

(19)



Евразийское
патентное
ведомство

(21) 202293225 (13) A1

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ

(43) Дата публикации заявки
2023.05.15

(51) Int. Cl. *A61K 31/397* (2006.01)
C07D 471/14 (2006.01)
A61K 31/4985 (2006.01)

(22) Дата подачи заявки
2021.05.07

(54) МОДУЛЯТОРЫ Akt3 И СПОСОБЫ ИХ ПРИМЕНЕНИЯ

(31) 63/021,797

(32) 2020.05.08

(33) US

(86) PCT/US2021/031372

(87) WO 2021/226510 2021.11.11

(71) Заявитель:
ДЖОРДЖИАМУНЕ ЛЛК (US)

(72) Изобретатель:
Мкртычян Михаил (US)

(74) Представитель:
Гольшко Н.Т. (RU)

(57) В данном изобретении раскрыты композиции и способы модуляции Akt3. Также раскрыты способы их применения для лечения или профилактики различных заболеваний. Активаторы и ингибиторы Akt3 раскрыты для применения при лечении и профилактики различных заболеваний.

A1

202293225

202293225

A1

МОДУЛЯТОРЫ АКТЗ И СПОСОБЫ ИХ ПРИМЕНЕНИЯ

ПЕРЕКРЕСТНАЯ ССЫЛКА НА РОДСТВЕННЫЕ ЗАЯВКИ

[0001] Настоящая заявка испрашивает преимущества и приоритет предварительной заявки США № 63/021797, поданной 8 мая 2020 г., которая полностью включена в настоящий документ посредством ссылки.

ВКЛЮЧЕНИЕ В ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ СВЕДЕНИЙ ПУТЕМ ССЫЛКИ

[0002] Любой патент, патентная публикация, журнальная публикация или другой документ, цитируемый в настоящем документе, полностью включен в настоящий документ посредством ссылки.

ОБЛАСТЬ ИЗОБРЕТЕНИЯ

[0003] Данное изобретение в целом относится к способам лечения и профилактики заболеваний посредством модуляции передачи сигналов Akt3.

ПРЕДПОСЫЛКИ СОЗДАНИЯ ИЗОБРЕТЕНИЯ

[0004] Хронические расстройства и заболевания представляют собой длительные по времени состояния, которые требуют постоянной медицинской помощи и обычно негативно влияют на качество жизни пациента. Хронические заболевания являются основной причиной инвалидности и смерти в США. Распространенные хронические заболевания включают, помимо прочего, воспалительное заболевание, нейродегенеративное заболевание, патогенную инфекцию, иммунодефицитное состояние, расстройство с потерей веса, гормональный дисбаланс, туберозный склероз, пигментный ретинит и застойную сердечную недостаточность. По некоторым оценкам, примерно 6 из 10 взрослых в США имеют хроническое заболевание, а 4 из 10 имеют два или более хронических заболеваний. Хронические заболевания также являются основной причиной ежегодных расходов на здравоохранение в США, которые составляют 3,3 триллиона долларов (см. National Center for Chronic Disease Prevention and Health Promotion, Национальный центр профилактики хронических заболеваний и укрепления здоровья населения). Эти ошеломляющие статистические данные подчеркивают необходимость новых и улучшенных методов лечения и профилактических воздействий при хронических расстройствах и заболеваниях.

[0005] Нейродегенеративные заболевания являются неизлечимыми, изнурительными состояниями, которые характеризуются прогрессирующей дегенерацией и гибелью нервных клеток, также называемых нейронами. Нейроны представляют собой строительные блоки нервной системы и обычно не воспроизводятся или сами по себе не заменяются, когда они повреждаются или умирают. Потеря или дисфункция нейронов у пациентов с нейродегенеративным заболеванием может повлиять на телодвижение и функцию мозга. Распространенные нейродегенеративные заболевания включают, помимо прочего, болезнь Альцгеймера, боковой амиотрофический склероз (amyotrophic lateral sclerosis, ALS), болезнь Гентингтона, болезнь Паркинсона, рассеянный склероз, прионную болезнь, заболевание двигательных нейронов, спиноцеребеллярную атаксию и спинальную мышечную атрофию. Симптомы запущенных нейродегенеративных заболеваний могут быть изнурительными, когда пациенты теряют память, контроль над своими движениями и контроль над своей личностью. В настоящее время нет методов лечения нейродегенеративных заболеваний, и методы лечения, которые сосредоточены на устранении симптомов, обычно вызывают у пациента негативные побочные эффекты, которые еще больше ухудшают качество их жизни.

[0006] Серьезным осложнением хронических заболеваний, таких как нейродегенеративные заболевания, является кахексия или синдром истощения. Кахексия определяется как потеря массы тела более чем на 5 % от массы тела за 12 месяцев или менее при наличии хронического заболевания. Другие симптомы кахексии включают мышечную атрофию, утомляемость, слабость и часто потерю аппетита. Потеря веса, связанная с кахексией, происходит за счет потери не только жира, но и мышечной массы. Пациенты с кахексией часто теряют вес, даже если продолжают придерживаться нормального питания. В настоящее время не существует эффективных методов лечения кахексии, которая способствует большому количеству смертей, связанных с хроническими заболеваниями.

[0007] Растет потребность в более эффективных и переносимых методах лечения и профилактических вмешательствах при хронических заболеваниях и осложнениях, связанных с хроническим заболеванием.

[0008] Таким образом, целью настоящего изобретения является создание способов лечения и профилактики хронического заболевания.

[0009] Также целью настоящего изобретения является создание способов лечения и профилактики осложнений хронического заболевания, таких как кахексия.

СУЩНОСТЬ ИЗОБРЕТЕНИЯ

[0010] В данном изобретении раскрыты соединения и фармацевтические композиции для селективного модулирования Akt3. Также раскрыты способы применения соединений для лечения или профилактики различных заболеваний и расстройств. Неограничивающие примеры заболевания включают воспалительное заболевание, нейродегенеративное заболевание, патогенную инфекцию, иммунодефицитное заболевание, расстройство с потерей веса, гормональный дисбаланс, туберозный склероз, пигментный ретинит и застойную сердечную недостаточность и их комбинацию.

[0011] Akt3 экспрессируется на высоком уровне в головном мозге и его нарушение регуляции было связано с рядом нейродегенеративных заболеваний. Следовательно, раскрытые модуляторы Akt3 могут быть полезны для лечения нейродегенеративных заболеваний.

[0012] Раскрыты способы лечения нейродегенеративных заболеваний у субъекта, нуждающегося в этом. В одном из вариантов осуществления изобретения способ включает введение субъекту активатора Akt3 в количестве, эффективном для активации Akt3 и нисходящей (нижестоящей) нейропротекторной передачи сигналов Akt3 в ткани головного мозга. В другом варианте осуществления изобретения способ включает введение субъекту ингибитора Akt3 в количестве, эффективном для ингибирования Akt3 и нисходящей (нижестоящей) нейровоспалительной передачи сигналов Akt3 в ткани головного мозга.

[0013] В некоторых вариантах осуществления изобретения нейродегенеративное заболевание, которое лечат, представляет собой острое нейродегенеративное заболевание, выбранное из группы, состоящей из эпилепсии, транзиторной ишемии спинного мозга или церебральной ишемии. Нейродегенеративное заболевание также может быть хроническим нейродегенеративным заболеванием, выбранным из группы, состоящей из болезни Гентингтона, болезни Альцгеймера, болезни Паркинсона, рассеянного склероза, спинальной мышечной атрофии или бокового амиотрофического склероза.

[0014] Akt3 также экспрессируется на высоком уровне в жировой ткани и адипоцитах. Передача сигналов Akt3 была вовлечена в адипогенез. Следовательно, раскрытые модуляторы Akt3 могут быть полезны для лечения заболеваний и расстройств, характеризующихся экстремальной потерей веса.

[0015] Раскрыты способы лечения экстремальной потери веса, связанной с такими состояниями, как кахексия и анорексия. Способы обычно включают введение субъекту ингибитора Akt3 в количестве, эффективном для ингибирования передачи сигналов Akt3 и стимуляции адипогенеза в адипоцитах.

[0016] В одном из вариантов осуществления изобретения субъект имеет экстремальную потерю веса в связи с кахексией. Кахексия может быть связана с хроническими заболеваниями, такими как синдром приобретенного иммунодефицита (acquired immunodeficiency syndrome, AIDS), глютеновая болезнь, хроническая обструктивная болезнь легких, рассеянный склероз, ревматоидный артрит, застойная сердечная недостаточность, туберкулез, семейная амилоидная полинейропатия, болезнь Крона, оставленный без лечения и тяжелый диабет 1 типа, нервная анорексия, гипертиреоз и гормональная недостаточность.

[0017] Раскрытые способы могут также включать введение субъекту второго терапевтического средства. Для нейродегенеративных заболеваний вторым терапевтическим средством может быть спазмолитик, миорелаксант, болеутоляющее средство, антидепрессант, антипсихотик (нейролептик), антиконвульсант, антихолинергическое средство или транквилизатор. Для субъектов с экстремальной потерей веса вторым терапевтическим агентом может быть стимулятор аппетита, пищевая добавка, антагонист 5-HT₃ или ингибитор Cox-2.

[0018] В одном аспекте описан способ лечения заболевания у субъекта, нуждающегося в этом, включающий введение субъекту композиции, содержащей модулятор Akt3 в количестве, эффективном для модуляции передачи сигналов Akt3 и лечения или задержки развития болезни.

[0019] В любом из вариантов осуществления изобретения, описанных в настоящем документе, заболевание выбрано из группы, состоящей из нейродегенеративного заболевания, кахексии, анорексии, осложнения при ожирении, воспалительного заболевания, вирусно-индуцированной воспалительной реакции, синдрома войны в Персидском заливе, туберозного склероза, пигментного ретинита, отторжения

трансплантата, рака, ишемического повреждения ткани, травматического повреждения ткани и их комбинации.

[0020] В любом из вариантов осуществления изобретения, описанных в настоящем документе, заболевание представляет собой нейродегенеративное заболевание.

[0021] В любом из вариантов осуществления изобретения, описанных в настоящем документе, нейродегенеративное заболевание выбрано из группы, состоящей из болезни Паркинсона, болезни Альцгеймера, бокового амиотрофического склероза, заболевания двигательных нейронов, болезни Гентингтона, ВИЧ-индуцированной нейродегенерации, болезни телец Леви, спинальной мышечной атрофии, прионной болезни, спиноцеребеллярной атаксии, семейной амилоидной полинейропатии и их комбинации.

[0022] В любом из вариантов осуществления изобретения, описанных в настоящем документе, заболевание представляет собой кахексию или анорексию.

[0023] В любом из вариантов осуществления изобретения, описанных в настоящем документе, заболевание представляет собой осложнение при ожирении.

[0024] В любом из вариантов осуществления изобретения, описанных в настоящем документе, осложнение при ожирении выбрано из группы, состоящей из нарушения толерантности к глюкозе, жировой дегенерации печени, дислипидемии и их комбинации.

[0025] В любом из вариантов осуществления изобретения, описанных в настоящем документе, заболевание представляет собой воспалительное заболевание.

[0026] В любом из вариантов осуществления изобретения, описанных в настоящем документе, воспалительное заболевание выбрано из группы, состоящей из атопического дерматита, аллергии, астмы и их комбинации.

[0027] В любом из вариантов осуществления изобретения, описанных в настоящем документе, заболевание представляет собой вызванную вирусом воспалительную реакцию.

[0028] В любом из вариантов осуществления изобретения, описанных в настоящем документе, вызванная вирусом воспалительная реакция представляет собой вызванная SARS воспалительная пневмония, коронавирусная болезнь 2019 или их комбинацию.

[0029] В любом из вариантов осуществления изобретения, описанных в настоящем документе, заболевание представляет собой синдром войны в Персидском заливе или туберозный склероз.

[0030] В любом из вариантов осуществления изобретения, описанных в настоящем документе, заболевание представляет собой пигментный ретинит или отторжение трансплантата.

[0031] В любом из вариантов осуществления изобретения, описанных в настоящем документе, заболевание представляет собой ишемическое повреждение ткани или травматическое повреждение ткани.

[0032] В любом из вариантов осуществления изобретения, описанных в настоящем документе, заболевание представляет собой рак.

[0033] В любом из вариантов осуществления изобретения, описанных в настоящем документе, рак выбран из группы, состоящей из Т-клеточного лейкоза/лимфомы взрослых, рака мочевого пузыря, головного мозга, молочной железы, шейки матки, колоректального рака, рака пищевода, почек, печени, легких, носоглотки, поджелудочной железы, предстательной железы, рака кожи, желудка, матки, яичников и тестикулярного рака.

[0034] В любом из вариантов осуществления изобретения, описанных в настоящем документе, рак представляет собой лейкемию.

[0035] В любом из вариантов осуществления изобретения, описанных в настоящем документе, лейкемия представляет собой Т-клеточный лейкоз/лимфому взрослых.

[0036] В любом из вариантов осуществления изобретения, описанных в настоящем документе, Т-клеточный лейкоз/лимфома взрослых вызывается человеческим Т-клеточным лимфотропным вирусом.

[0037] В любом из вариантов осуществления изобретения, описанных в настоящем документе, Akt3 модулируется в иммунных клетках.

[0038] В любом из вариантов осуществления изобретения, описанных в настоящем документе, иммунные клетки выбирают из группы, состоящей из Т-клеток, В-клеток, макрофагов и глиальных клеток.

[0039] В любом из вариантов осуществления изобретения, описанных в настоящем документе, глиальные клетки представляют собой астроциты, микроглию или олигодендроциты.

[0040] В любом из вариантов осуществления изобретения, описанных в настоящем документе, Т-клетки представляют собой Т-регуляторные клетки.

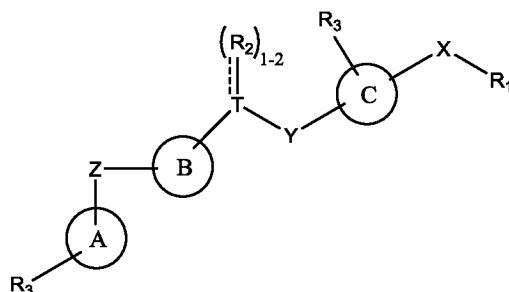
[0041] В любом из вариантов осуществления изобретения, описанных в настоящем документе, модулятор Akt3 активирует передачу сигналов Akt3.

[0042] В любом из вариантов осуществления изобретения, описанных в настоящем документе, модулятор Akt3 ингибирует передачу сигналов Akt3.

[0043] В любом из вариантов осуществления изобретения, описанных в настоящем документе, модулятор Akt3 увеличивает активность или продуцирование Т-регуляторных клеток.

[0044] В любом из вариантов осуществления изобретения, описанных в настоящем документе, модулятор Akt3 снижает активность или продуцирование Т-регуляторных клеток.

[0045] В любом из вариантов осуществления изобретения, описанных в настоящем документе, модулятор Akt3 представляет собой соединение формулы I:



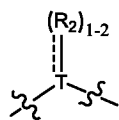
Формула I

или его фармацевтически приемлемый энантиомер, соль или сольват, в котором:

кольца А, В и С независимо представляют собой шестичленные арильные или N-содержащие гетероарильные моно- или бициклические системы колец, содержащие ноль или более атомов азота, выбранных из группы, состоящей из фенила, пиридина, пиримидина, пиридазина, пиазина, триазина, хинолина, хиназолина, изохинолина, нафталина, нафтиридина, индола, изоиндола, циннолина, фталазина, хиноксалина, птеридина, пурина и бензимидазола;

R₁ представляет собой -(C₁-C₃₀)-алкил, -(C₃-C₁₂)-циклоалкил, -(C₃-C₁₂)-гетероциклоалкил, -(C₆-C₂₀)-арил или -(C₃-C₂₀)-гетероарил-группы, необязательно замещенные одним или несколькими заместителями, выбранными из -(C₁-C₁₂)-алкил, -(C₃-C₁₂)-циклоалкил, -(C₃-C₁₂)-гетероциклоалкил, -O-(C₁-C₁₂)-алкил, -O-(C₁-C₁₂)-алкил-(C₆-C₂₀)-арил, -O-(C₃-C₁₂)-циклоалкил, -S-(C₁-C₁₂)-алкил, -S-(C₃-C₁₂)-циклоалкил, -COO-(C₁-C₁₂)-алкил, -COO-(C₃-C₁₂)-циклоалкил, -CONH-(C₁-C₁₂)-алкил, -CONH-(C₃-C₁₂)-циклоалкил, -CO-(C₁-C₁₂)-алкил, -CO-(C₃-C₁₂)-циклоалкил, -N-[(C₁-C₁₂)-алкил]₂, -(C₆-C₂₀)-арил, -(C₆-C₂₀)-арил-(C₁-C₁₂)-алкил, -(C₆-C₂₀)-арил-O-(C₁-C₁₂)-алкил, -(C₃-C₂₀)-гетероарил, -(C₃-C₂₀)-гетероарил-(C₁-C₁₂)-алкил, -(C₃-C₂₀)-гетероарил-O-(C₁-C₁₂)-алкил, -COOH, -OH, -SH, -SO₃H, -CN, -NH₂-групп или атома галогена;

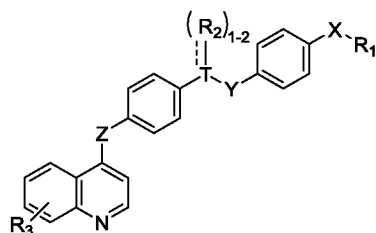
X, Y и Z независимо являются =O, -NH, -S, -N-(C₁-C₃₀)-алкил или -(C₁-C₃₀)-арил-группами;



выбран из группы, состоящей из -CH((C₁-C₃₀)-алкил)-, -(C=O)-, -CH(OH), -SO₂-, -SO- и -CH(SOCH₃)-групп; и

R₃ представляет собой -(C₁-C₃₀)-алкил, -(C₃-C₁₂)-циклоалкил, -(C₃-C₁₂)-гетероциклоалкил, -(C₆-C₂₀)-арил или -(C₃-C₂₀)-гетероарил-группы, необязательно замещенные одним или несколькими заместителями, выбранными из -(C₁-C₁₂)-алкил, -(C₃-C₁₂)-циклоалкил, -(C₃-C₁₂)-гетероциклоалкил, -O-(C₁-C₁₂)-алкил, -O-(C₁-C₁₂)-алкил-(C₆-C₂₀)-арил, -O-(C₃-C₁₂)-циклоалкил, -S-(C₁-C₁₂)-алкил, -S-(C₃-C₁₂)-циклоалкил, -COO-(C₁-C₁₂)-алкил, -COO-(C₃-C₁₂)-циклоалкил, -CONH-(C₁-C₁₂)-алкил, -CONH-(C₃-C₁₂)-циклоалкил, -CO-(C₁-C₁₂)-алкил, -CO-(C₃-C₁₂)-циклоалкил, -N-[(C₁-C₁₂)-алкил]₂, -(C₆-C₂₀)-арил, -(C₆-C₂₀)-арил-(C₁-C₁₂)-алкил, -(C₆-C₂₀)-арил-O-(C₁-C₁₂)-алкил, -(C₃-C₂₀)-гетероарил, -(C₃-C₂₀)-гетероарил-(C₁-C₁₂)-алкил, -(C₃-C₂₀)-гетероарил-O-(C₁-C₁₂)-алкил, -COOH, -OH, -SH, -SO₃H, -CN, -NH₂-групп или атома галогена.

