酸化水平[21]。

2019 年, 上述课题组同样以 GSK2141795 (化合物 20)和化合物 23 为先导化合物, 通过构象限制策略和分子对接技术, 设计并获得了一系列的 3,4-二取代哌啶衍生物。该系列化合物在体外和体内均显示出强大的抗肿瘤作用, 但另一方面表现出不利的安全性特征, 如低 MTD, 高 hERG 抑制和胃肠道出血。因此, 对该系列化合物进行了构效关系的探究, 并从中找到了具有对 Akt1 显著抑制的化合物 24。化合物 24 显示出增强的 Akt1 效力和癌细胞抑制作用, 显著降低了人类与人为相关的基因阻滞作用, 并显著改善了安全性。同时还表现出良好的激酶选择性和良好的药代动力学特征, 并且显示出非常有效的体内抗肿瘤功效, 在 SKOV3 异种移植模型中具有超过 90% 的肿瘤生长抑制作用。在进行的进一步的机理研究中, 证明了化合物 24 可以显著抑制异种移植模型中细胞和肿瘤组织中 Akt 激酶下游蛋白的磷酸化[22] (见图 7)。

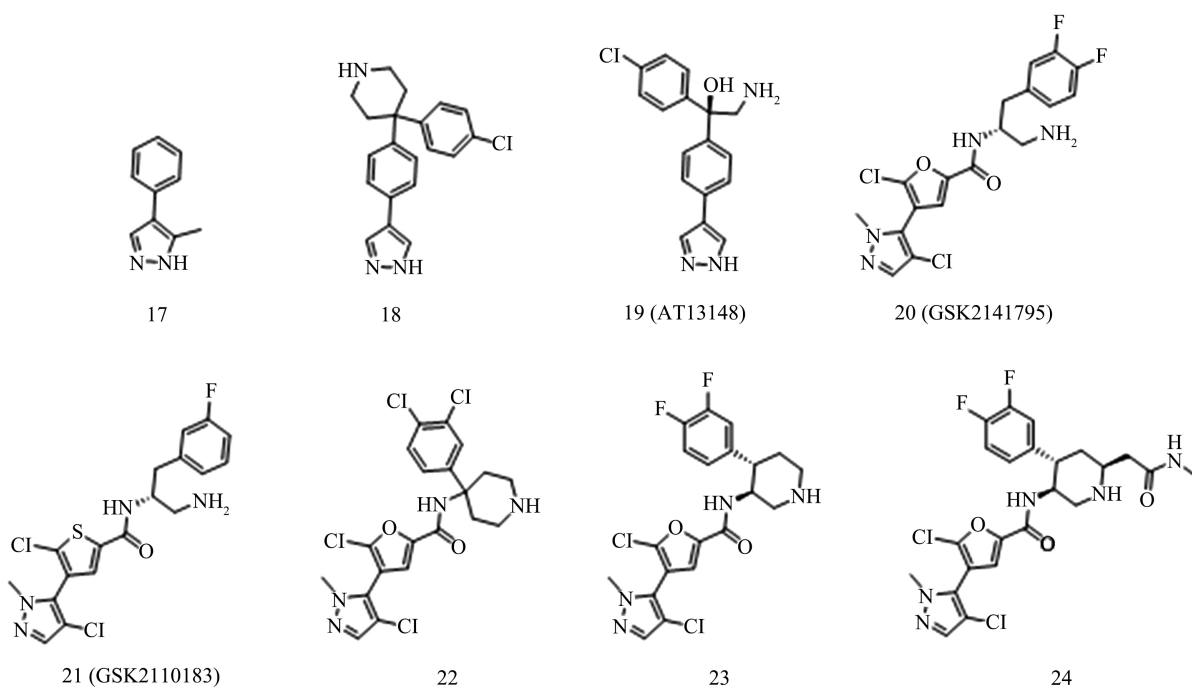


Figure 7. The structure of pyrazole compounds (compounds 17~24)

图 7. 吡唑类化合物结构(化合物 17~24)