[0046] В любом из вариантов осуществления изобретения, описанных в настоящем документе, модулятор Akt3 представляет собой соединение формулы II:

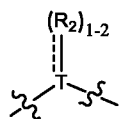


Формула II

или его фармацевтически приемлемый энантиомер, соль или сольват, в котором:

R_1 представляет собой $-(C_1-C_{30})$ -алкил, $-(C_3-C_{12})$ -циклоалкил, $-(C_3-C_{12})$ -гетероциклоалкил, $-(C_6-C_{20})$ -арил или $-(C_3-C_{20})$ -гетероарил-группы, необязательно замещенные одним или несколькими заместителями, выбранными из $-(C_1-C_{12})$ -алкил, $-(C_3-C_{12})$ -циклоалкил, $-(C_3-C_{12})$ -гетероциклоалкил, $-O-(C_1-C_{12})$ -алкил, $-O-(C_1-C_{12})$ -алкил- $-(C_6-C_{20})$ -арил, $-O-(C_3-C_{12})$ -циклоалкил, $-S-(C_1-C_{12})$ -алкил, $-S-(C_3-C_{12})$ -циклоалкил, $-COO-(C_1-C_{12})$ -алкил, $-COO-(C_3-C_{12})$ -циклоалкил, $-CONH-(C_1-C_{12})$ -алкил, $-CONH-(C_3-C_{12})$ -циклоалкил, $-CO-(C_1-C_{12})$ -алкил, $-CO-(C_3-C_{12})$ -циклоалкил, $-N-[(C_1-C_{12})\text{-алкил}]_2$, $-(C_6-C_{20})$ -арил, $-(C_6-C_{20})$ -арил- $-(C_1-C_{12})$ -алкил, $-(C_6-C_{20})$ -арил- $O-(C_1-C_{12})$ -алкил, $-(C_3-C_{20})$ -гетероарил, $-(C_3-C_{20})$ -гетероарил- $-(C_1-C_{12})$ -алкил, $-(C_3-C_{20})$ -гетероарил- $O-(C_1-C_{12})$ -алкил, $-COOH$, $-OH$, $-SH$, $-SO_3H$, $-CN$, $-NH_2$ -групп или атома галогена;

X , Y и Z независимо представляют собой $-O$, $-NH$, $-S$, $-N-(C_1-C_{30})$ -алкил или $-(C_1-C_{30})$ -арил-группу;

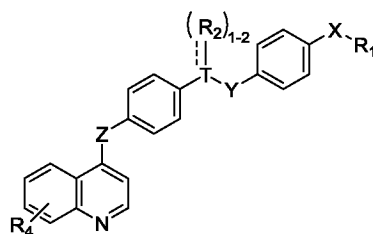


выбран из группы, состоящей из $-CH((C_1-C_{30})\text{-алкил})$ -, $-(C=O)$ -, $-CH(OH)$ -, $-SO_2$ -, $-SO$ - и $-CH(SOCH_3)$ -групп; и

R_3 представляет собой $-(C_1-C_{30})$ -алкил, $-(C_3-C_{12})$ -циклоалкил, $-(C_3-C_{12})$ -гетероциклоалкил, $-(C_6-C_{20})$ -арил или $-(C_3-C_{20})$ -гетероарил-группы, необязательно замещенные одним или несколькими заместителями, выбранными из $-(C_1-C_{12})$ -алкил, $-(C_3-C_{12})$ -циклоалкил, $-(C_3-C_{12})$ -гетероциклоалкил, $-O-(C_1-C_{12})$ -алкил, $-O-(C_1-C_{12})$ -алкил- $-(C_6-C_{20})$ -арил, $-O-(C_3-C_{12})$ -циклоалкил, $-S-(C_1-C_{12})$ -алкил, $-S-(C_3-C_{12})$ -циклоалкил, $-COO-(C_1-C_{12})$ -алкил, $-COO-(C_3-C_{12})$ -циклоалкил, $-CONH-(C_1-C_{12})$ -алкил, $-CONH-(C_3-C_{12})$ -циклоалкил, $-CO-(C_1-C_{12})$ -алкил, $-CO-(C_3-C_{12})$ -циклоалкил, $-N-[(C_1-C_{12})\text{-алкил}]_2$, $-(C_6-C_{20})$ -арил, $-(C_6-C_{20})$ -арил- $-(C_1-C_{12})$ -алкил, $-(C_6-C_{20})$ -арил- $O-(C_1-C_{12})$ -алкил, $-(C_3-C_{20})$ -

гетероарил, $-(C_3-C_{20})$ -гетероарил- (C_1-C_{12}) -алкил, $-(C_3-C_{20})$ -гетероарил-О- (C_1-C_{12}) -алкил, $-COOH$, $-OH$, $-SH$, $-SO_3H$, $-CN$, $-NH_2$ -групп или атома галогена.

[0047] В любом из вариантов осуществления изобретения, описанных в настоящем документе, модулятор Akt3 представляет собой соединение формулы III:

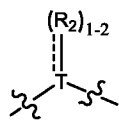


Формула III

или его фармацевтически приемлемый энантиомер, соль или сольват, в котором:

R_1 представляет собой $-(C_1-C_{30})$ -алкил, $-(C_3-C_{12})$ -циклоалкил, $-(C_3-C_{12})$ -гетероциклоалкил, $-(C_6-C_{20})$ -арил или $-(C_3-C_{20})$ -гетероарил-группы, необязательно замещенные одним или несколькими заместителями, выбранными из $-(C_1-C_{12})$ -алкил, $-(C_3-C_{12})$ -циклоалкил, $-(C_3-C_{12})$ -гетероциклоалкил, $-O-(C_1-C_{12})$ -алкил, $-O-(C_1-C_{12})$ -алкил- (C_6-C_{20}) -арил, $-O-(C_3-C_{12})$ -циклоалкил, $-S-(C_1-C_{12})$ -алкил, $-S-(C_3-C_{12})$ -циклоалкил, $-COO-(C_1-C_{12})$ -алкил, $-COO-(C_3-C_{12})$ -циклоалкил, $-CONH-(C_1-C_{12})$ -алкил, $-CONH-(C_3-C_{12})$ -циклоалкил, $-CO-(C_1-C_{12})$ -алкил, $-CO-(C_3-C_{12})$ -циклоалкил, $-N-[(C_1-C_{12})\text{-алкил}]_2$, $-(C_6-C_{20})$ -арил, $-(C_6-C_{20})$ -арил- (C_1-C_{12}) -алкил, $-(C_6-C_{20})$ -арил-О- (C_1-C_{12}) -алкил, $-(C_3-C_{20})$ -гетероарил, $-(C_3-C_{20})$ -гетероарил- (C_1-C_{12}) -алкил, $-(C_3-C_{20})$ -гетероарил-О- (C_1-C_{12}) -алкил, $-COOH$, $-OH$, $-SH$, $-SO_3H$, $-CN$, $-NH_2$ -групп или атома галогена;

X, Y и Z независимо представляют собой $-O$, $-NH$, $-S$, $-N-(C_1-C_{30})$ -алкил или $-(C_1-C_{30})$ -арил-группы;

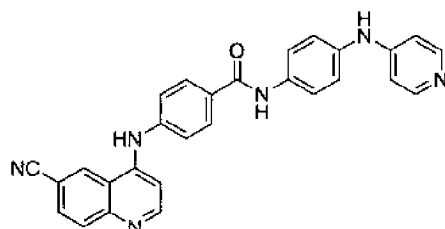


представляет собой $-CH((C_1-C_{30})\text{-алкил})-$, $-(C=O)-$, $-CH(OH)-$, $-SO_2-$, $-SO-$ или $-CH(SOCH_3)-$ группы; и

R_4 представляет собой $-(C_1-C_{12})$ -alkyl, $-(C_3-C_{12})$ -циклоалкил, $-(C_3-C_{12})$ -гетероциклоалкил, $-O-(C_1-C_{12})$ -алкил, $-O-(C_1-C_{12})$ -алкил- (C_6-C_{20}) -арил, $-O-(C_3-C_{12})$ -циклоалкил, $-S-(C_1-C_{12})$ -алкил, $-S-(C_3-C_{12})$ -циклоалкил, $-COO-(C_1-C_{12})$ -алкил, $-COO-(C_3-C_{12})$ -циклоалкил, $-CONH-(C_1-C_{12})$ -алкил, $-CONH-(C_3-C_{12})$ -циклоалкил, $-CO-(C_1-C_{12})$ -алкил, $-CO-(C_3-C_{12})$ -циклоалкил, $-N-[(C_1-C_{12})\text{-алкил}]_2$, $-(C_6-C_{20})$ -арил, $-(C_6-C_{20})$ -арил- (C_1-C_{12}) -алкил, $-(C_6-C_{20})$ -арил-О- (C_1-C_{12}) -алкил, $-(C_3-C_{20})$ -гетероарил,

-(C₃-C₂₀)-гетероарил-(C₁-C₁₂)-алкил, -(C₃-C₂₀)-гетероарил-O-(C₁-C₁₂)-алкил, -COOH, -OH, -SH, -SO₃H, -CN, -NH₂-группы или атом галогена.

[0048] В любом из вариантов осуществления изобретения, описанных в настоящем документе, модулятор Akt3 представляет собой соединение формулы IV:



Формула IV

или его фармацевтически приемлемый энантиомер, соль или сольват.

[0049] В любом из вариантов осуществления изобретения, описанных в настоящем документе, способ дополнительно включает введение второго терапевтического средства субъекту.

[0050] В любом из вариантов осуществления изобретения, описанных в настоящем документе, второе терапевтическое средство выбрано из группы, состоящей из пищевой добавки, химиотерапевтического средства, противовоспалительного средства, иммунодепрессанта, ингибитора холинэстеразы, антидепрессанта, анксиолитика, нейролептика, рилузола, эдаварона, дофаминомиметического препарата, ингибитора МАО В, ингибитора катехол-О-метилтрансферазы, антихолинергического средства, противосудорожного средства, тетрабеназина, карбидопы-леводопы, антиспастического средства, антитела, слитого белка, фермента, нуклеиновой кислоты, рибонуклеиновой кислоты, антипролиферативного средства, цитотоксического средства, стимулятора аппетита, 5-HT₃ антагониста, ингибитора Sox-2 и их комбинации.

[0051] В другом аспекте описан способ лечения кахексии у нуждающегося в этом субъекта, включающий введение субъекту композиции, содержащей селективный ингибитор Akt3, в количестве, эффективном для ингибирования передачи сигналов Akt3 в адипоцитах и активации адипогенеза.

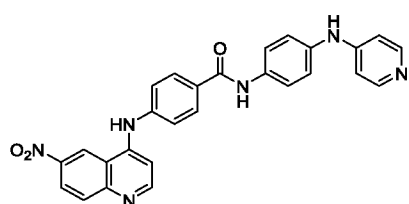
[0052] В любом из вариантов осуществления изобретения, описанных в настоящем документе, способ дополнительно включает введение субъекту второго терапевтического средства.

[0053] В любом из вариантов осуществления изобретения, описанных в настоящем документе, второе терапевтическое средство выбрано из группы, состоящей из стимулятора аппетита, пищевой добавки, антагониста 5-HT₃, ингибитора Cox-2, химиотерапевтического, противовоспалительного, иммунодепрессивного средства, ингибитора холинэстеразы, антидепрессанта, анксиолитика, антипсихотика, рилузола, эдаварона, дофаминомиметического препарата, ингибитора MAO B, ингибитора катехин-О-метилтрансферазы, антихолинергического, противосудорожного средства, тетрабеназина, карбидопы-леводопы, антиспастического средства, антитела, слитого белка, фермента, нуклеиновой кислоты, рибонуклеиновой кислоты, антипролиферативного агента, цитотоксического агента и их комбинации.

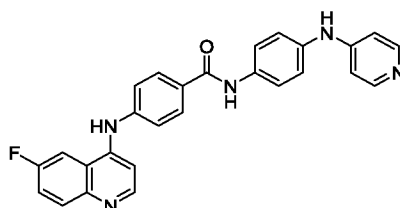
[0054] В любом из вариантов осуществления изобретения, описанных в настоящем документе, второе терапевтическое средство представляет собой стимулятор аппетита, пищевую добавку, антагонист 5-HT₃ или ингибитор Cox-2.

[0055] В любом из вариантов осуществления изобретения, описанных в настоящем документе, субъект страдает нейродегенеративным заболеванием, кахексией, анорексией, осложнением при ожирении, воспалительным заболеванием, вызванной вирусом воспалительной реакцией, синдромом войны в Персидском заливе, туберозным склерозом, пигментным ретинитом, отторжением трансплантата, раком и их комбинацией.

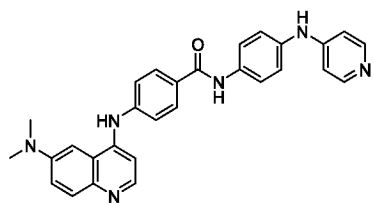
[0056] В любом из вариантов осуществления изобретения, описанных в настоящем документе, ингибитор Akt3 представляет собой соединение, выбранное из группы, состоящей из:



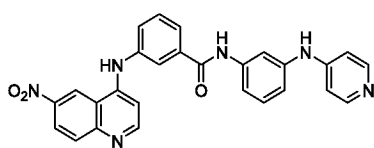
Формула VI,



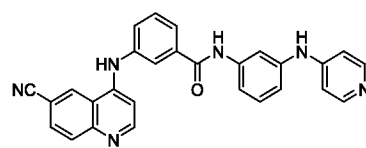
Формула VII,



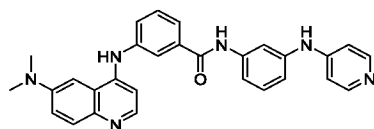
Формула VIII,



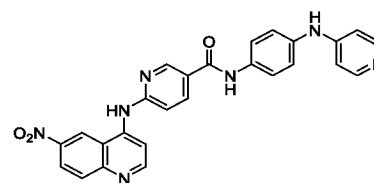
Формула IX,



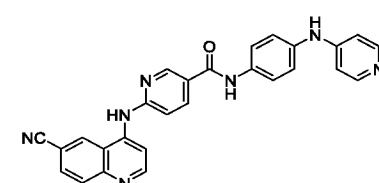
Формула X,



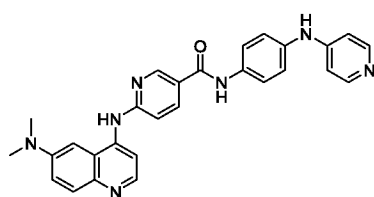
Формула XI,



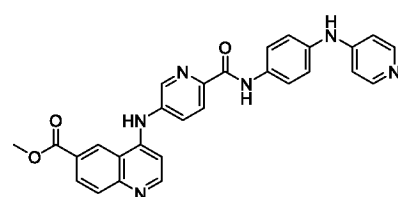
Формула XII,



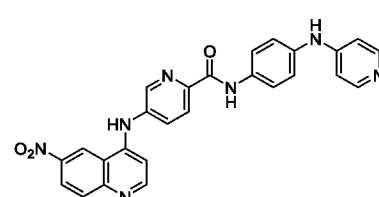
Формула XIII,



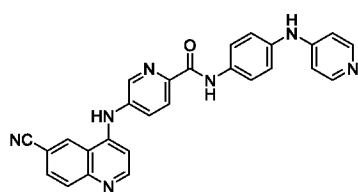
Формула XIV,



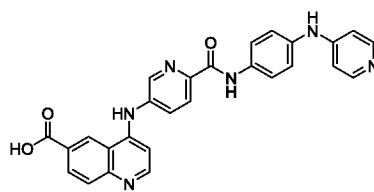
Формула XV,



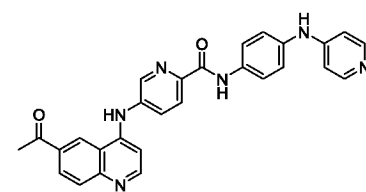
Формула XVI,



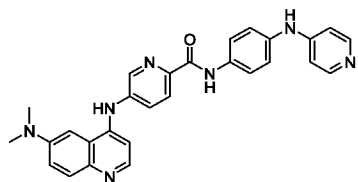
Формула XVII,



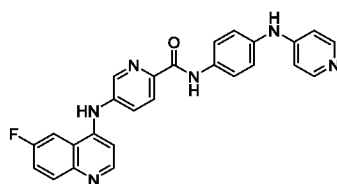
Формула XVIII,



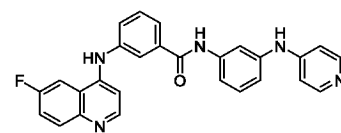
Формула XIX,



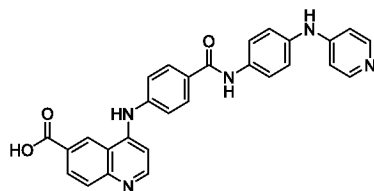
Формула XX,



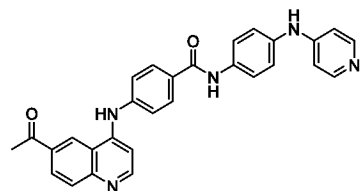
Формула XXI,



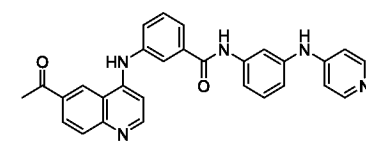
Формула XXII,



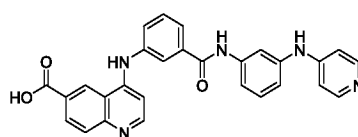
Формула XXIII,



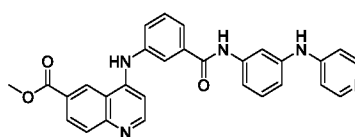
Формула XXIV,



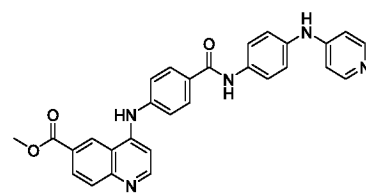
Формула XXV,



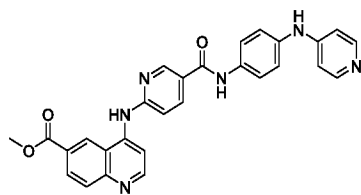
Формула XXVI,



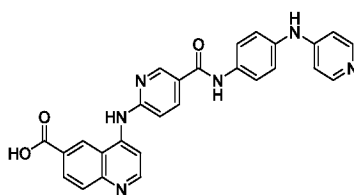
Формула XXVII,



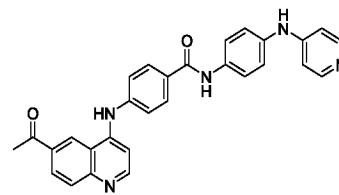
Формула XXVIII,



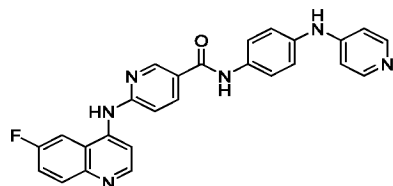
Формула XXIX,



Формула XXX,



Формула XXXI



Формула XXXII.

ПОДРОБНОЕ ОПИСАНИЕ СУЩНОСТИ ИЗОБРЕТЕНИЯ

I. ОПРЕДЕЛЕНИЯ

[0057] Следует понимать, что данное изобретение не ограничивается композициями и способами, описанными в настоящем документе, а также описанными экспериментальными условиями, поскольку они могут варьироваться. Также следует понимать, что используемая здесь терминология предназначена только для описания некоторых вариантов осуществления изобретения и не предназначена для ограничения, поскольку объем настоящего изобретения будет ограничен только прилагаемой формулой изобретения.

[0058] Если не указано иное, все технические и научные термины, используемые в настоящем документе, имеют те же значения, которые обычно понимаются специалистом в данной области, к которой относится данное изобретение. Любые композиции, способы и материалы, подобные или эквивалентные тем, которые описаны здесь, могут быть использованы при практическом исполнении или тестировании настоящего изобретения. Все публикации, упомянутые в настоящем документе, полностью включены в настоящий документ посредством ссылки.

[0059] Использование терминов «а», «an», «the» и аналогичных референтов в контексте описания заявленного в настоящее время изобретения (особенно в контексте формулы изобретения) должно толковаться как охватывающее как единственное, так и множественное число, если иное не указано в настоящем документе или явно не противоречит контексту.

[0060] Включение диапазонов значений в данном документе предназначено только для использования в качестве сокращенного способа обозначения индивидуально для каждого отдельного значения, попадающего в указанный диапазон, если иное не указано в настоящем документе, и каждое отдельное значение включено в описание, как если бы оно было индивидуально здесь указано.

[0061] Использование термина «примерно» предназначено для описания значений выше или ниже указанного значения в диапазоне приблизительно $\pm 10\%$; в других вариантах осуществления изобретения значения могут находиться в диапазоне выше или ниже указанного значения, в диапазоне приблизительно $\pm 5\%$; в других вариантах осуществления изобретения значения могут находиться в диапазоне выше или ниже указанного значения в диапазоне приблизительно $\pm 2\%$; в других вариантах осуществления изобретения значения могут находиться в диапазоне выше или ниже указанного значения в диапазоне приблизительно $\pm 1\%$. Вышеуказанные диапазоны предназначены для разъяснения контекста, и никакого дополнительного ограничения не подразумевается. Все способы, описанные в настоящем документе, могут быть осуществлены в любом подходящем порядке, если иное не указано в настоящем документе или в остальном явно не противоречит контексту. Использование всех без исключения примеров или вводного слова перед примером (например, «такой как»), представленных в настоящем документе, предназначено только для лучшего освещения изобретения и не накладывает ограничения на объем изобретения, если не указано иное. Никакая формулировка в описании не должна рассматриваться как указывающая на любой незаявленный элемент, как на существенный в практике осуществления настоящего изобретения.

[0062] В контексте данного документа термины «рак» и, эквивалентно, «опухоль» относятся к состоянию, при котором аномально реплицирующиеся клетки хозяина присутствуют у субъекта в обнаруживаемом количестве. Рак может быть злокачественным или незлокачественным. Рак или опухоли включают, помимо прочего, Т-клеточный лейкоз/лимфому взрослых (в том числе вызванный человеческим Т-клеточным лимфотропным вирусом (HTLV-1)), рак желчевыводящих путей; рак мозга; рак молочной железы; рак шейки матки; хориокарциному; рак толстой кишки; рак эндометрия; рак пищевода; рак желудка; внутриэпителиальные новообразования; лейкозы; лимфомы; рак печени; рак легкого (например, мелкоклеточный и немелкоклеточный); меланому; нейробластомы; рак ротовой

полости; рак яичников; панкреатический рак; рак простаты; рак прямой кишки; почечный рак; саркомы; рак кожи; тестикулярный рак; рак щитовидной железы; а также другие карциномы и саркомы. В контексте данного документа термин «лимфома» относится к раку лимфатической системы или раку крови, который развивается из лимфоцитов. Рак может быть первичным или метастатическим. Заболевания, отличные от рака, могут быть связаны с мутационной альтернативой компонентов сигнальных путей Ras, и раскрытые здесь соединения могут быть использованы для лечения этих нераковых заболеваний. Такие нераковые заболевания могут включать: нейрофиброматоз; синдром леопарда; синдром Нунана; синдром Легиуса; синдром Костелло; кардио-фацио-кожный синдром; наследственный фиброматоз десен 1 типа; аутоиммунный лимфопролиферативный синдром; и капиллярную мальформацию - артериовенозную мальформацию.

[0063] Термин «стимулировать экспрессию» означает воздействовать на экспрессию, например, индуцировать экспрессию или активность или индуцировать повышенную/большую экспрессию или активность по сравнению с нормальными, здоровыми контролями.

[0064] Термины «иммуноактивирующий ответ», «активирующий иммунный ответ» и «иммуностимулирующий ответ» относятся к ответу, который инициирует, индуцирует, усиливает или увеличивает активацию или эффективность врожденного или приобретённого иммунитета. Такие иммунные ответы включают, например, развитие эффективного гуморального (опосредованного антителами) и/или клеточного (опосредованного антиген-специфическими Т-клетками или продуктами их секреции) ответа, направленного против пептида у пациента-реципиента. Такой ответ может быть активным ответом, индуцированным введением иммуногена, или пассивным ответом, индуцированным введением антитела или примированных Т-клеток. Клеточный иммунный ответ вызывается презентированием полипептидных эпитопов в ассоциации с молекулами главного комплекса тканевой совместимости (МНС) (major histocompatibility complex, МНС) класса I или класса II для активации антигенспецифических CD4⁺ Т-хелперных клеток и/или CD8⁺ цитотоксических Т-клеток. Ответ может также включать активацию моноцитов, макрофагов, естественных киллеров (NK) (natural killer, NK), базофилов, дендритных клеток, астроцитов, клеток микроглии, эозинофилов, активацию или рекрутинг нейтрофилов или других компонентов врожденного иммунитета. Наличие клеточно-опосредованного

иммунологического ответа можно определить с помощью анализов пролиферации (CD4⁺ Т-клетки) или анализов цитотоксических Т-лимфоцитов (cytotoxic T lymphocyte, CTL). Относительные вклады гуморального и клеточного ответов в защитный или терапевтический эффект иммуногена можно различать отдельно для каждого случая путем выделения антител и Т-клеток из иммунизированного сингенного животного и измерения защитного или терапевтического эффекта у второго субъекта.

[0065] Термины «супрессивный иммунный ответ» и «иммуносупрессивный ответ» в контексте данного документа, относятся к ответу, который снижает или предотвращает активацию или эффективность врожденного или приобретённого иммунитета.

[0066] Термин «иммунная толерантность» в контексте данного документа относится к любому механизму, с помощью которого потенциально губительный иммунный ответ предотвращается, подавляется или переключается на негубительный иммунный ответ (Bach, et al., N. Eng. J. Med., 347:911-920 (2002), полностью включено в настоящий документ посредством ссылки).

[0067] Термин «толерогенная вакцина» в контексте данного документа обычно представляет собой антиген-специфическую терапию, используемую для ослабления аутореактивных Т- и/или В-клеточных ответов, при этом общая иммунная функция остается нетронутой.

[0068] «Иммунный ответ» или «иммуноген» способен индуцировать иммунологический ответ против самого себя при введении млекопитающему, необязательно вместе с адъювантом.

[0069] Термин «иммунная клетка» в контексте данного документа относится к клеткам врожденной и приобретенной иммунной системы, включая нейтрофилы, эозинофилы, базофилы, моноциты, макрофаги, дендритные клетки, лимфоциты, включая В-клетки, Т-клетки и NK-клетки.

[0070] В контексте данного документа термин «обычные Т-клетки» представляет собой Т-лимфоциты, которые экспрессируют $\alpha\beta$ -Т-клеточный рецептор (T cell receptor, TCR), а также корецептор CD4 или CD8. Обычные Т-клетки присутствуют в периферической крови, лимфатических узлах и тканях. См. Roberts and Girardi, «Conventional and Unconventional T Cells» («Обычные и необычные Т-клетки»), Clinical

and Basic Immunodermatology, pp. 85-104, (Gaspari and Tying (ed.)), Springer London (2008), полностью включено в настоящий документ посредством ссылки.

[0071] В контексте данного документа термин «необычные Т-клетки» представляет собой лимфоциты, которые экспрессируют TCR $\gamma\delta$ и могут обычно находиться в эпителиальной среде, такой как кожа, желудочно-кишечный тракт или мочеполовой тракт. Другим подмножеством необычных Т-клеток является инвариантная естественная киллерная Т-клетка (natural killer T, NKT), которая обладает фенотипическими и функциональными способностями обычной Т-клетки, а также признаками естественных киллеров (например, цитолитической активностью). *See id.*

[0072] В контексте данного документа «Treg» относится к регуляторной Т-клетке или клеткам. Регуляторные Т-клетки представляют собой субпопуляцию Т-клеток, которые модулируют иммунную систему, поддерживают толерантность к собственным антигенам и иным образом подавляют иммуностимулирующие или активирующие ответы других клеток. Регуляторные Т-клетки бывают разных форм, наиболее изученными из которых являются те, которые экспрессируют CD4, CD25 и Foxp3.

[0073] В контексте данного документа «естественная Treg» или «nTreg» относится к регуляторной Т-клетке или клеткам, которые развиваются в тимусе.

[0074] В контексте данного документа “индуцированная Treg” или “iTreg” относится к регуляторной Т-клетке или клеткам, которые развиваются из зрелых CD4+ обычных Т-клеток вне тимуса.

[0075] «Биоактивность» Akt3 относится к биологической функции полипептида Akt3. Биоактивность может быть увеличена или уменьшена путем увеличения или уменьшения активности основных уровней полипептида, увеличения или уменьшения авидности основных уровней полипептида, количества полипептида, соотношения Akt3 по отношению к одной или нескольким другим изоформам Akt (например, Akt1 или Akt2) полипептида, повышение или снижение уровней экспрессии полипептида (включая повышением или снижением экспрессии мРНК Akt3) или их комбинации. Например, биодоступный полипептид Akt3 представляет собой полипептид, который обладает киназной активностью и может связываться с субстратом Akt3 и фосфорилировать его. Полипептид Akt3, который не является биодоступным, включает полипептид Akt3, который ошибочно локализован или не способен связываться с субстратами Akt и фосфорилировать их.

[0076] В контексте данного документа фраза о том, что молекула «специфически связывается» или «проявляет специфическое связывание» с мишенью, относится к реакции связывания, которая определяет наличие молекулы в присутствии гетерогенной популяции других биологических препаратов.

[0077] При обозначенных условиях иммунологического анализа конкретная молекула связывается преимущественно с конкретной мишенью и не связывается в значительном количестве с другими биологическими препаратами, присутствующими в образце. Специфическое связывание антитела с мишенью в таких условиях требует, чтобы антитело было выбрано по его специфичности к мишени. Для выбора антител, специфически иммунореактивных с конкретным белком, можно использовать различные форматы иммунологических анализов. Например, твердофазные иммуноферментные анализы (enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA) широко используются для выбора моноклональных антител, специфически иммунореактивных с белком. См., например, Harlow and Lane (1988), *Antibodies, A Laboratory Manual* (Антитела, Руководство по проведению лабораторных анализов) Cold Spring Harbour Publications, New York (полностью включено в настоящий документ посредством ссылки для описания форматов и условий иммунологического анализа, которые можно использовать для определения специфической иммунореактивности).

[0078] Термины «олигонуклеотид» и «полинуклеотид» обычно относятся к любому полирибонуклеотиду или полидезоксирибонуклеотиду, который может представлять собой немодифицированную РНК или ДНК или модифицированную РНК или ДНК. Таким образом, например, термин «полинуклеотиды», в контексте данного документа, относится, среди прочего, к одноцепочечной и двухцепочечной ДНК, ДНК, которая представляет собой смесь одноцепочечных и двухцепочечных участков, одноцепочечной и двухцепочечной РНК и РНК, которая представляет собой смесь одноцепочечных и двухцепочечных участков, гибридные молекулы, содержащие ДНК и РНК, которые могут быть одноцепочечными или, что более типично, двухцепочечными, или смесью одноцепочечных и двухцепочечных участков. Термины «нуклеиновая кислота» или «последовательность нуклеиновой кислоты» также охватывают полинуклеотид, как определено выше.

[0079] Кроме того, «полинуклеотид» в контексте данного документа относится к трехцепочечным областям, содержащим РНК или ДНК, или и РНК, и ДНК. Цепи в таких областях могут быть из одной и той же молекулы или из разных молекул.

Участки могут включать всего одну или несколько молекул, но чаще всего включают только участок некоторых молекул. Одна из молекул тройного спирального участка часто представляет собой олигонуклеотид.

[0080] В контексте данного документа термин «полинуклеотид» включает ДНК-ы или РНК-ы, как описано выше, которые содержат одно или несколько модифицированных оснований. Таким образом, ДНК-ы или РНК-ы с остовами, модифицированными для стабильности или по другим причинам, представляют собой «полинуклеотиды», как этот термин подразумевается в данном документе. Кроме того, ДНК-ы или РНК-ы, включающие необычные основания, такие как инозин, или модифицированные основания, такие как тритилированные основания, и это только два примера, являются полинуклеотидами в том смысле, в каком этот термин используется в настоящем документе.

[0081] В контексте данного документа термин «полипептид» относится к цепи аминокислот любой длины, независимо от модификации (например, фосфорилирования или гликозилирования). Термин «полипептид» включает белки и их фрагменты. Полипептиды могут быть «экзогенными», означая, что они являются «гетерологичными», т.е. чужеродными для используемой клетки-хозяина, например полипептид человека, продуцируемый бактериальной клеткой. Полипептиды раскрыты в данном документе как последовательности аминокислотных остатков. Эти последовательности записываются слева направо в направлении от амино-конца к карбокси-концу. В соответствии со стандартной номенклатурой последовательности аминокислотных остатков обозначаются или трехбуквенным или однобуквенным кодом, как показано ниже: аланин (Ala, A), аргинин (Arg, R), аспарагин (Asn, N), аспарагиновая кислота (Asp, D), цистеин (Cys, C), глутамин (Gln, Q), глутаминовая кислота (Glu, E), глицин (Gly, G), гистидин (His, H), изолейцин (Ile, I), лейцин (Leu, L), лизин (Lys, K), метионин (Met, M), фенилаланин (Phe, F), пролин (Pro, P), серин (Ser, S), треонин (Thr, T), триптофан (Trp, W), тирозин (Tyr, Y) и валин (Val, V).

[0082] «Вариант» относится к полипептиду или полинуклеотиду, который отличается от эталонного полипептида или полинуклеотида, но сохраняет основные свойства. Типичный вариант полипептида отличается аминокислотной последовательностью от другого эталонного полипептида. Как правило, различия ограничены так, что последовательности эталонного полипептида и варианта в целом очень похожи и во многих областях идентичны. Вариант и эталонный полипептид

могут отличаться по аминокислотной последовательности одной или несколькими модификациями (например, заменами, добавлениями и/или делециями). Замещенный или вставленный аминокислотный остаток может кодироваться или не кодироваться генетическим кодом. Вариант полипептида может встречаться в природе, например, аллельный вариант, или это может быть вариант, который, как известно, не встречается в природе.

[0083] Модификации и изменения могут быть внесены в структуру полипептидов по настоящему изобретению и все же получить молекулу, имеющую сходные характеристики с полипептидом (например, консервативная аминокислотная замена). Например, некоторые аминокислоты могут быть заменены другими аминокислотами в последовательности без заметной потери активности. Поскольку интерактивная способность и природа полипептида определяют эту биологическую функциональную активность полипептида, определенные замены аминокислотной последовательности могут быть сделаны в последовательности полипептида и, тем не менее, получить полипептид с аналогичными свойствами.

[0084] При внесении таких изменений может учитываться индекс гидропатичности аминокислот. Важность индекса гидропатичности аминокислоты для обеспечения интерактивной биологической функции полипептида общепризнанна в данной области. Известно, что некоторые аминокислоты могут быть заменены другими аминокислотами, имеющими аналогичный индекс или показатель гидропатичности, и все же привести к полипептиду с аналогичной биологической активностью. Каждой аминокислоте был присвоен индекс гидропатичности на основе ее характеристик гидрофобности и заряда. Эти показатели следующие: изолейцин (+4,5); валин (+4,2); лейцин (+3,8); фенилаланин (+2,8); цистеин/цистин (+2,5); метионин (+1,9); аланин (+1,8); глицин (-0,4); треонин (-0,7); серин (-0,8); триптофан (-0,9); тирозин (-1,3); пролин (-1,6); гистидин (-3,2); глутамат (-3,5); глутамин (-3,5); аспартат (-3,5); аспарагин (-3,5); лизин (-3,9); и аргинин (-4,5).

[0085] Считается, что относительный гидропатический характер аминокислоты определяет вторичную структуру образующегося полипептида, которая, в свою очередь, определяет взаимодействие полипептида с другими молекулами, такими как ферменты, субстраты, рецепторы, антитела, антигены и кофакторы. В данной области техники известно, что аминокислоту можно заменить другой аминокислотой, имеющей аналогичный индекс гидропатичности, и все же получить функционально

эквивалентный полипептид. При таких изменениях предпочтительна замена аминокислот, индексы гидропатичности которых находятся в пределах ± 2 , особенно предпочтительны те, которые находятся в пределах ± 1 , и еще более предпочтительны те, которые находятся в пределах $\pm 0,5$.

[0086] Замена подобных аминокислот также может быть произведена на основе гидрофильности, в частности, когда биологический функционально эквивалентный полипептид или пептид, созданный таким образом, предназначен для использования в иммунологических применениях. Аминокислотным остаткам приписаны следующие значения гидрофильности: аргинин (+3,0); лизин (+3,0); аспартат (+3,0 ± 1); глутамат (+3,0 ± 1); серин (+0,3); аспарагин (+0,2); глютамин (+0,2); глицин (0); пролин (-0,5 ± 1); треонин (-0,4); аланин (-0,5); гистидин (-0,5); цистеин (-1,0); метионин (-1,3); валин (-1,5); лейцин (-1,8); изолейцин (-1,8); тирозин (-2,3); фенилаланин (-2,5); и триптофан (-3,4). Понятно, что аминокислоту можно заменить другой, имеющей такое же значение гидрофильности, и все же получить биологически эквивалентный и, в частности, иммунологически эквивалентный полипептид. При таких изменениях предпочтительна замена аминокислот, значения гидрофильности которых находятся в пределах ± 2 , особенно предпочтительны те, которые находятся в пределах ± 1 , и еще более предпочтительны те, которые находятся в пределах $\pm 0,5$.