2.6. 哌嗪类

通过高通量筛选和基于结构的药物设计发现了哌嗪类先导化合物 25, 其对 Akt1 的 IC₅₀ 达到 2.1 μM。研究发现在该结构中存在一对顺反异构体, 对其拆分后发现相较于 S 型化合物, R 型的化合物对 Akt1 的抑制活性增强了 10 倍左右, 有着显著的提高, 说明在该系列结构中, 构型的改变对 Akt 活性抑制起着关键的作用。随后, 通过 Akt2 的 X 射线结构, 将先导化合物与靶点蛋白进行分子对接, 得到化合物 26, 该结构对 Akt 三种亚型都有一定抑制作用, 其 IC₅₀ 值分别达到 20 nM, 118 nM 和 179 nM。接下来以化合物 26 为先导化合物, 对铰链区进行了优化设计分析, 得到化合物 27, 其对 Akt1 的 IC₅₀ 值达到 5 nM。在确定铰链区后, 对化合物 27 进行三个关键部位地进一步构效关系探究, 得到化合物 28 和化合物 29, 其对 Akt1 的 IC₅₀ 值都达到了 1 nM, 且对 Akt 的三个亚型都表现出了强大的酶和细胞抑制作用, 同时在肿瘤异种移植中显示出出色的 p-PRAS40 敲除能力, 并具有高溶解度和良好的 ADME 性能。但不足之处是对其他相关激酶的选择性较差, 特别是 PKA、ROCK1 和 ROCK2 的选择性缺乏使其耐受性差, 不适合用作治疗剂, 因此还有待进一步研究[23] (见图 8)。

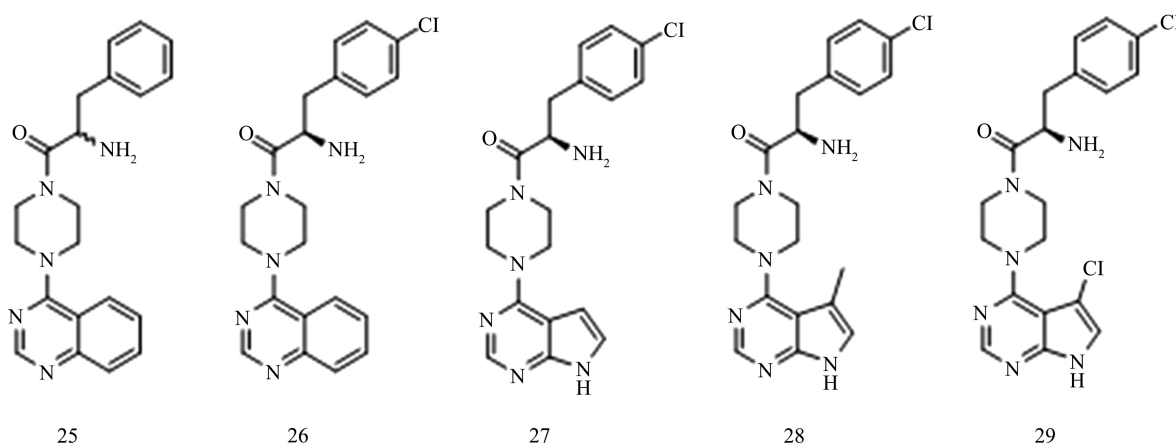


Figure 8. The structure of piperazine compounds (compounds 25~29)

图 8. 哌嗪类化合物结构(化合物 25~29)

在化合物 28 的基础上, 通过使用先前的 SAR 和结合位点的氨基酸序列分析, 对铰链区进行改造, 设计了以二氢噻吩并嘧啶和二氢咪喃并嘧啶为铰链区的先导化合物 30 和 31, 与吡咯并嘧啶相比它们具有更高的 PKA、一般激酶选择性和更高耐受性。通过对化合物 29 和 30 的构效关系分析, 得到目标化合物 32, 其对 Akt1 和 PKA 的 IC₅₀ 值分别为 1 nM 和 35 nM, 且对 PC3-NCI 前列腺小鼠肿瘤细胞也具有明显的抑制作用, 当以 200 mg/kg 的每日口服剂量给药时, 其显示出肿瘤生长和停滞的剂量依赖性降低[24]。