[0087] Как уже указано, аминокислотные замены обычно основаны на относительном сходстве заместителей боковой цепи аминокислоты, например, на их гидрофобности, гидрофильности, заряде, размере и т.п. Типичные замены, которые принимают во внимание различные вышеуказанные характеристики, хорошо известны специалистам в данной области и включают (исходный остаток: типовая замена): (Ala: Gly, Ser), (Arg: Lys), (Asn: Gln, His), (Asp: Glu, Cys, Ser), (Gln: Asn), (Glu: Asp), (Gly: Ala), (His: Asn, Gln), (Ile: Leu, Val), (Leu: Ile, Val), (Lys: Arg), (Met: Leu, Tyr), (Ser: Thr), (Thr: Ser), (Trp: Tyr), (Tyr: Trp, Phe) и (Val: Ile, Leu). Таким образом, варианты осуществления настоящего изобретения рассматривают функциональные или биологические эквиваленты полипептида, как указано выше. В частности, модификации полипептидов могут включать варианты, имеющие приблизительно 50 %, 60 %, 70 %, 80 %, 90 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % или более идентичность последовательности к представляющему интерес полипептиду.

[0088] Термин «процент (%) идентичности последовательности» определяется как процент нуклеотидов или аминокислот в кандидатной последовательности, которые

идентичны нуклеотидам или аминокислотам в стандартной последовательности нуклеиновой кислоты, после выравнивания последовательностей и введения гэпов, если это необходимо, для достижения максимального процента идентичности последовательности. Выравнивание в целях определения процента идентичности последовательности может быть достигнуто различными способами, известными специалистам в данной области, например, с использованием общедоступного компьютерного программного обеспечения, такого как BLAST, BLAST-2, ALIGN, ALIGN-2 или Megalign (DNASTAR). Соответствующие параметры для измерения выравнивания, включая любые алгоритмы, необходимые для достижения максимального выравнивания по всей длине сравниваемых последовательностей, могут быть определены известными способами.

[0089] С точки зрения настоящего документа % идентичности последовательности данной последовательности С нуклеотидов или аминокислот относительно, с или против данной последовательности нуклеиновой кислоты D (которую можно альтернативно сформулировать как заданную последовательность С, которая имеет или содержит определенный % идентичности последовательности относительно, с или против заданной последовательности D) рассчитывается следующим образом:

$$100 \text{ умножить на дробь } W/Z,$$

где W представляет собой количество нуклеотидов или аминокислот, оцененных как идентичные совпадения с помощью программы выравнивания последовательностей в данном программном выравнивании С и D, и где Z представляет собой общее количество нуклеотидов или аминокислот в D. Понятно, что если длина последовательности С не равна длине последовательности D, то % идентичности последовательностей С по отношению к D не будет равен % идентичности последовательности D по отношению к С.

[0090] Термин «носитель» относится к органическому или неорганическому ингредиенту, природному или синтетическому, с которым активный ингредиент комбинируется для облегчения применения.

[0091] Термин «фармацевтически приемлемый» означает нетоксичный материал, который не влияет на эффективность биологической активности активных ингредиентов.

[0092] Термин «фармацевтически приемлемый носитель» означает один или несколько совместимых твердых или жидких наполнителей, разбавителей или инкапсулирующих веществ, которые пригодны для введения человеку или другому позвоночному животному.

[0093] Термины «эффективное количество» или «терапевтически эффективное количество» означают дозу, достаточную для проведения лечения расстройства, заболевания или состояния, которое лечат, или для иного обеспечения желаемого фармакологического и/или физиологического эффекта. Точная доза будет варьироваться в зависимости от множества факторов, таких как зависящие от субъекта переменные (например, возраст, состояние иммунной системы и т. д.), заболевание и проводимое лечение.

[0094] Термины «индивид», «индивидуум», «субъект» и «пациент» используются здесь взаимозаменяемо и относятся к млекопитающим, включая, но не ограничиваясь ими, людей, грызунов, таких как мыши и крысы, и других лабораторных животных.

[0095] В контексте данного документа термин «двигательный нейрон» относится к нейрону, клеточное тело которого расположено в двигательной области коры головного мозга, стволе головного мозга или спинном мозге, и чей аксон проецируется в спинной мозг или за пределы спинного мозга, чтобы прямо или косвенно контролировать эффекторные нервные отростки, в основном мышцы и железы.

II. СПОСОБЫ ЛЕЧЕНИЯ И ПРОФИЛАКТИКИ ЗАБОЛЕВАНИЯ ПОСРЕДСТВОМ МОДУЛЯЦИИ ПЕРЕДАЧИ СИГНАЛОВ AKT3

[0096] В настоящем документе раскрыты способы лечения и профилактики заболевания посредством модуляции передачи сигналов Akt3. Неограничивающие примеры заболевания включают нейродегенеративное заболевание, кахексию, анорексию, осложнение при ожирении, воспалительное заболевание, вирусно-индуцированную воспалительную реакцию, синдром войны в Персидском заливе, туберозный склероз, пигментный ретинит, отторжение трансплантата, рак, ишемическое повреждение ткани, травматическое повреждение ткани и их комбинация. В некоторых вариантах осуществления изобретения соединения, описанные в настоящем документе, модулируют передачу сигналов Akt3 и могут применяться для лечения различных других заболеваний и нарушений с подозрением на дисфункцию передачи сигналов PI3K/Akt.

[0097] В одном из вариантов осуществления изобретения раскрытые ингибиторы Akt3 можно вводить субъекту с диагнозом анорексия в количестве, эффективном для стимуляции адипогенеза и купирования экстремальной потери веса.

Модуляция Akt3 для лечения нейродегенеративных заболеваний

[0098] В одном из вариантов осуществления изобретения предложен способ лечения или профилактики нейродегенеративных заболеваний у субъекта, нуждающегося в этом, включающий введение субъекту композиции, содержащей модулятор Akt3 в количестве, эффективном для модуляции передачи сигналов Akt3 и лечения или задержки прогрессирования заболевания. Неограничивающие примеры нейродегенеративных заболеваний включают болезнь Паркинсона, болезнь Альцгеймера, боковой амиотрофический склероз, заболевание двигательных нейронов, болезнь Гентингтона, ВИЧ-индуцированную нейродегенерацию, болезнь с тельцами Леви, спинальную мышечную атрофию, прионную болезнь, спиноцереbellарную атаксию, семейную амилоидную полинейропатию и их комбинацию.

[0099] Нейродегенеративные заболевания возникают, когда нервные клетки в головном мозге или периферической нервной системе со временем теряют функцию и в конечном итоге умирают. При многих нейродегенеративных заболеваниях хроническое нейровоспаление способствует прогрессированию заболевания. Хотя современные методы лечения могут помочь облегчить некоторые физические или психические симптомы, связанные с нейродегенеративными заболеваниями, в настоящее время нет способов замедлить прогрессирование заболевания и нет известных способов лечения.

[0100] Хотя механизмы, вызывающие нейродегенеративные процессы, широко неизвестны, все больше данных свидетельствует о критической роли иммунитета и иммунной системы в патогенезе нейродегенеративных заболеваний, таких как болезнь Альцгеймера, болезнь Паркинсона, болезнь Гентингтона, рассеянный склероз, спинальная мышечная атрофия и боковой амиотрофический склероз (ALS). Регуляторные Т-клетки (Tregs) представляют собой подгруппу CD4⁺ Т-клеток, которые подавляют иммунные ответы и являются важными медиаторами аутоотолерантности и иммунного гомеостаза (Sakaguchi, *et al.*, *Cell*, 133, 775-787 (2008); полностью включено в настоящий документ в качестве ссылки). Несколько линий доказательств свидетельствуют о том, что Tregs играют важную роль в

прогрессировании нейродегенеративных заболеваний. Было обнаружено, что Akt3 модулирует супрессивную функцию естественных Tregs и поляризацию индуцированных Tregs и, следовательно, модуляция Akt3 в иммунных клетках может модулировать иммунные ответы. Более конкретно, активация Akt3 в иммунных клетках приводит к усилению иммуносупрессивных ответов, тогда как ингибирование Akt3 в иммунных клетках приводит к снижению иммуносупрессивных ответов. Не ограничиваясь какой-либо одной теорией, считается, что модуляцию передачи сигналов Akt3 в иммунных клетках можно использовать для лечения и профилактики нейродегенеративных заболеваний.

[0101] В одном варианте осуществления изобретения предложен способ лечения или профилактики нейродегенеративного заболевания у субъекта, нуждающегося в этом, путем введения субъекту активатора Akt3 в количестве, эффективном для индуцирования иммуносупрессивного ответа и лечения или замедления прогрессирования заболевания. В одном из вариантов осуществления изобретения активатор Akt3 модулирует иммунный ответ путем усиления супрессивной функции иммуносупрессивных клеток. В одном из вариантов осуществления изобретения Akt3 избирательно активируется в иммунных клетках. Приводимые в качестве примера иммунные клетки включают, среди прочих, Т-клетки, В-клетки, макрофаги и глиальные клетки, такие как астроциты, микроглии и олигодендроциты. В предпочтительном варианте Akt3 активируется в Tregs. Активаторы Akt3 можно также использовать для увеличения или стимуляции активности или продукции Tregs, увеличения продукции цитокинов, таких как IL-10, из Tregs, повышения дифференциации Tregs, увеличения количества Tregs или увеличения выживаемости Tregs.

[0102] Другой вариант осуществления изобретения относится к способу лечения или профилактики нейродегенеративного заболевания у субъекта, нуждающегося в этом, путем введения субъекту ингибитора Akt3 в количестве, эффективном для ингибирования иммуносупрессивного ответа и лечения или предотвращения прогрессирования заболевания. В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения ингибитор Akt3 модулирует иммунный ответ, уменьшая иммуносупрессивный ответ или усиливая иммуностимулирующий ответ. В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения Akt3 селективно ингибируется в иммунных клетках. Приводимые в качестве примера иммунные клетки включают,

помимо прочего, Т-клетки, В-клетки, макрофаги и глиальные клетки, такие как астроциты, микроглии и олигодендроциты. В предпочтительном варианте осуществления Akt3 ингибируется в Tregs.

1. Субъект подлежащий лечению

а. Амиотрофический боковой склероз (ALS)

[0103] В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения раскрыты модуляторы Akt3 могут лечить или предотвращать ALS. ALS, также называемый болезнью Лу Герига, представляет собой прогрессирующее нейродегенеративное заболевание, поражающее двигательные нейроны головного и спинного мозга. Симптомы ALS включают, помимо прочего, трудности с речью, глотанием, ходьбой, движением и дыханием. ALS обычно поражает мужчин и женщин в возрасте от 40 до 70 лет. Существует два разных типа ALS: спорадический и семейный. Спорадическая форма, которая является наиболее распространенной формой заболевания в США, составляет от 90 до 95 процентов всех случаев. Семейный ALS был связан с мутациями супер-оксиддисмутазы Cu/Zn (superoxide dismutase, SOD1). Было показано, что окислительный стресс, митохондриальная дисфункция, эксайтотоксичность, агрегация белков, стресс эндоплазматического ретикулума, нарушение аксонального транспорта, нарушение регуляции нейронально-глиальных взаимодействий и апоптоз способствуют повреждению двигательных нейронов в присутствии мутантной SOD1.

[0104] Не ограничиваясь какой-либо одной теорией, считается, что дисфункция Treg играет роль в развитии ALS, и введение модулятора Akt3 может лечить или предотвращать прогрессирование ALS. Было обнаружено, что у некоторых субъектов с быстро прогрессирующим ALS наблюдается дефицит Treg основного транскрипционного фактора FOXP3, что приводит к нарушению супрессивной функции Treg. В одном варианте предложен способ лечения ALS у субъекта, нуждающегося в этом, путем введения активатора Akt3 нуждающемуся в этом субъекту в количестве, эффективном для активации Akt3 в иммунных клетках и индукции иммуносупрессивных ответов. В предпочтительном варианте осуществления изобретения Akt3 активируется в Tregs.

[0105] В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения введение активаторов Akt3 субъекту с ALS замедляет прогрессирование заболевания и продлевает выживание субъекта.

[0106] Другие заболевания двигательных нейронов, которые можно лечить или предотвращать с помощью раскрытых активаторов Akt3, включают, среди прочих, прогрессирующий бульбарный паралич, псевдобульбарный паралич, первичный латеральный склероз, спинальную мышечную атрофию и постполиомиелитный синдром.

в. Болезнь Паркинсона

[0107] Болезнь Паркинсона является нейродегенеративным заболеванием, которое преимущественно поражает нейроны, вырабатывающие дофамин в определенной области мозга, называемой черной субстанцией. Болезнь Паркинсона представляет собой прогрессирующее заболевание, которое со временем прогрессирует по мере того, как большее количество нейронов повреждается или умирает. Причина гибели нейронов при болезни Паркинсона неизвестна. Симптомы болезни Паркинсона включают, помимо прочего, тремор рук, верхних конечностей, ног, челюсти или головы, ригидность конечностей и туловища, замедленность движений и нарушение равновесия и координации.

[0108] В одном из вариантов осуществления изобретения предложен способ лечения болезни Паркинсона путем введения модулятора Akt3 субъекту, нуждающемуся в этом, в количестве, эффективном для активации или ингибирования Akt3 в иммунных клетках и индукции иммуносупрессивного ответа. В одном из вариантов осуществления изобретения введение активаторов Akt3 субъекту с болезнью Паркинсона замедлит или остановит прогрессирование заболевания в незатронутых областях головного мозга.

[0109] В одном из вариантов осуществления изобретения раскрытые активаторы Akt3 можно вводить субъекту профилактически, если у субъекта имеется семейный анамнез болезни Паркинсона или других нейродегенеративных заболеваний. Активаторы Akt3 могут защищать нейроны от развития заболевания или замедлять развитие заболевания.

с. Болезнь Гентингтона

[0110] Болезнь Гентингтона представляет собой прогрессирующее нейродегенеративное заболевание. Заболевание характеризуется прогрессирующим разрушением нервных клеток головного мозга. Симптомы болезни Гентингтона включают, помимо прочего, проблемы с произвольными движениями и нарушения

произвольного движения, такие как непроизвольное подергивание, ригидность мышц, медленные или не соответствующие норме движения глаз, нарушение ходьбы, осанки и равновесия, трудность с физическим воспроизведением речи или глотанием; когнитивные нарушения, такие как трудность с организацией, расстановкой приоритетов или сосредоточением внимания на задачах, отсутствие гибкости или тенденция заикливаться на мысли, поведении или действии, отсутствие импульсивного контроля, отсутствие осознания собственного поведения и способностей, медлительность в обработке мыслей или поиске слов, а также трудности в изучении новой информации; и психические расстройства, такие как депрессия. В одном из вариантов осуществления изобретения раскрытые модуляторы Akt3 могут ослаблять или замедлять прогрессирование симптомов болезни Гентингтона.

[0111] В одном из вариантов осуществления изобретения предложен способ лечения болезни Гентингтона у нуждающегося в этом субъекта путем введения субъекту модулятора Akt3 в количестве, эффективном для активации или ингибирования Akt3 в иммунных клетках и индукции иммуносупрессивного ответа. В одном из вариантов осуществления изобретения модуляторы Akt3 могут замедлять или останавливать прогрессирование симптомов заболевания у субъектов с болезнью Гентингтона. В другом варианте осуществления изобретения модуляторы Akt3 могут изменять баланс Treg/Th17.

[0112] Болезнь Гентингтона в значительной степени генетическая; каждый ребенок родителей с болезнью Гентингтона имеет шанс 50/50 унаследовать болезнь. В одном из вариантов осуществления изобретения субъектам с семейным анамнезом болезни Гентингтона можно профилактически вводить один из раскрытых модуляторов Akt3 до появления симптомов заболевания для предотвращения или замедления проявления симптомов заболевания.

d. Болезнь Альцгеймера

[0113] Болезнь Альцгеймера представляет собой прогрессирующее заболевание, которое вызывает дегенерацию клеток головного мозга и в конечном итоге к их умиранию. Болезнь Альцгеймера является наиболее распространенной причиной слабоумия — постоянного снижения мыслительных, поведенческих и социальных навыков, которое нарушает способность человека функционировать независимо. Симптомы болезни Альцгеймера включают, помимо прочего, потерю памяти, нарушение мышления и способности рассуждать, трудности в принятии суждений и

решений, а также изменения личности и поведения. Хотя точная причина болезни Альцгеймера до конца не выяснена, считается, что основной проблемой является дисфункциональность мозговых белков, которые нарушают функцию нейронов и вызывают ряд токсических явлений. Повреждение чаще всего начинается в области мозга, отвечающей за память, но процесс начинается за годы до появления первых симптомов. Потеря нейронов распространяется по несколько предсказуемой схеме на другие области мозга. К поздней стадии болезни мозг значительно уменьшается. Бета-амилоидные бляшки и сплетения тау-белков чаще всего связаны с целым рядом повреждений и дисфункциональностью нейронов при болезни Альцгеймера.

[0114] В одном из вариантов осуществления изобретения предложен способ лечения болезни Альцгеймера у субъекта путем введения субъекту активатора Akt3 в количестве, эффективном для активации Akt3 в Tregs и активации нисходящих нейротрофических путей в головном мозге. В другом варианте осуществления изобретения субъектам вводят эффективное количество активатора Akt3 для уменьшения или устранения симптомов болезни Альцгеймера или для замедления прогрессирования заболевания.

[0115] В другом варианте осуществления изобретения предложен способ лечения или предотвращения прогрессирования болезни Альцгеймера у субъекта путем введения субъекту ингибитора Akt3 в количестве, эффективном для ингибирования Akt3 в Tregs и индукции иммунного ответа или снижения иммуносупрессивного ответа. В одном из вариантов осуществления изобретения ингибирование Akt3 в Tregs приводит к удалению бета-амилоидных бляшек, ослаблению нейровоспалительной реакции и устранению снижения интеллекта.

[0116] В одном из вариантов осуществления изобретения субъектам с семейным анамнезом болезни Альцгеймера можно профилактически вводить модулятор Akt3 для предотвращения или замедления проявления болезни Альцгеймера.

е. Спинальная мышечная атрофия

[0117] Спинальная мышечная атрофия (spinal muscular atrophy, SMA) представляет собой группу хронических нервно-мышечных заболеваний, характеризующихся прогрессирующей потерей моторных нейронов и атрофией мышц. SMA обычно классифицируют по четырем типам, которые различаются по степени тяжести и этапу развития, во время которого проявляется заболевание. Этими типами являются:

SMA 1 или болезнь Верднига-Гоффмана, которая проявляется в возрасте 0–6 месяцев («младенческая» SMA);

SMA 2 или болезнь Дубовица, которая проявляется в возрасте 6-18 месяцев («промежуточная» SMA);

SMA 3 или болезнь Кугельберга-Веландера, которая проявляется в возрасте старше 1 года («ювенильная» SMA); и

SMA 4, которая проявляется во взрослом возрасте («приобретенная» SMA).

Наиболее тяжелую форму SMA 1 иногда называют SMA 0 («тяжелая младенческая» SMA). Признаки и симптомы SMA варьируются в зависимости от типа, но наиболее распространенные включают, помимо прочего, слабость или склонность к шатанию, трудности с сидением, стоянием или ходьбой, потерю силы в дыхательной мускулатуре, подергивания и трудности с приемом пищи и глотанием. Все типы SMA были связаны с делецией экзона и/или точечными мутациями в гене *SMN1*, препятствующем экспрессии белка SMN. В зависимости от типа SMA можно лечить с помощью различных методов генной терапии, вспомогательного питания и дыхания, ортопедии и их комбинаций. Нейропротекторные препараты перспективны как способ стабилизации потери двигательных нейронов, но возможные в настоящее время кандидаты еще не прошли клинические испытания. Следовательно, для лечения SMA необходимо больше нейропротекторных препаратов-кандидатов.

[0118] В одном из вариантов осуществления изобретения предложен способ лечения SMA у субъекта путем введения субъекту активатора Akt3 в количестве, эффективном для обеспечения выживания двигательных нейронов. В другом варианте осуществления изобретения субъектам вводят эффективное количество активатора Akt3 для уменьшения или устранения симптомов SMA или для замедления прогрессирования заболевания.

Ингибирование Akt3 для лечения экстремальной потери веса

[0119] В настоящем документе раскрыты способы лечения или предотвращения экстремальной потери веса, связанной с заболеваниями и расстройствами, такими как кахексия и анорексия. Приводимый в качестве примера способ включает ингибирование Akt3 у нуждающихся в этом субъектов. Не ограничиваясь какой-либо одной теорией, считается, что Akt3 играет важную роль в адипогенезе. Белый адипогенез требует активации транскрипционного каскада, включающего

последовательную индукцию ряда факторов транскрипции, включая, помимо прочего, FOXO1, несколько членов семейства C/EBP и PPAR γ . FOXO1 является важным отрицательным регулятором адипогенеза и в основном контролируется посредством фосфорилирования/ацетилирования множества остатков с помощью ферментов, включая Akt. FOXO1 также может контролироваться серин/треониновой протеинкиназой (serine/threonine protein kinase SGK1). SGK1 находится в прямом направлении PI3K и может ингибировать FOXO1 при фосфорилировании. SGK1 регулируется серин/треониновой протеинкиназой WNK1, которая также может регулироваться Akt и SGK1. Akt3 подавляет адипогенез посредством фосфорилирования WNK1, приводя к подавлению активности SGK1 и опосредованному SGK-1 ингибированию FOXO1. В одном из вариантов осуществления изобретения ингибирование Akt3 в Tregs может способствовать адипогенезу и устранить потерю веса, вызванную заболеванием.

1. Субъекты подлежащие лечению

а. Кахексия

[0120] Кахексия или синдром истощения, является мультифакториальным синдромом, характеризующимся продолжающейся потерей скелетной мышцы, которая не может быть полностью устранена с помощью обычного искусственного питания и приводит к прогрессирующему функциональному нарушению. Кахексия настолько разрушительна, что подключаются другие источники энергии, а именно скелетная мышца и жировая ткань, когда организм чувствует недостаток питания. Это связано со снижением способности бороться с инфекцией, переносимости лечения, ответа на терапию, качества жизни и продолжительности выживания.

[0121] В одном из вариантов осуществления изобретения кахексия вызвана хроническим заболеванием, среди прочего включающим в себя СПИД, глютенную болезнь, хроническую обструктивную болезнь легких, рассеянный склероз, ревматоидный артрит, застойную сердечную недостаточность, туберкулез, семейную амилоидную полиневропатию, болезнь Крона, оставленный без лечения и тяжелый диабет 1 типа, нервную анорексию, гипертиреоз и гормональную недостаточность.

[0122] В одном из вариантов осуществления изобретения предложен способ лечения кахексии у субъекта, нуждающегося в этом, путем введения субъекту ингибитора Akt3 в количестве, эффективном для уменьшения симптомов кахексии. В другом варианте осуществления изобретения предложен способ стимуляции

увеличения веса у субъекта, нуждающегося в этом, путем введения субъекту ингибитора Akt3 в количестве, эффективном для активирования адипогенеза у субъекта. В некоторых вариантах осуществления изобретения раскрытое в настоящем документе соединение применяют для лечения кахексии путем модуляции Akt3, а не путем модуляции Т-регуляторных клеток.

[0123] В одном из вариантов осуществления изобретения субъекту, подозреваемому в предрасположенности к кахексии (например, субъекты, у которых были диагностированы другие заболевания), можно профилактически вводить ингибитор Akt3 для предотвращения или замедления проявления синдрома кахексии.

b. Анорексия

[0124] Нервная анорексия представляет собой пищевое расстройство, характеризующееся потерей веса или отсутствием прибавления веса у растущих детей, трудностями в поддержании массы тела, соответствующей росту, возрасту и телосложению, и часто искаженным представлением о своем теле. Одной из первых целей лечения анорексии является восстановление нормальной массы тела. В некоторых вариантах осуществления изобретения соединение формулы I, раскрытое в настоящем документе, ингибирует Akt3, которая была сверхактивирована эстрадиолом, уровни которого повышены у субъектов с анорексией. В некоторых вариантах осуществления изобретения соединение формулы I, раскрытое в настоящем документе, можно использовать для лечения анорексии.

Модуляция Akt3 для лечения ожирения и осложнений при ожирении

[0125] В некоторых вариантах осуществления изобретения раскрытое в настоящем документе соединение, модулирующее Akt3, используется для лечения ожирения и/или осложнений при ожирении. В некоторых вариантах осуществления изобретения осложнение при ожирении выбрано из группы, состоящей из нарушения толерантности к глюкозе, стеатоза печени, дислипидемии и их комбинации. В некоторых вариантах осуществления изобретения раскрытое в настоящем документе соединение используется для лечения ожирения и/или осложнений при ожирении путем модуляции Akt3, а не путем модуляции Т-регуляторных клеток.

Модуляция Akt3 для лечения воспалительных заболеваний

[0126] Передача сигналов Akt3 была связана с хроническим или острым воспалением, которое способствует воспалительным заболеваниям. В одном из вариантов осуществления изобретения предложен способ лечения или профилактики воспалительного заболевания у субъекта, нуждающегося в этом, включающий введение субъекту композиции, содержащей модулятор Akt3 в количестве, эффективном для модуляции передачи сигналов Akt3 и лечения или замедления прогрессирования заболевания. В некоторых вариантах осуществления изобретения модулятор Akt3 активирует передачу сигналов Akt3 и/или увеличивает активность или продукцию Treg, приводя к иммуносупрессивному эффекту.

[0127] Неограничивающие примеры воспалительного заболевания включают atopический дерматит, аллергию, астму и их комбинацию.

Модуляция Akt3 для лечения вирусной воспалительной реакции

[0128] Передача сигналов Akt3 была связана с острыми иммунными реакциями, которые способствуют вирусным воспалительным заболеваниям, таким как тяжелый острый респираторный синдром (severe acute respiratory syndrome, «SARS») и коронавирусная болезнь 2019 («COVID-19»). Следовательно, в одном из вариантов осуществления изобретения способ лечения воспалительного заболевания, вызванного вирусом, у субъекта, нуждающегося в этом, включает введение субъекту модулятора Akt3 в количестве, эффективном для устранения или замедления прогрессирования заболевания.

Модуляция Akt3 для лечения рака

[0129] В некоторых вариантах осуществления изобретения предложен способ лечения или профилактики рака у нуждающегося в этом субъекта, включающий модуляцию передачи сигналов Akt3 путем введения субъекту эффективного количества соединения, раскрытого в настоящем документе. В некоторых вариантах осуществления изобретения соединение, описанное в настоящем документе, ингибирует передачу сигналов Akt3 и/или снижает активность или продукцию Treg, приводя к эффекту, активирующему иммунный ответ.

[0130] В некоторых вариантах осуществления изобретения рак выбран из группы, состоящей из Т-клеточного лейкоза/лимфомы взрослых, рака мочевого пузыря, рака головного мозга, рака молочной железы, рака шейки матки, колоректального рака, рака пищевода, рака почки, рака печени, рака легких, рака носоглотки, рака поджелудочной

железы, рака предстательной железы, рака кожи, рака желудка, рака матки, рака яичников, рака яичек и их комбинации.

[0131] В некоторых вариантах осуществления изобретения соединения и композиции, раскрытые в настоящем документе, применимы для лечения лейкемии. В некоторых вариантах осуществления изобретения соединения и композиции, раскрытые в настоящем документе, которые ингибируют Akt3, применимы для лечения лейкемии. В этих вариантах осуществления изобретения, описанные в настоящем документе соединения и композиции, которые ингибируют Akt3, применимы *in vivo* и *ex vivo* в качестве терапевтических средств, стимулирующих иммунный ответ. Способность ингибировать Akt3 и тем самым ингибировать или уменьшать опосредованную Treg иммуносупрессию обеспечивает более устойчивый иммунный ответ. В некоторых вариантах осуществления изобретения соединения и композиции, раскрытые в настоящем документе, также применимы для стимуляции или усиления иммуностимулирующих или активирующих ответов с участием Т-клеток. В некоторых вариантах осуществления изобретения соединения и композиции, раскрытые в настоящем документе, применимы для стимуляции или усиления иммунного ответа у хозяина для лечения лейкемии путем селективного ингибирования Akt3. В этих вариантах осуществления изобретения соединения и композиции, раскрытые в настоящем документе, можно вводить субъекту в количестве, эффективном для стимуляции Т-клеток у субъекта. Типы лейкозов, которые можно лечить соединениями и композициями, раскрытыми в настоящем документе, включают, но не ограничиваются ими, острый миелоидный лейкоз (acute myeloid leukemia, AML), хронический миелоидный лейкоз (chronic myeloid leukemia, CML), острый лимфоцитарный лейкоз (acute lymphocytic leukemia, ALL), хронический лимфоцитарный лейкоз (chronic lymphocytic leukemia, CLL), Т-клеточный лейкоз/лимфому взрослых (adult T-cell leukemia/lymphoma, ATLL) и хронический миеломоноцитарный лейкоз (chronic myelomonocytic leukemia, CMML).

[0132] В некоторых вариантах осуществления изобретения ATLL диагностируется почти исключительно у взрослых со средним возрастом около 60 лет. В некоторых вариантах осуществления изобретения существует четыре типа ATLL: (1) острый, (2) хронический, (3) тлеющий и (4) лимфоматозный. В некоторых вариантах осуществления изобретения острый ATLL является наиболее распространенной формой и характеризуется высоким уровнем лейкоцитов, гиперкальциемией, органомегалией и высоким уровнем лактозодегидрогеназы. В некоторых вариантах

осуществления изобретения лимфоматозный ATLL проявляется в лимфатических узлах с менее чем 1 % циркулирующих лимфоцитов. В некоторых вариантах осуществления изобретения хронический и тлеющий ATLL характеризуются менее агрессивным клиническим течением и обеспечивает длительную выживаемость. В некоторых вариантах осуществления изобретения четырехлетняя выживаемость при остром и лимфоматозном ATLL составляет менее 5 %. В некоторых вариантах осуществления изобретения хроническая и тлеющая формы ATLL имеют четырехлетнюю выживаемость, составляющую 26,9% и 62% соответственно. В некоторых вариантах осуществления изобретения Т-клеточный лейкоз/лимфома взрослых вызывается человеческим Т-клеточным лимфотропным вирусом (human T-cell lymphotropic virus, HTLV-1).

[0133] В некоторых вариантах осуществления изобретения соединения и композиции, раскрытые в настоящем документе, применимы для лечения ATLL. В некоторых вариантах осуществления изобретения раскрытые здесь соединения и композиции, которые ингибируют Akt3, применимы для лечения ATLL. В некоторых вариантах осуществления изобретения Tregs, экспрессирующие CD25 и FoxP3, могут трансформироваться в клетки ATLL. В некоторых вариантах осуществления изобретения клетки ATLL демонстрируют фенотип активированных Т-хелперов, но проявляют сильную иммуносупрессивную активность. В некоторых вариантах осуществления изобретения соединения и композиции, описанные в настоящем документе, которые ингибируют Akt3, снижают иммуносупрессивный ответ клеток ATLL. В других вариантах осуществления изобретения соединения и композиции, раскрытые в настоящем документе, которые ингибируют Akt3, усиливают иммуностимулирующий ответ для преодоления сильной иммуносупрессивной активности клеток ATLL.

[0134] В некоторых вариантах осуществления изобретения соединения и композиции, раскрытые в настоящем документе, которые применимы для лечения лейкемии или ATLL, снижают или ингибируют иммуносупрессивный ответ, среди прочего, включающий в себя иммуносупрессивную функцию природных клеток Treg (nTreg) и индукцию обычных Т-клеток в индуцированные Treg (iTreg). В этих вариантах осуществления изобретения иммуносупрессивная функция клеток nTreg, которая снижена или ингибирована, представляет собой секрецию одного или нескольких противовоспалительных цитокинов, среди прочего включающих в себя IL10, TGFβ или их комбинации. В некоторых вариантах осуществления изобретения

способы лечения лейкемии или Т-клеточного лейкоза/лимфомы взрослых включают введение субъекту второго активного агента, среди прочего, включающего в себя лекарство от тошноты, химиотерапевтическое средство или потенцирующее средство (например, циклофосфамид).

Другие показания

[0135] В некоторых вариантах осуществления изобретения соединение, раскрытое в настоящем документе, модулирует Akt3 и используется для лечения синдрома войны в Персидском заливе, туберозного склероза, пигментного ретинита или отторжения трансплантата. В некоторых вариантах осуществления изобретения отторжение трансплантата представляет собой болезнь «трансплантат против хозяина». В некоторых вариантах осуществления изобретения раскрытое в настоящем документе соединение применяют для лечения пигментного ретинита путем модуляции Akt3, а не путем модуляции Т-регуляторных клеток. В некоторых вариантах осуществления изобретения соединение, раскрытое в настоящем документе, используется для лечения ишемического повреждения ткани или травматического повреждения ткани. В некоторых вариантах осуществления изобретения ишемическое повреждение ткани или травматическое повреждение ткани представляет собой ишемическое повреждение ткани или травматическое повреждение ткани головного мозга.

III. СПОСОБЫ МОДУЛЯЦИИ АКТ3

[0136] Akt3, также называемая RAC-гамма-серин/треонин-протеинкиназой, представляет собой фермент, который у человека кодируется геном *Akt3*. Известно, что Akt киназы являются регуляторами клеточной передачи сигналов в ответ на инсулин и факторы роста и связаны с широким спектром биологических процессов, включая клеточную пролиферацию, дифференциацию, апоптоз и онкогенез, а также синтез гликогена и поглощение глюкозы. Было показано, что Akt3 стимулируется тромбоцитарным фактором роста (platelet-derived growth factor, PDGF), инсулином и инсулиноподобным фактором роста 1 (insulin-like growth factor 1, IGF1).

[0137] Активность Akt3 киназы опосредует фосфорилирование серина и/или треонина целого ряда последующих субстратов. Последовательности нуклеиновых кислот для Akt3 известны в данной области. См., например, номер доступа в Genbank AF124141.1: *Homo sapiens protein kinase B gamma mRNA* (Гамма-мРНК протеинкиназы В Гомо сапиенс), полная кодирующая последовательность, которая полностью

включена посредством ссылки и обеспечивает приведенную ниже последовательность нуклеиновой кислоты:

AGGGGAGTCATCATGAGCGATGTTACCATTTGTGAAGGAAGGTTGGGTTTCAGAAGAGGGGA
GAATATATAAAAACTGGAGGCCAAGATACTTCCTTTTGAAGACAGATGGCTCATTCATA
GGATATAAAGAGAAACCTCAAGATGTGGATTTACCTTATCCCCTCAACAACTTTTCAGTG
GCAAAATGCCAGTTAATGAAAACAGAACGACCAAAGCCAAACACATTTATAATCAGATGT
CTCCAGTGGACTACTGTTATAGAGAGAACATTTTCATGTAGATACTCCAGAGGAAAGGGAA
GAATGGACAGAAGCTATCCAGGCTGTAGCAGACAGACTGCAGAGGCAAGAAGAGGAGAGA
ATGAATTGTAGTCCAACCTTCACAAATTGATAATATAGGAGAGGAAGAGATGGATGCCTCT
ACAACCCATCATAAAAGAAAGACAATGAATGATTTTGACTATTTGAACTACTAGGTAAA
GGCACTTTTGGGAAAGTTATTTTGGTTCGAGAGAAGGCAAGTGGAAAATACTATGCTATG
AAGATTCTGAAGAAAGAAGTCATTATTGCAAAGGATGAAGTGGCACACACTCTAACTGAA
AGCAGAGTATTAAAGAACACTAGACATCCCTTTTTAACATCCTTGAAATATTCCTTCCAG
ACAAAAGACCGTTTGTGTTTTGTGATGGAATATGTTAATGGGGGCGAGCTGTTTTTCCAT
TTGTGAGAGAGCGGGTGTCTCTGAGGACCGCACACGTTTCTATGGTGCAGAAATTGTC
TCTGCCTTGGACTATCTACATTCGCGAAAGATTGTGTACCGTGATCTCAAGTTGGAGAAT
CTAATGCTGGACAAAGATGGCCACATAAAAATTACAGATTTTGGACTTTGCAAAGAAGGG
ATCACAGATGCAGCCACCATGAAGACATTCTGTGGCACTCCAGAATATCTGGCACCAGAG
GTGTTAGAAGATAATGACTATGGCCGAGCAGTAGACTGGTGGGGCCTAGGGGTTGTCATG
TATGAAATGATGTGTGGGAGGTTACCTTTCTACAACCAGGACCATGAGAACTTTTTGAA
TTAATATTAATGGAAGACATTAAATTTCTCGAACACTCTCTTCAGATGCAAAATCATTG
CTTTTCAGGGCTCTTGATAAAGGATCCAAATAAACGCCTTGGTGGAGGACCAGATGATGCA
AAAGAAATTATGAGACACAGTTTCTTCTCTGGAGTAACTGGCAAGATGTATATGATAAA
AAGCTTGTAACCTCCTTTTAAACCTCAAGTAACATCTGAGACAGATACTAGATATTTTGAT
GAAGAATTTACAGCTCAGACTATTACAATAACACCACCTGAAAAATATGATGAGGATGGT
ATGGACTGCATGGACAATGAGAGGCGGCCGATTTCCCTCAATTTTCTACTCTGCAAGT
GGACGAGAATAAGTCTCTTTTCACTTCTGCTACTTCACTGTCATCTTCAATTTATTACTGAA
AATGATTCTTGACATCACCAGTCCTAGCTCTTACACATAGCAGGGGCACCTTCCGACAT
CCCAGACCAGCCAAGGGTCTCACCCCTCGCCACCTTTCACCCCTCATGAAAACACACATA
CACGCAAATACACTCCAGTTTTTGTGTTTTGTCATGAAATTGTATCTCAGTCTAAGGTCTCA
TGCTGTTGCTGCTACTGTCTTACTATTA

(SEQ ID NO:1).