GDC0068 (化合物 33)是将化合物 32 与 Akt1 和蛋白激酶 A 分子结合后通过 X 射线晶体衍射分析设计得到的。GDC0068 对三种 Akt 亚型均有明显的抑制效果, 其 IC₅₀ 值分别达到 5 nM, 18 nM, 8 nM, 可阻断人类癌细胞系中 Akt 多个下游靶标的磷酸化。GDC0068 对 Akt 的选择性优异, 且具有良好的口服暴露可导致对下游生物标记物具有剂量依赖性的药效作用, 在异种移植模型中具有强烈的抗肿瘤反应, 在该模型中, 磷脂酰肌醇 3-激酶-Akt-雷帕霉素是哺乳动物的靶标通路被激活[25]。研究表明, GDC0068 是一种新型的, 具有高度选择性的 ATP 竞争性 Akt 抑制剂, 具有令人信服的选择性, 功效和口服药代动力学, 可单独或与化疗药物一起作为抗癌药支持其临床开发。目前 GDC0068 正处于临床 III 期的研究试验中, 是最有可能上市的 Akt 抑制剂[26] (见图 9)。

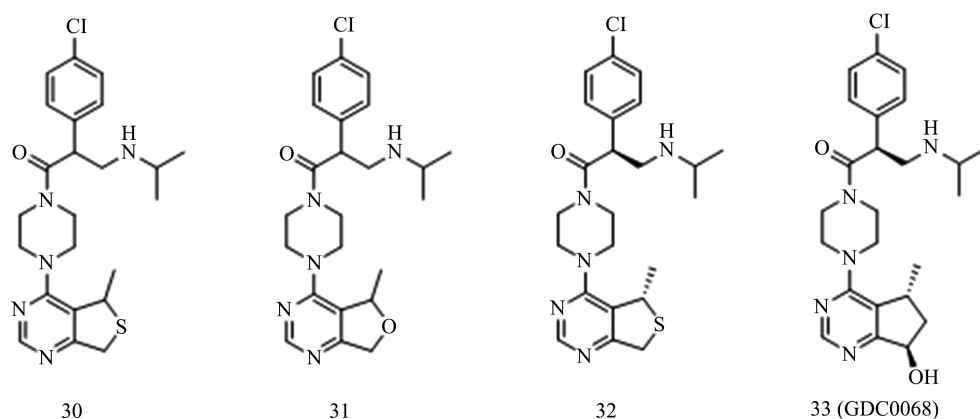


Figure 9. The structure of piperazine compounds (Figure 30~33)

图 9. 哌嗪类化合物结构(图 30~33)

3. 结语与展望

研发以 Akt 为靶点的小分子抑制剂已经成为抗肿瘤治疗的思路之一, 目前已有多个 ATP 竞争性抑制剂有着良好的生物活性并处于临床研究阶段, 如 GDC0068、AZD5363、GSK2110183、BAY1125976 等。这些抑制剂一般都有着较高的抑制效率, 但在选择性和毒副作用等方面仍然有较大的改进空间。相信随着研究地不断开展, 会有更多高活性和选择性的 Akt 抑制剂进入临床研究, 在肿瘤的治疗上带来新的突破。