[0138] Аминокислотные последовательности также известны в данной области. См., например, UniProtKB/Swiss-Prot номер доступа Q9Y243 (Akt3_HUMAN), которая полностью включена посредством ссылки и обеспечивает приведенную ниже аминокислотную последовательность:

```
MSDVTIVKEGWVQKRGEYIKNWRPRYFLLKTDGSFIGYKEKPQDVDLPYPLNDFSVAKCQ
LMKTERPKPNTFIIRCLQWTTVIERTFHVDTPEREEREWTEAIQAVADRLQRQEEERMNCS
PTSQIDNIGEEEMDASTTHNKRKTMNDFDYLLKLLGKGTFGKVILVREKASGKYYAMKILK
KEVIIAKDEVAHTLTESRVLKNTRHPFLTSLKYSFQTKDRLCFVMEYVNGGELFFHLSRE
RVFSEDRTRFYGAIEIVSALDYLSHGKIVYRDLKLENLMLDKDGHKITDFGLCKEGITDA
ATMKTFCGTPEYLAPEVLEDNDYGRAVDWGLGVVMYEMMCGRLPFYNQDHEKLFELILM
EDIKFPRTLSSDAKSLLSGLLIKDPNKRLGGGPDDAKEIMRHSFFSGVNWQDVYDKKLVP
PFPKQVTSSETDTRYFDDEEFTAQTITITTPPEKYDEDGMDCMDNERRPHFPQFSYSASGRE
```

(SEQ ID NO:2).

[0139] Структура домена Akt3 рассмотрена в Romano, *Scientifica*, Volume 2013 (2013), Article ID 317186, 12 pages (полностью включено в настоящий документ посредством ссылки) и включает N-концевой плекстрин-гомологичный домен (РН), за которым следует каталитический киназный домен (kinase domain, KD) и С-концевая регуляторная гидрофобная область. Каталитический и регуляторный домены оба важны для биологических действий, опосредованных протеинкиназами Akt, и проявляют максимальную степень гомологии среди трех изоформ Akt. Домен РН связывает липидные субстраты, такие как фосфатидилинозитол(3,4)дифосфат (PIP2) и фосфатидилинозитол(3,4,5)трифосфат (PIP3). Сайт связывания АТР расположен примерно в середине каталитического киназного домена, который имеет значительную степень гомологии с другими компонентами семейства киназ AGC, такими как киназа р70 S6 (S6K) и рибосомальная р90 киназа S6 (RSK), протеинкиназа А (PKA) и протеинкиназа В (PKB). Гидрофобная регуляторная часть является типичной особенностью семейства киназ AGC. Что касается SEQ ID NO: 2, обычно считается, что Akt 3 имеет молекулярный процессинг и доменную структуру, описанную ниже.

Молекулярный
процессинг:

Ключевые характеристики	Позиция(и)	Длина	Описание
Иницирующий метионин	1	1	Удаленный
Цепь	2 – 479	478	Akt3
<i>Области:</i>			
Ключевые характеристики	Позиция(и)	Длина	Описание
Домен	5 – 107	103	RH
Домен	148 – 405	258	Протеинкиназа
Домен	406 – 479	74	C-концевая AGC-киназа
Нуклеотид-связывающий	154 – 162	9	АТФ
<i>Сайты:</i>			
Ключевые характеристики	Позиция(и)	Длина	Описание
Активный сайт	271	1	Акцептор протона
Связывающий сайт	177	1	АТФ

[0140] Иницирующий метионин SEQ ID NO:2 является одноразовым для функции Akt3. Следовательно, в некоторых вариантах осуществления изобретения соединение прямо или косвенно модулирует экспрессию или биодоступность Akt3, имеющую следующую аминокислотную последовательность:

SDVTIVKEGWVQKRGEYIKNWRPRYFLLKTDGSFIGYKEKPQDVDLPYPLNDFSVAKCQ
 LMKTERPKPNTFIIRCLQWTTVIERTFHVDTPEREEREWTEAIQAVADRLQRQEEERMNCS
 PTSQIDNIGEEEMDASTTHHKRKTMNDFDYLLKLLGKGTFGKVILVREKASGKYAMKILK
 KEVIIAKDEVAHTLTESRVLKNTRHPFLTSLKYSFQTKDRLCFVMEYVNGGELFFHLSRE
 RVFSEDRTRFYGAIEIVSALDYLSHGKIVYRDLKLENLMLDKDGHKITDFGLCKEGITDA
 ATMKTFCGTPEYLAPEVLEDNDYGRAVDWWGLGVVMYEMMCGRLPFYNQDHEKLFELIIM
 EDIKFPRTLSSDAKSLLSGLLIKDPNKRLGGGPDDAKEIMRHSFFSGVNWQDVYDKKLVP
 PFKPQVTSETDTRYFDDEEFTAQTITITPPEKYDEDGMDCMDNERRPHFPQFSYSASGRE

(SEQ ID NO:3).

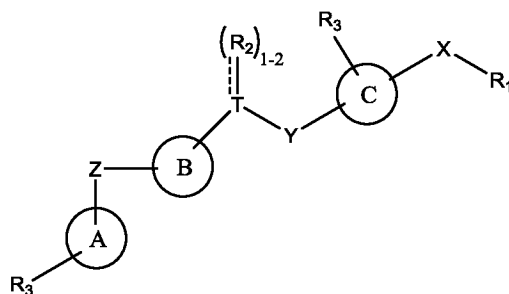
[0141] Для полной активации Akt3 необходимо фосфорилировать два специфических сайта, один в киназном домене (Thr-305 из SEQ ID NO:2), а другой в С-концевой регуляторной области (Ser-472 из SEQ ID NO:2). Взаимодействие между доменом РН Akt3 и TCL1A усиливает фосфорилирование и активацию Akt3. IGF-1 приводит к активации Akt3, которая может играть роль в регуляции выживания клеток.

[0142] В настоящем описании раскрыты композиции и способы их применения для селективной модуляции активности Akt3. Также описаны способы применения раскрытых модуляторов Akt3 для лечения или профилактики различных заболеваний.

А. Соединения активаторов Akt3

[0143] В данном изобретении представлены композиции для селективной активации Akt3. Приводимые в качестве примеров активаторы Akt3 описаны в международной заявке № PCT/US2018/49715 (полностью включенной в настоящий документ посредством ссылки) и описаны ниже.

[0144] Один из вариантов осуществления изобретения обеспечивает соединение формулы I:



Формула I

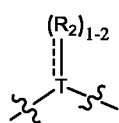
или его фармацевтически приемлемый энантиомер, соль или сольват, в котором:

кольца А, В и С независимо представляют собой шестичленные арильные или N-содержащие гетероарильные моно- или бициклические кольцевые системы, содержащие ноль или более атомов N, такие как фенил, пиридин, пиримидин, пиридазин, пиазин, триазин, хинолин, хиназолин, изохинолин, нафталин, нафтиридин, индол, изоиндол, циннолин, фталазин, хиноксалин, птеридин, пурин и бензимидазол;

R₁ выбран из -(C₁-C₃₀)-алкил, -(C₃-C₁₂)-циклоалкил, -(C₃-C₁₂)-гетероциклоалкил, -(C₆-C₂₀)-арил или -(C₃-C₂₀)-гетероарил-групп, необязательно замещенных одним или несколькими заместителями, выбранными из -(C₁-C₁₂)-алкил, -(C₃-C₁₂)-циклоалкил, -

(C₃-C₁₂)-гетероциклоалкил, -O-(C₁-C₁₂)-алкил, -O-(C₁-C₁₂)-алкил-(C₆-C₂₀)-арил, -O-(C₃-C₁₂)-циклоалкил, -S-(C₁-C₁₂)-алкил, -S-(C₃-C₁₂)-циклоалкил, -COO-(C₁-C₁₂)-алкил, -COO-(C₃-C₁₂)-циклоалкил, -CONH-(C₁-C₁₂)-алкил, -CONH-(C₃-C₁₂)-циклоалкил, -CO-(C₁-C₁₂)-алкил, -CO-(C₃-C₁₂)-циклоалкил, -N-[(C₁-C₁₂)-алкил]₂, -(C₆-C₂₀)-арил, -(C₆-C₂₀)-арил-(C₁-C₁₂)-алкил, -(C₆-C₂₀)-арил-O-(C₁-C₁₂)-алкил, -(C₃-C₂₀)-гетероарил, -(C₃-C₂₀)-гетероарил-(C₁-C₁₂)-алкил, -(C₃-C₂₀)-гетероарил-O-(C₁-C₁₂)-алкил, -COOH, -OH, -SH, -SO₃H, -CN, -NH₂-групп или атома галогена;

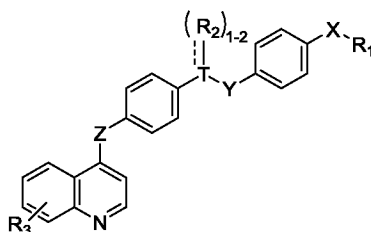
X, Y и Z независимо выбраны из =O, -NH, -S, -N-(C₁-C₃₀)-алкил или -(C₁-C₃₀)-арил-групп;



представляет собой -CH((C₁-C₃₀)-алкил)-, -(C=O)-, -CH(OH), -SO₂-, -SO- или -CH(SOCH₃)-группы; и

R₃ выбран из -(C₁-C₃₀)-алкил, -(C₃-C₁₂)-циклоалкил, -(C₃-C₁₂)-гетероциклоалкил, -(C₆-C₂₀)-арил или -(C₃-C₂₀)-гетероарил-групп, необязательно замещенных одним или несколькими заместителями, выбранными из -(C₁-C₁₂)-алкил, -(C₃-C₁₂)-циклоалкил, -(C₃-C₁₂)-гетероциклоалкил, -O-(C₁-C₁₂)-алкил, -O-(C₁-C₁₂)-алкил-(C₆-C₂₀)-арил, -O-(C₃-C₁₂)-циклоалкил, -S-(C₁-C₁₂)-алкил, -S-(C₃-C₁₂)-циклоалкил, -COO-(C₁-C₁₂)-алкил, -COO-(C₃-C₁₂)-циклоалкил, -CONH-(C₁-C₁₂)-алкил, -CONH-(C₃-C₁₂)-циклоалкил, -CO-(C₁-C₁₂)-алкил, -CO-(C₃-C₁₂)-циклоалкил, -N-[(C₁-C₁₂)-алкил]₂, -(C₆-C₂₀)-арил, -(C₆-C₂₀)-арил-(C₁-C₁₂)-алкил, -(C₆-C₂₀)-арил-O-(C₁-C₁₂)-алкил, -(C₃-C₂₀)-гетероарил, -(C₃-C₂₀)-гетероарил-(C₁-C₁₂)-алкил, -(C₃-C₂₀)-гетероарил-O-(C₁-C₁₂)-алкил, -COOH, -OH, -SH, -SO₃H, -CN, -NH₂-групп или атома галогена.

[0145] Другой вариант осуществления изобретения обеспечивает соединение формулы II:

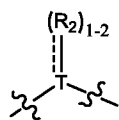


Формула II

или его фармацевтически приемлемый энантиомер, соль или сольват, в котором:

R_1 выбран из $-(C_1-C_{30})$ -алкил, $-(C_3-C_{12})$ -циклоалкил, $-(C_3-C_{12})$ -гетероциклоалкил, $-(C_6-C_{20})$ -арил или $-(C_3-C_{20})$ -гетероарил-групп, необязательно замещенных одним или несколькими заместителями, выбранными из $-(C_1-C_{12})$ -алкил, $-(C_3-C_{12})$ -циклоалкил, $-(C_3-C_{12})$ -гетероциклоалкил, $-O-(C_1-C_{12})$ -алкил, $-O-(C_1-C_{12})$ -алкил- (C_6-C_{20}) -арил, $-O-(C_3-C_{12})$ -циклоалкил, $-S-(C_1-C_{12})$ -алкил, $-S-(C_3-C_{12})$ -циклоалкил, $-COO-(C_1-C_{12})$ -алкил, $-COO-(C_3-C_{12})$ -циклоалкил, $-CONH-(C_1-C_{12})$ -алкил, $-CONH-(C_3-C_{12})$ -циклоалкил, $-CO-(C_1-C_{12})$ -алкил, $-CO-(C_3-C_{12})$ -циклоалкил, $-N-[(C_1-C_{12})$ -алкил] $_2$, $-(C_6-C_{20})$ -арил, $-(C_6-C_{20})$ -арил- (C_1-C_{12}) -алкил, $-(C_6-C_{20})$ -арил- $O-(C_1-C_{12})$ -алкил, $-(C_3-C_{20})$ -гетероарил, $-(C_3-C_{20})$ -гетероарил- (C_1-C_{12}) -алкил, $-(C_3-C_{20})$ -гетероарил- $O-(C_1-C_{12})$ -алкил, $-COOH$, $-OH$, $-SH$, $-SO_3H$, $-CN$, $-NH_2$ -групп или атома галогена;

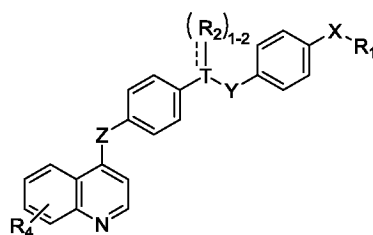
X , Y и Z независимо выбраны из $-O$, $-NH$, $-S$, $-N-(C_1-C_{30})$ -алкил или $-(C_1-C_{30})$ -арил-групп;



представляет собой $-CH((C_1-C_{30})\text{-алкил})$ -, $-(C=O)$ -, $-CH(OH)$ -, $-SO_2$ -, $-SO$ - или $-CH(SOCH_3)$ -группы; и

R_3 выбран из $-(C_1-C_{30})$ -алкил, $-(C_3-C_{12})$ -циклоалкил, $-(C_3-C_{12})$ -гетероциклоалкил, $-(C_6-C_{20})$ -арил или $-(C_3-C_{20})$ -гетероарил-групп, необязательно замещенных одним или несколькими заместителями, выбранными из $-(C_1-C_{12})$ -алкил, $-(C_3-C_{12})$ -циклоалкил, $-(C_3-C_{12})$ -гетероциклоалкил, $-O-(C_1-C_{12})$ -алкил, $-O-(C_1-C_{12})$ -алкил- (C_6-C_{20}) -арил, $-O-(C_3-C_{12})$ -циклоалкил, $-S-(C_1-C_{12})$ -алкил, $-S-(C_3-C_{12})$ -циклоалкил, $-COO-(C_1-C_{12})$ -алкил, $-COO-(C_3-C_{12})$ -циклоалкил, $-CONH-(C_1-C_{12})$ -алкил, $-CONH-(C_3-C_{12})$ -циклоалкил, $-CO-(C_1-C_{12})$ -алкил, $-CO-(C_3-C_{12})$ -циклоалкил, $-N-[(C_1-C_{12})$ -алкил] $_2$, $-(C_6-C_{20})$ -арил, $-(C_6-C_{20})$ -арил- (C_1-C_{12}) -алкил, $-(C_6-C_{20})$ -арил- $O-(C_1-C_{12})$ -алкил, $-(C_3-C_{20})$ -гетероарил, $-(C_3-C_{20})$ -гетероарил- (C_1-C_{12}) -алкил, $-(C_3-C_{20})$ -гетероарил- $O-(C_1-C_{12})$ -алкил, $-COOH$, $-OH$, $-SH$, $-SO_3H$, $-CN$, $-NH_2$ -групп или атома галогена.

[0146] Другой вариант осуществления изобретения обеспечивает соединение формулы III:

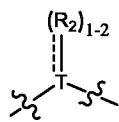


Формула III

или его фармацевтически приемлемый энантиомер, соль или сольват, в котором:

R_1 выбран из $-(C_1-C_{30})$ -алкил, $-(C_3-C_{12})$ -циклоалкил, $-(C_3-C_{12})$ -гетероциклоалкил, $-(C_6-C_{20})$ -арил или $-(C_3-C_{20})$ -гетероарил-групп, необязательно замещенных одним или несколькими заместителями, выбранными из $-(C_1-C_{12})$ -алкил, $-(C_3-C_{12})$ -циклоалкил, $-(C_3-C_{12})$ -гетероциклоалкил, $-O-(C_1-C_{12})$ -алкил, $-O-(C_1-C_{12})$ -алкил- $-(C_6-C_{20})$ -арил, $-O-(C_3-C_{12})$ -циклоалкил, $-S-(C_1-C_{12})$ -алкил, $-S-(C_3-C_{12})$ -циклоалкил, $-COO-(C_1-C_{12})$ -алкил, $-COO-(C_3-C_{12})$ -циклоалкил, $-CONH-(C_1-C_{12})$ -алкил, $-CONH-(C_3-C_{12})$ -циклоалкил, $-CO-(C_1-C_{12})$ -алкил, $-CO-(C_3-C_{12})$ -циклоалкил, $-N-[(C_1-C_{12})$ -алкил] $_2$, $-(C_6-C_{20})$ -арил, $-(C_6-C_{20})$ -арил- $-(C_1-C_{12})$ -алкил, $-(C_6-C_{20})$ -арил- $O-(C_1-C_{12})$ -алкил, $-(C_3-C_{20})$ -гетероарил, $-(C_3-C_{20})$ -гетероарил- $-(C_1-C_{12})$ -алкил, $-(C_3-C_{20})$ -гетероарил- $O-(C_1-C_{12})$ -алкил, $-COOH$, $-OH$, $-SH$, $-SO_3H$, $-CN$, $-NH_2$ -групп или атома галогена;

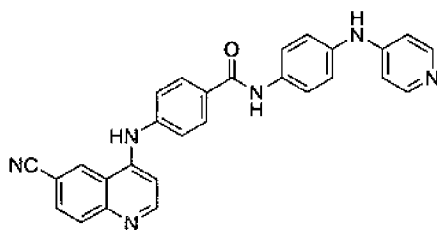
X , Y , and Z независимо выбраны из $-O$, $-NH$, $-S$, $-N-(C_1-C_{30})$ -алкил или $-(C_1-C_{30})$ -арил-групп;



представляет собой $-CH((C_1-C_{30})\text{-алкил})-$, $-(C=O)-$, $-CH(OH)-$, $-SO_2-$, $-SO$ или $-CH(SOCH_3)$ -группы; и

R_4 выбран из $-(C_1-C_{12})$ -алкил, $-(C_3-C_{12})$ -циклоалкил, $-(C_3-C_{12})$ -гетероциклоалкил, $-O-(C_1-C_{12})$ -алкил, $-O-(C_1-C_{12})$ -алкил- $-(C_6-C_{20})$ -арил, $-O-(C_3-C_{12})$ -циклоалкил, $-S-(C_1-C_{12})$ -алкил, $-S-(C_3-C_{12})$ -циклоалкил, $-COO-(C_1-C_{12})$ -алкил, $-COO-(C_3-C_{12})$ -циклоалкил, $-CONH-(C_1-C_{12})$ -алкил, $-CONH-(C_3-C_{12})$ -циклоалкил, $-CO-(C_1-C_{12})$ -алкил, $-CO-(C_3-C_{12})$ -циклоалкил, $-N-[(C_1-C_{12})$ -алкил] $_2$, $-(C_6-C_{20})$ -арил, $-(C_6-C_{20})$ -арил- $-(C_1-C_{12})$ -алкил, $-(C_6-C_{20})$ -арил- $O-(C_1-C_{12})$ -алкил, $-(C_3-C_{20})$ -гетероарил, $-(C_3-C_{20})$ -гетероарил- $-(C_1-C_{12})$ -алкил, $-(C_3-C_{20})$ -гетероарил- $O-(C_1-C_{12})$ -алкил, $-COOH$, $-OH$, $-SH$, $-SO_3H$, $-CN$, $-NH_2$ -групп или атома галогена.

[0147] Еще другой вариант осуществления изобретения обеспечивает соединение формулы IV:



Формула IV

или его фармацевтически приемлемый энантиомер, соль или сольват.

[0148] Соединение формулы IV, также обозначаемое как mJJ64A, и его энантиомеры, полиморфные модификации, фармацевтически приемлемые соли и производные можно использовать для индуцирования, стимулирования или повышения биоактивности Akt3 в иммунных клетках.

[0149] В некоторых вариантах осуществления изобретения активатор Akt3 представляет собой производное формулы I, формулы II, формулы III или формулы IV. В контексте данного документа термин «производное» или «образующий производное» включает одну или несколько химических модификаций формулы I, формулы II, формулы III или формулы IV или их энантиомер, полиморфную модификацию или фармацевтически приемлемую соль. То есть «производное» может быть функциональным эквивалентом формулы I, формулы II, формулы III или формулы IV, которое способно индуцировать улучшенную фармакологическую функциональную активность и/или поведенческую реакцию у данного субъекта. Иллюстрацией таких химических модификаций может быть замена водорода на атом галогена, алкильную группу, ацильную группу или аминогруппу.

[0150] Химическая модификация соединения формулы I, формулы II, формулы III или формулы IV или его энантиомера, полиморфной модификации или фармацевтически приемлемой соли может усиливать или уменьшать взаимодействие при образовании водородной связи, зарядное взаимодействие, гидрофобное взаимодействие, ван-дер-ваальсовское взаимодействие или диполь-дипольное взаимодействие между соединением и его мишенью.

[0151] В некоторых вариантах осуществления изобретения соединение формулы I, формулы II, формулы III или формулы IV может действовать в качестве модели (например, матрицы) для разработки других производных соединений, которые являются функциональными эквивалентами соединения и которые способны индуцировать улучшенную фармакологическую функциональную активность и/или эффект и/или поведенческую реакцию у данного субъекта.

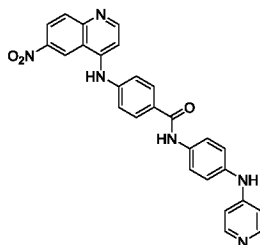
[0152] Соединение формулы I, формулы II, формулы III или формулы IV может быть рацемическим соединением и/или его оптически активными изомерами. В связи с этим некоторые из соединений могут иметь асимметричные атомы углерода и, следовательно, могут существовать либо в виде рацемических смесей, либо в виде

индивидуальных оптических изомеров (например, энантиомеров). Описанные в данном изобретении соединения, которые содержат хиральный центр, включают все возможные стереоизомеры соединения, включая составы, содержащие рацемическую смесь двух энантиомеров, а также составы, содержащие каждый энантиомер в отдельности, практически не содержащие другого энантиомера. Таким образом, например, настоящим изобретением предусмотрен состав, включающий S-энантиомер соединения, практически не содержащий R-энантиомера, или R-энантиомер, практически не содержащий S-энантиомера. Если названное соединение включает более одного хирального центра, объем настоящего изобретения также включает составы, содержащие смеси с различными соотношениями между диастереомерами, а также составы, содержащие один или несколько диастереомеров, практически не содержащих один или несколько других диастереомеров. Под «практически не содержащий» подразумевается, что состав содержит меньше, чем примерно 25 %, 15 %, 10 %, 8 %, 5 %, 3 % или меньше, чем примерно 1 % минорного энантиомера или диастереомера(ов).

В. Соединения ингибиторов Akt3

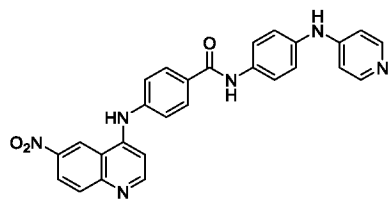
[0153] В данном изобретении раскрыты составы и способы селективного ингибирования Akt3. Приводимые в качестве примеров ингибиторы Akt3 описаны в патентных публикациях США № US 2017/0202956 и 2017/0202829 (каждая полностью включена в настоящий документ посредством ссылки) и описаны ниже.

[0154] Было раскрыто, что 4-[(6-нитрохинолин-4-ил)амино]-N-[4-(пиридин-4-иламино)фенил]бензамид селективно ингибирует активность Akt3. 4-[(6-нитрохинолин-4-ил)амино]-N-[4-(пиридин-4-иламино)фенил]бензамид имеет номер CAS 50440-30-7 и следующую химическую структуру:

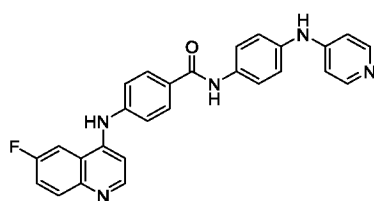


Формула V

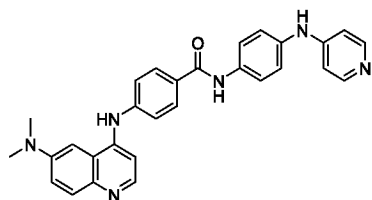
[0155] Другие типичные соединения для селективного ингибирования Akt3 включают следующие:



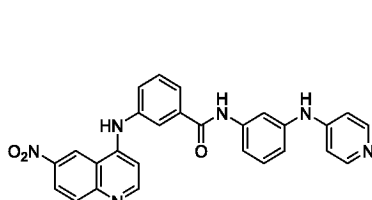
Формула VI,



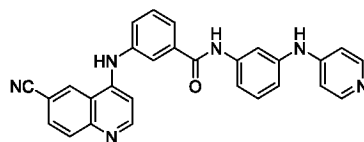
Формула VII,



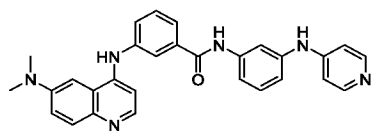
Формула VIII,



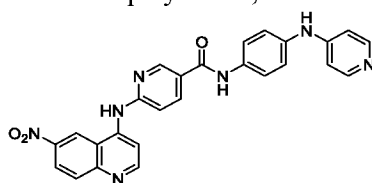
Формула IX,



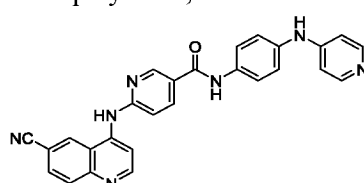
Формула X,



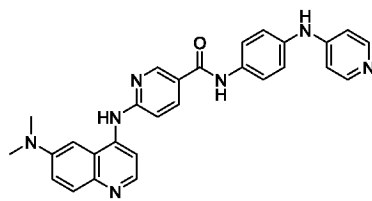
Формула XI,



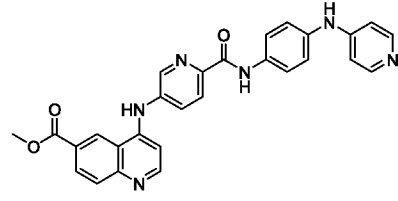
Формула XII,



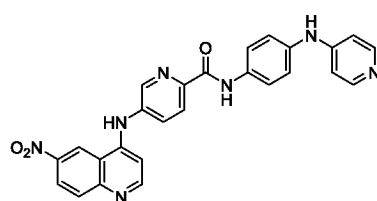
Формула XIII,



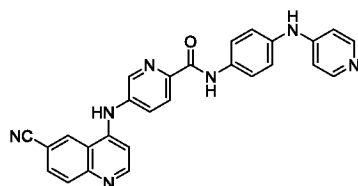
Формула XIV,



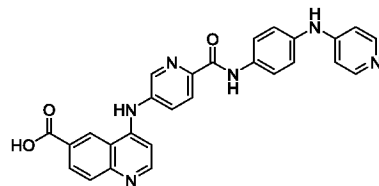
Формула XV,



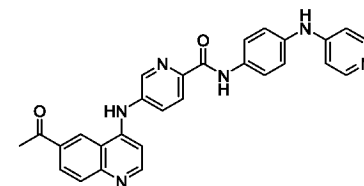
Формула XVI,



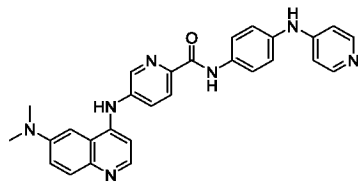
Формула XVII,



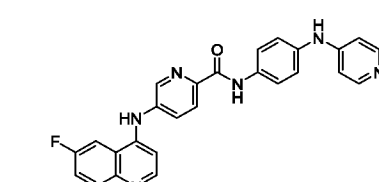
Формула XVIII,



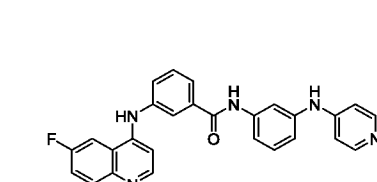
Формула XIX,



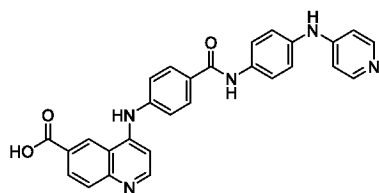
Формула XX,



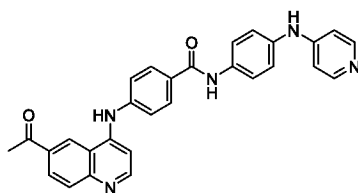
Формула XXI,



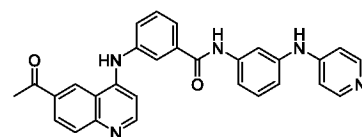
Формула XXII,



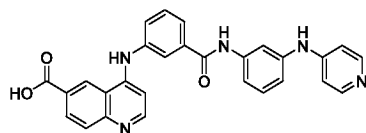
Формула XXIII,



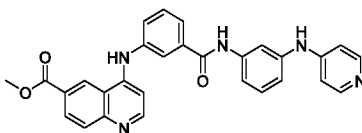
Формула XXIV,



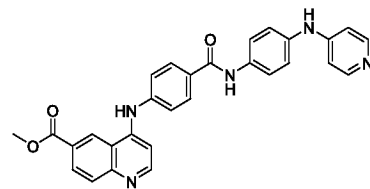
Формула XXV,



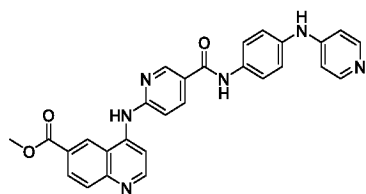
Формула XXVI,



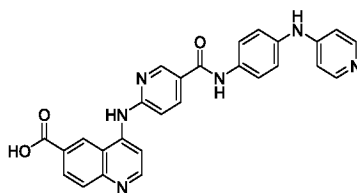
Формула XXVII,



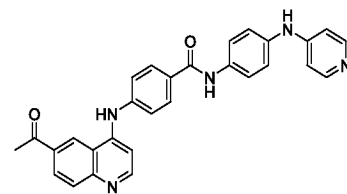
Формула XXVIII,



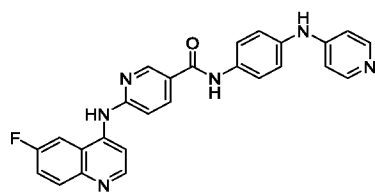
Формула XXIX,



Формула XXX,



Формула XXXI и



Формула XXXII,

и их энантиомеры, полиморфные модификации, фармацевтически приемлемые соли и производные.

[0156] В некоторых вариантах осуществления изобретения ингибитор Akt3 представляет собой производное любого из раскрытых соединений. В контексте данного документа термин «производное» или «образующий производное» включает одну или несколько химических модификаций любого из раскрытых соединений, его энантиомер, полиморфную модификацию или фармацевтически приемлемую соль. То есть «производное» может быть функциональным эквивалентом любого из раскрытых соединений, которое способно индуцировать улучшенную фармакологическую функциональную активность и/или поведенческую реакцию у данного субъекта. Иллюстрацией таких химических модификаций может быть замена водорода на атом галогена, алкильную группу, ацильную группу или аминогруппу.

[0157] Химическая модификация любого из раскрытых соединений или его энантиомера, полиморфной модификации или фармацевтически приемлемой соли может усиливать или уменьшать взаимодействие при образовании водородной связи, зарядное взаимодействие, гидрофобное взаимодействие, ван-дер-ваальсовское взаимодействие или дипольное взаимодействие между соединением и его мишенью.

[0158] В некоторых вариантах осуществления изобретения соединение любого из раскрытых соединений может действовать в качестве модели (например, матрицы) для создания других производных соединений, которые являются функциональными эквивалентами соединения, и, которые способны индуцировать улучшенную фармакологическую функциональную активность и/или эффект, и/или поведенческую реакцию у данного субъекта.

[0159] Раскрытые соединения могут быть рацемическими соединениями и/или их оптически активными изомерами. В связи с этим некоторые из соединений могут иметь асимметричные атомы углерода и, следовательно, могут существовать либо в виде рацемических смесей, либо в виде индивидуальных оптических изомеров (энантиомеров). Описанные здесь соединения, которые содержат хиральный центр, включают все возможные стереоизомеры соединения, включая составы, содержащие рацемическую смесь двух энантиомеров, а также составы, содержащие каждый энантиомер в отдельности, практически не содержащий другого энантиомера. Таким образом, например, в данном документе рассматривается состав, включающий S-энантиомер соединения, практически не содержащий R-энантиомера, или R-энантиомер, практически не содержащий S-энантиомера. Если названное соединение включает более одного хирального центра, объем настоящего изобретения также включает составы, содержащие смеси с различными соотношениями диастереомеров, а также составы, содержащие один или несколько диастереомеров, практически не содержащих один или несколько других диастереомеров. Под «практически не содержащий» подразумевается, что состав включает меньше, чем примерно 25 %, 15 %, 10 %, 8 %, 5 %, 3 % или меньше, чем примерно 1 % минорного энантиомера или диастереомера(ов).

[0160] Описанные соединения селективно модулируют Akt3 по сравнению с Akt1 и Akt2. В некоторых вариантах осуществления изобретения любое из раскрытых соединений не модулирует Akt1 и Akt2 до статистически значимой степени. В других вариантах осуществления изобретения модуляция Akt3 раскрытыми соединениями

составляет примерно в 5, 10, 15, 50, 100, 1000 или 5000 раз больше, чем их модуляция Akt1 и Akt2.

С. Иммуномодулирующие средства или связывающие фрагменты

[0161] Приводятся иммуномодулирующие средства или связывающие фрагменты, включая агонисты и антагонисты АКТ3. Агонист АКТ3 обычно индуцирует, стимулирует или усиливает опосредованную АКТ3 передачу сигналов. Антагонист АКТ3 обычно ингибирует, уменьшает или блокирует опосредованную АКТ3 передачу сигналов. Раскрытые композиции (составы) и способы можно использовать для модулирования АКТ3 и/или передачи сигналов контррецептора на, например, иммунные клетки, включая, в числе прочего, моноциты, Tregs, опухолеассоциированные макрофаги (tumor-associated macrophage, TAM), супрессорные клетки миелоидного происхождения (myeloid derived suppressor cell, MDSC), Т-клетки, Th2- клетки, миелоидные клетки, включая антигенпрезентирующие клетки (например, моноцитарные, макрофагальные или дендритные клетки), Т-клетки, NK-клетки или их комбинацию. В некоторых вариантах осуществления изобретения композиции конкретно нацелены на один или несколько типов клеток. В некоторых вариантах осуществления изобретения раскрытые композиции можно применять на опухолевых клетках.

[0162] В некоторых вариантах осуществления изобретения агонисты анти-АКТ3 индуцируют, стимулируют или усиливают опосредованную АКТ3 передачу сигналов через известный лиганд или неизвестный контррецептор посредством взаимодействия АКТ3 с указанным известным или неизвестным контррецептором. Например, в некоторых вариантах осуществления изобретения агонист АКТ3 связывается, индуцирует, стимулирует или создает конформационные изменения или иным образом способствует опосредованной АКТ3 передаче (трансдукции) сигнала.

[0163] В некоторых вариантах осуществления изобретения антагонисты анти-АКТ3 ингибируют, уменьшают, блокируют или иным образом нарушают передачу сигналов через известный или неизвестный контррецептор посредством блокады взаимодействия АКТ3 с указанным известным или неизвестным контррецептором. Например, в некоторых вариантах осуществления изобретения антагонист АКТ3 связывается, ингибирует, блокирует, создает конформационное изменение или иным образом препятствует опосредованной АКТ3 передаче сигнала.

1. Антитела

[0164] В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения иммуномодулирующее средство или связывающий фрагмент представляет собой антитело. Подходящие антитела могут быть получены специалистом в данной области. Последовательности нуклеиновой кислоты и полипептида для АКТЗ известны в данной области, и приводимые в качестве примера последовательности представлены выше. Последовательности могут быть использованы, как более подробно описано ниже, специалистом в данной области для получения антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, специфичного в отношении АКТЗ. Таким образом, антитело или антигенсвязывающий фрагмент может быть агонистом или антагонистом АКТЗ-опосредованной передачи сигнала.

[0165] Активность антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, специфичного в отношении АКТЗ, можно определить с помощью функциональных анализов, известных в данной области, включая анализы, обсуждаемые ниже. Как правило, анализы включают определение того, усиливает ли антитело или его антигенсвязывающий фрагмент (т. е. агонист) или снижает (т. е. антагонист) передачу сигнала через АКТЗ.