参考文献

- [1] Sale, E.M. and Sale, G.J. (2008) Protein Kinase B: Signalling Roles and Therapeutic Targeting. *Cellular and Molecular Life Sciences*, **65**, Article No. 113. <https://doi.org/10.1007/s00018-007-7274-9>
- [2] Carnero, A., Blanco-Aparicio, C., Renner, O., Link, W. and Leal, J.F.M. (2008) The PTEN/PI3K/AKT Signalling Pathway in Cancer, Therapeutic Implications. *Current Cancer Drug Targets*, **8**, 187-198. <https://doi.org/10.2174/156800908784293659>
- [3] Zhou, B.G., Wei, C.S., Zhang, S., Zhang, Z. and Gao, H.M. (2018) Matrine Reversed Multidrug Resistance of Breast Cancer MCF-7/ADR Cells through PI3K/AKT Signaling Pathway. *Journal of Cellular Biochemistry*, **119**, 3885-3891. <https://doi.org/10.1002/jcb.26502>
- [4] Georgakis, G.V. and Younes, A. (2006) From Rapa Nui to Rapamycin: Targeting PI3K/Akt/mTOR for Cancer Therapy. *Expert Review of Anticancer Therapy*, **6**, 131-140. <https://doi.org/10.1586/14737140.6.1.131>
- [5] Heerding, D.A., Rhodes, N., Leber, J.D., Clark, T.J., Keenan, R.M., Lafrance, L.V., et al. (2008) Identification of 4-(2-(4-amino-1,2,5-oxadiazol-3-yl)-1-ethyl-7-[[[(3S)-3-piperidinylmethyl]oxy]-1H-imidazo[4,5-c]pyridin-4-yl]-2-methyl-3-butyn-2-ol (GSK690693), a Novel Inhibitor of AKT Kinase. *Journal of Medicinal Chemistry*, **51**, 5663-5679. <https://doi.org/10.1021/jm8004527>
- [6] Rhodes, N., Heerding, D.A., Duckett, D.R., Eberwein, D.J., Knick, V.B., Lansing, T.J., et al. (2008) Characterization of an AKT Kinase Inhibitor with Potent Pharmacodynamic and Antitumor Activity. *Cancer Research*, **68**, 2366-2374. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.can-07-5783>
- [7] Crouthamel, M.-C., Kahana, J.A., Korenchuk, S., Zhang, S.-Y., Sundaresan, G., Eberwein, D.J., et al. (2009) Mechanism and Management of AKT Inhibitor-Induced Hyperglycemia. *Clinical Cancer Research*, **15**, 217-225. <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-08-1253>
- [8] Lippa, B., Pan, G., Corbett, M., Li, C., Kauffman, G.S., Pandit, J., et al. (2008) Synthesis and Structure Based Optimization of Novel Akt Inhibitors. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, **18**, 3359-2263. <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2008.04.034>
- [9] Freeman-Cook, K.D., Autry, C., Borzillo, G., Gordon, D., Barbacci-Tobin, E., Bernardo, V., et al. (2010) Design of Selective, ATP-Competitive Inhibitors of Akt. *Journal of Medicinal Chemistry*, **53**, 4615-4622. <https://doi.org/10.1021/jm1003842>

- [10] Caldwell, J.J., Davies, T.G., Donald, A., McHardy, T., Rowlands, M.G., Wynne Aherne, G., *et al.* (2008) Identification of 4-(4-aminopiperidin-1-yl)-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidines as Selective Inhibitors of Protein Kinase B through Fragment Elaboration. *Journal of Medicinal Chemistry*, **51**, 2147-2157. <https://doi.org/10.1021/jm701437d>
- [11] McHardy, T., Caldwell, J.J., Cheung, K.-M., Hunter, L.J., Taylor, K., Rowlands, M., Ruddle, R., *et al.* (2010) Discovery of 4-amino-1-(7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-4-yl)piperidine-4-carboxamides as Selective, Orally Active Inhibitors of Protein Kinase B (Akt). *Journal of Medicinal Chemistry*, **53**, 2239-2249. <https://doi.org/10.1021/jm901788j>
- [12] Addie, M., Ballard, P., Buttar, D., Crafter, C., Currie, G., Davies, B.R., Debreczeni, J., *et al.* (2013) Discovery of 4-amino-N-[(1S)-1-(4-chlorophenyl)-3-hydroxypropyl]-1-(7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-4-yl)piperidine-4-carboxamide (AZD5363), an Orally Bioavailable, Potent Inhibitor of Akt Kinases. *Journal of Medicinal Chemistry*, **56**, 2059-2073. <https://doi.org/10.1021/jm301762v>
- [13] Rice, K.D., Kim, M.H., Bussenius, J., Anand, N.K., Blazey, C.M., Bowles, O.J., *et al.* (2012) Pyrazolopyrimidines as Dual Akt/p70S6K Inhibitors. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, **22**, 2693-2697. <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2012.03.011>
- [14] Lin, X., Murray, J.M., Rico, A.C., Wang, M.X., Chu, D.T., Zhou, Y., Rosario, M.D., Kaufman, S., Ma, S., Fang, E., Crawford, K. and Jefferson, A.B. (2006) Discovery of 2-pyrimidyl-5-amidothiophenes as Potent Inhibitors for AKT: Synthesis and SAR Studies. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, **16**, 4163-468. <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2006.05.092>
- [15] Chang, S., Zhang, Z., Zhuang, X., Luo, J., Cao, X., Li, H., Tu, Z., Lu, X., Ren, X. and Ding, K. (2012) New Thiazole Carboxamides as Potent Inhibitors of AKT Kinases. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, **22**, 1208-1212. <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2011.11.080>
- [16] Zhan, W., Li, D., Che, J., Zhang, L., Yang, B., Hu, Y., Liu, T. and Dong, X. (2014) Integrating Docking Scores, Interaction Profiles and Molecular Descriptors to Improve the Accuracy of Molecular Docking: Toward the Discovery of Novel Akt1 Inhibitors. *European Journal of Medicinal Chemistry*, **75**, 11-20. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2014.01.019>
- [17] Saxty, G., Woodhead, S.J., Berdini, V., Davies, T.G., Verdonk, M.L., Wyatt, P.G., *et al.* (2007) Identification of Inhibitors of Protein Kinase B Using Fragment-Based Lead Discovery. *Journal of Medicinal Chemistry*, **50**, 2293-2296. <https://doi.org/10.1021/jm070091b>
- [18] Yap, T.A., Walton, M.I., Grimshaw, K.M., te Poele, R.H., Eve, P.D., Valenti, M.R., *et al.* (2012) AT13148 Is a Novel, Oral Multi-AGC Kinase Inhibitor with Potent Pharmacodynamic and Antitumor Activity. *Clinical Cancer Research*, **18**, 3912-3923. <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-11-3313>
- [19] Dumble, M., Crouthamel, M.-C., Zhang, S.-Y., Schaber, M., Levy, D., Robell, K., *et al.* (2014) Discovery of Novel AKT Inhibitors with Enhanced Anti-Tumor Effects in Combination with the MEK Inhibitor. *PLoS ONE*, **9**, e100880. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0100880>
- [20] Tolcher, A.W., Patnaik, A., Papadopoulos, K.P., Rasco, D.W., Becerra, C.R., Allred, A.J., *et al.* (2015) Phase I study of the MEK Inhibitor Trametinib in Combination with the AKT Inhibitor Afuresertib in Patients with Solid Tumors and Multiple Myeloma. *Cancer Chemotherapy and Pharmacology*, **75**, 183-189. <https://doi.org/10.1007/s00280-014-2615-5>
- [21] Zhan, W., Xu, L., Dong, X., Dong, J., Yi, X., Ma, X., *et al.* (2016) Design, Synthesis and Biological Evaluation of Pyrazol-Furan Carboxamide Analogues as Novel Akt Kinase Inhibitors. *European Journal of Medicinal Chemistry*, **117**, 47-58. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2016.03.074>
- [22] Dong, X., Zhan, W., Zhao, M., Che, J., Dai, X., Wu, Y., *et al.* (2019) Discovery of 3,4,6-Trisubstituted Piperidine Derivatives as Orally Active, Low hERG Blocking AKT Inhibitors via Conformational Restriction and Structure-Based Design. *Journal of Medicinal Chemistry*, **62**, 7264-7288. <https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.9b00891>
- [23] Blake, J.F., Kallan, N.C., Xiao, D., Xu, R., Bencsik, J.R., Skelton, N.J., *et al.* (2010) Discovery of Pyrrolopyrimidine Inhibitors of AKT. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, **20**, 5607-5612. <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2010.08.053>
- [24] Bencsik, J.R., Xiao, D., Blake, J.F., Kallan, N.C., Mitchell, I.S., Spencer, K.L., *et al.* (2010) Discovery of Dihydrothieno- and Dihydrofuroypyrimidines as Potent Pan AKT Inhibitors. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, **20**, 7037-7041. <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2010.09.112>
- [25] Blake, J.F., Xu, R., Bencsik, J.R., Xiao, D., Kallan, N.C., Schlachter, S., *et al.* (2012) Discovery and Preclinical Pharmacology of a Selective ATP-Competitive AKT Inhibitor (GDC-0068) for the Treatment of Human Tumors. *Journal of Medicinal Chemistry*, **55**, 8110-8127. <https://doi.org/10.1021/jm301024w>
- [26] Lin, J., Sampath, D., Nannini, M.A., Lee, B.B., Degtyarev, M., Oeh, J., *et al.* (2013) Targeting Activated AKT with GDC-0068, a Novel Selective AKT Inhibitor That Is Efficacious in Multiple Tumor Models. *Clinical Cancer Research*, **19**, 1760-1772. <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-12-3072>