[0166] В некоторых вариантах осуществления изобретения раскрытые антитела и их антигенсвязывающие фрагменты иммуноспецифически связываются с АКТЗ человека или мыши. В некоторых вариантах осуществления изобретения антитело связывается с внеклеточным доменом АКТЗ человека или мыши.

[0167] Для получения антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, которые специфически связываются с АКТЗ, можно использовать очищенные белки, полипептиды, фрагменты, слияния или эпитопы к АКТЗ или полипептиды, экспрессируемые из последовательностей их нуклеиновых кислот. Антитела или их антигенсвязывающие фрагменты могут быть получены с использованием любых подходящих способов, известных в данной области, таких как те, которые более подробно обсуждаются ниже.

а. Человеческие и гуманизированные антитела

[0168] В некоторых вариантах осуществления изобретения антитела представляют собой гуманизированные антитела. Многие антитела нечеловеческого происхождения (например, полученные от мышей, крыс или кроликов) являются, естественно,

антигенными для людей и, таким образом, могут вызывать нежелательные иммунные реакции при введении людям. Следовательно, применение человеческих или гуманизированных антител в способах способствует уменьшению вероятности того, что антитело, введенное человеку, вызовет нежелательный иммунный ответ.

[0169] Можно использовать трансгенных животных (например, мышей), которые способны в результате иммунизации продуцировать полный репертуар человеческих антител в отсутствие продуцирования эндогенного иммуноглобулина. Например, было описано, что гомозиготная делеция гена J-области (J(H)) тяжелой цепи антитела у химерных и мутантных мышей зародышевой линии приводит к полному ингибированию продукции эндогенных антител. Перенос генетической информации иммуноглобулинов зародышевой линии человека у таких мутантных мышей зародышевой линии приведет к продуцированию человеческих антител при антигенной стимуляции.

[0170] Необязательно антитела генерируются у других биологических видов и «гуманизируются» для введения людям. Гуманизированные формы нечеловеческих (например, мышинных) антител представляют собой химерные иммуноглобулины, цепи иммуноглобулинов или их фрагменты (такие как Fv, Fab, Fab', F(ab')₂ или другие антигенсвязывающие подпоследовательности антител), которые содержат минимальную последовательность, полученную из иммуноглобулина, не относящегося к человеку. Гуманизированные антитела включают иммуноглобулины человека (реципиентное антитело), в которых остатки из определяющей комплементарности области (complementarity determining region, CDR) реципиентного антитела замещаются остатками из CDR вида, не относящегося к человеку (антитело донорского типа), такого как мышь, крыса или кролик, обладающие желаемой специфичностью, аффинностью и емкостью. В некоторых случаях каркасные остатки Fv иммуноглобулина человека заменены соответствующими остатками, не относящимися к человеку. Гуманизированные антитела могут также содержать остатки, которые не обнаруживаются ни в реципиентном антителе, ни в импортированных CDR или каркасных последовательностях. Как правило, гуманизированное антитело будет содержать по существу из всех, по меньшей мере, одну, а обычно две переменные области, в которых все или по существу все области CDR соответствуют областям иммуноглобулина, не относящегося к человеку, и все или по существу все FR области представляют собой области консенсусной последовательности иммуноглобулина

человека. Гуманизированное антитело в оптимальном варианте также должно содержать, по меньшей мере, часть константной области иммуноглобулина (Fc), как правило, иммуноглобулина человека.

[0171] Способы гуманизации антител нечеловеческого происхождения хорошо известны в данной области. Как правило, гуманизированное антитело имеет один или несколько аминокислотных остатков, введенных в него из источника, который не относится к человеку. Эти не относящиеся к человеку аминокислотные остатки часто называются «импортными» остатками, которые обычно берут из «импортного» переменного домена. Методики гуманизации антител обычно включают использование технологии рекомбинантных ДНК для манипулирования последовательностью ДНК, кодирующей одну или несколько полипептидных цепей молекулы антитела. Гуманизацию можно, по существу, осуществить путем замены CDRs или последовательностей CDR грызунов на соответствующие последовательности антитела человека. Соответственно, гуманизированная форма антитела нечеловеческого происхождения (или его фрагмента) представляет собой химерное антитело или фрагмент, в котором существенно меньше интактного человеческого переменного домена было заменено соответствующей последовательностью нечеловеческого происхождения. На практике гуманизированные антитела обычно представляют собой антитела человека, в которых некоторые остатки CDR и, возможно, некоторые остатки FR заменены остатками из аналогичных сайтов в антителах грызунов.

[0172] Выбор переменных доменов человека, как легких, так и тяжелых, которые используются при получении гуманизированных антител, очень важен для снижения антигенности. В соответствии с методом «наилучшего соответствия» последовательность переменного домена антитела грызуна подвергается скринингу на фоне всей библиотеки известных последовательностей переменного домена человека. Человеческая последовательность, наиболее близкая к последовательности грызуна, затем принимается в качестве каркасной области человека (FR) для гуманизированного антитела. Другой метод использует конкретную каркасную область, полученную из консенсусной последовательности всех антител человека конкретной подгруппы легких или тяжелых цепей. Одна и та же каркасная область может использоваться для нескольких разных гуманизированных антител.

[0173] Кроме того, важно, чтобы антитела были гуманизированы с сохранением высокого сродства к антигену и других благоприятных биологических свойств. Для достижения этой цели гуманизированные антитела могут быть получены в процессе анализа исходных последовательностей и различных концептуальных гуманизированных продуктов с использованием трехмерных моделей исходных и гуманизированных последовательностей. Трехмерные модели иммуноглобулинов широко доступны и известны специалистам в данной области. Доступны компьютерные программы, которые иллюстрируют и отображают вероятные трехмерные конформационные структуры выбранных кандидатных последовательностей иммуноглобулинов. Обследование этих дисплеев позволяет провести анализ вероятной роли остатков в функционировании кандидатной последовательности иммуноглобулина, т. е. анализ остатков, влияющих на способность кандидатного иммуноглобулина связывать свой антиген. Таким образом, остатки FR могут быть выбраны и объединены из консенсусной и импортной последовательности с тем, чтобы достичь желаемой характеристики антитела, такой как повышенная аффинность к антигену(ам) мишени. В принципе, остатки CDR непосредственно и наиболее существенно участвуют во влиянии на связывание антигена.

[0174] Антитело может быть связано с субстратом или помечено детектируемым фрагментом, или может быть как связано, так и помечено. Поддающиеся обнаружению фрагменты, предусмотренные настоящими композициями, включают флуоресцентные, ферментативные и радиоактивные маркеры.

b. Одноцепочечные антитела

[0175] В некоторых вариантах осуществления изобретения антитела представляют собой одноцепочечные антитела. Способы получения одноцепочечных антител хорошо известны специалистам в данной области. Одноцепочечное антитело создается путем слияния вместе переменных доменов тяжелой и легкой цепей с использованием короткого пептидного линкера, тем самым воссоздавая сайт связывания антигена на одной молекуле. Были разработаны переменные фрагменты одноцепочечных антител (scFv), в которых С-конец одного переменного домена связан с N-концом другого переменного домена посредством пептида или линкера из 15-25 аминокислот без существенного нарушения связывания антигена или специфичности связывания. Линкер выбирают таким образом, чтобы тяжелая цепь и легкая цепь могли связываться

друг с другом в их надлежащей конформационной ориентации. В этих Fv отсутствуют константные области (Fc), присутствующие в тяжелой и легкой цепях нативного антитела.

с. Моновалентное антитело

[0176] В некоторых вариантах осуществления изобретения антитела представляют собой моновалентные антитела. Методы *in vitro* также пригодны для получения моновалентных антител. Расщепление антител с получением их фрагментов, в частности Fab-фрагментов, может быть осуществлено с использованием обычных методов, известных в данной области. Например, расщепление может осуществляться с помощью папаина. Папаиновое расщепление антител обычно дает два идентичных антигенсвязывающих фрагмента, называемых Fab-фрагментами, каждый из которых имеет один антигенсвязывающий сайт и остаточный Fc-фрагмент. Обработка пепсином дает фрагмент, называемый фрагментом F(ab')₂, который имеет два антигенсвязывающих центров антитела и все еще способен сшивать антиген.

[0177] Фрагменты Fab, полученные при расщеплении антител, также содержат константные домены легкой цепи и первый константный домен тяжелой цепи. Фрагменты Fab' отличаются от фрагментов Fab присоединением нескольких остатков на карбокси-конце домена тяжелой цепи, включая один или несколько цистеинов из шарнирной области антитела. Фрагмент F(ab')₂ представляет собой двухвалентный фрагмент, состоящий из двух фрагментов Fab', связанных дисульфидным мостиком в шарнирной области. Fab'-SH представляет собой обозначение в данном документе для Fab', в котором остаток(и) цистеина константных доменов имеет свободную тиольную группу. Фрагменты антител первоначально были получены в виде пар Fab'-фрагментов, между которыми были шарнирные цистеины. Известны и другие химические связывания фрагментов антител.

d. Гибридные антитела

[0178] В некоторых вариантах осуществления изобретения антитела представляют собой гибридные антитела. В гибридных антителах одна пара тяжелой и легкой цепей гомологична паре, обнаруженной в антителе, индуцированном против одного эпитопа, тогда как другая пара тяжелой и легкой цепи гомологична паре, обнаруженной в антителе, индуцированном против другого эпитопа. Это приводит к свойству многофункциональной валентности, т.е. способности одновременно связывать, по меньшей мере, два разных эпитопа. Такие гибриды могут быть образованы путем

слияния гибридом, продуцирующих соответствующие компоненты антител, или с помощью рекомбинантных методов. Такие гибриды, конечно, могут быть получены и с использованием химерных цепей.

е. Конъюгаты или слияния фрагментов антител

[0179] В некоторых вариантах осуществления изобретения антитела представляют собой конъюгаты или слияния фрагментов антител. Направленную функцию антитела можно использовать в терапевтических целях путем связывания антитела или его фрагмента с терапевтическим средством. Такое связывание антитела или его фрагмента (например, по меньшей мере, части константной области иммуноглобулина (Fc)) с терапевтическим средством может быть достигнуто путем получения иммуноконъюгата или путем получения слитого белка, содержащего антитело или фрагмент антитела и терапевтическое средство.

[0180] Такое связывание антитела или его фрагмента с терапевтическим средством может быть достигнуто путем получения иммуноконъюгата или путем получения слитого белка, или путем связывания антитела или его фрагмента с нуклеиновой кислотой, такой как siРНК, содержащей антитело или фрагмент антитела и терапевтическое средство.

[0181] В некоторых вариантах осуществления изобретения антитело модифицируют, чтобы изменить его время полужизни. В некоторых вариантах осуществления изобретения желательно увеличить время полужизни антитела, чтобы оно присутствовало в кровотоке или в месте лечения в течение более длительных периодов времени. Например, желательным является поддержание титров антител в кровотоке или в месте, подлежащем лечению, в течение продолжительных периодов времени. Антитела могут быть сконструированы с вариантами Fc, которые продлевают время полужизни, например, с использованием технологии продления времени полужизни антител Xtend™ (Xencor, Monrovia, CA). В других вариантах осуществления изобретения время полужизни антитела против ДНК уменьшается для сокращения потенциальных негативных последствий. Описанные конъюгаты можно использовать для модификации данной биологической реакции. Фрагмент лекарственного средства не следует рассматривать как ограниченный классическими химическими терапевтическими средствами. Например, фрагмент лекарственного средства может представлять собой белок или полипептид, обладающий желаемой

биологической активностью. Такие белки могут включать, например, токсин, такой как абрин, рицин А, экзотоксин синегнойной палочки или дифтерийный токсин.

2. Белки и полипептиды

а. Белковые и полипептидные композиции

[0182] Иммуномодулирующее или связывающее средство может представлять собой белок, полипептид или слитый белок АКТЗ. Например, иммуномодулирующее средство или связывающий фрагмент могут представлять собой выделенный или рекомбинантный белок или полипептид, или их функциональный фрагмент, вариант или слитый белок АКТЗ.

[0183] Белок или полипептид АКТЗ, или его функциональный фрагмент, вариант или слитый белок могут быть агонистом или антагонистом. Например, в некоторых вариантах осуществления изобретения антагонист АКТЗ представляет собой полипептид АКТЗ или его фрагмент или слитый белок, который связывается с лигандом АКТЗ. Полипептид может быть растворимым фрагментом, например внеклеточным доменом АКТЗ, или его функциональным фрагментом, или его слитым белком. В некоторых вариантах осуществления изобретения растворимый лиганд АКТЗ может служить антагонистом, уменьшающим опосредованную АКТЗ передачу сигнала.

[0184] Активность белка или полипептида АКТЗ или любого его фрагмента, варианта или слитого белка можно определить с помощью функциональных анализов, которые известны в данной области, и, включая анализы, обсуждаемые ниже. Как правило, анализы включают определение того, усиливает ли белок, полипептид или его фрагмент, вариант или слитый белок (т.е. агонист) или снижает (т.е. антагонист) передачу сигналов через рецептор АКТЗ. В некоторых вариантах осуществления изобретения анализ включает определение того, усиливает ли белок, полипептид или его фрагмент, вариант или слитый белок (т.е. агонист) или ослабляет (т.е. антагонист) иммунный ответ, связанный с АКТЗ. Обычно, анализы включают определение того, усиливает ли белок, полипептид или его фрагмент, вариант или слитый белок (т.е. агонист) или снижает (т.е. антагонист) передачу сигнала посредством АКТЗ. В некоторых вариантах осуществления изобретения анализ включает определение того, снижает ли белок, полипептид или его фрагмент, вариант или слитый белок (т.е. агонист) или усиливает (т.е. антагонист) иммунный ответ, регулируемый АКТЗ. В некоторых вариантах осуществления изобретения анализ включает определение того,

увеличивает ли белок, полипептид или его фрагмент, вариант или слитый белок (т.е. антагонист) апоптоз и дифференциацию клеток острого миелоидного лейкоза (AML) и клеток острого лимфобластного лейкоза (ALL), что приводит к пониженной способности самообновления стволовых клеток AML и ALL.

[0185] Нуклеотидная и полипептидная последовательности АКТЗ известны в данной области и типичные последовательности белка и пептидов представлены выше. Последовательности могут быть использованы, как более подробно описано ниже, специалистом в данной области для получения любого белка или полипептида АКТЗ или любого его фрагмента, варианта или слитого белка. Как правило, белки, полипептиды, их фрагменты, варианты и слияния АКТЗ экспрессируются из нуклеиновых кислот, которые включают последовательности, кодирующие сигнальную последовательность. Сигнальную последовательность обычно отщепляют от незрелого полипептида с получением зрелого полипептида, в котором отсутствует сигнальная последовательность. Сигнальную последовательность можно заменить сигнальной последовательностью другого полипептида с использованием стандартных методов молекулярной биологии, чтобы оказать влияние на уровни экспрессии, секрецию, растворимость или другое свойство полипептидных белков АКТЗ с сигнальной последовательностью и без нее. Понятно, что в некоторых случаях зрелый белок, известный или описанный в данной области, т.е. белковая последовательность без сигнальной последовательности, является предполагаемым зрелым белком. Во время нормальной клеточной экспрессии сигнальная последовательность может быть удалена клеточной пептидазой с получением зрелого белка. Последовательность зрелого белка можно определить или подтвердить с помощью методов, известных в данной области.

i. Фрагменты

[0186] В контексте данного документа фрагмент АКТЗ относится к любой части полипептида, которая, по меньшей мере, на одну аминокислоту короче полноразмерного белка. Полезные фрагменты включают те, которые сохраняют способность связываться со своим природным лигандом или лигандами. Полипептид, который является фрагментом любого полноразмерного АКТЗ, обычно обладает, по меньшей мере, около 20-процентной, 30-процентной, 40-процентной, 50-процентной, 60-процентной, 70-процентной, 80-процентной, 90-процентной, 95-процентной, 98-процентной, 99-процентной, 100-процентной или даже более 100-процентной

способностью связывать его природный лиганд по сравнению с полноразмерным белком, соответственно.

[0187] Фрагменты АКТЗ включают бесклеточные фрагменты. Бесклеточные полипептиды могут представлять собой фрагменты полноразмерных трансмембранных полипептидов, которые могут выделяться, секретироваться или иным образом экстрагироваться из продуцирующих клеток. Бесклеточные фрагменты полипептидов могут включать некоторые или все внеклеточные домены полипептида и не содержать некоторых или всех внутриклеточных и/или трансмембранных доменов полноразмерного белка. В одном из вариантов осуществления изобретения полипептидные фрагменты включают весь внеклеточный домен полноразмерного белка. В других вариантах осуществления изобретения бесклеточные фрагменты полипептидов включают фрагменты внеклеточного домена, которые сохраняют биологическую активность полноразмерного белка. Внеклеточный домен может включать 1, 2, 3, 4 или 5 заменимых аминокислот из трансмембранного домена и/или 1, 2, 3, 4 или 5 заменимых аминокислот из сигнальной последовательности. Или же, внеклеточный домен может иметь 1, 2, 3, 4, 5 или более аминокислот, удаленных с С-конца, N-конца или с того и другого. В некоторых вариантах осуществления изобретения внеклеточный домен является единственным функциональным доменом фрагмента (например, лиганд-связывающим доменом).

ii. Варианты

[0188] Также предоставлены варианты АКТЗ и их фрагменты. В некоторых вариантах осуществления изобретения вариант, по меньшей мере, приблизительно на 50, 60, 70, 80, 85, 90, 95, 96, 97, 98 или 99 процентов идентичен любой из SEQ ID NO:1 или 2. Пригодные варианты включают варианты, которые повышают биологическую активность, на что указывает любой из описанных здесь анализов, или которые увеличивают время полужизни или стабильность белка. Белок и полипептиды АКТЗ, а также их фрагменты, варианты и слитые белки могут быть сконструированы для повышения биологической активности. Например, в некоторых вариантах осуществления изобретения полипептид, белок АКТЗ или его фрагмент, вариант или слияние были модифицированы по меньшей мере одной аминокислотной заменой, делецией или инсерцией, которая усиливает его функцию.

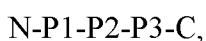
[0189] Наконец, можно сконструировать варианты полипептидов, которые имеют увеличенное время полужизни по сравнению с диким типом. Эти варианты обычно

модифицируют, чтобы противодействовать ферментативному расщеплению. Приводимые в качестве примера модификации включают модифицированные аминокислотные остатки и модифицированные пептидные связи, которые препятствуют ферментативному расщеплению. Различные модификации для достижения этого известны в данной области. Варианты можно модифицировать, чтобы корректировать влияния аффинности к рецептору на период полужизни белков, полипептидов, фрагментов или их слияний при сывороточном и эндосомальном pH.

iii. Слитые белки

[0190] Слитые полипептиды имеют первого партнера по слиянию, включающего весь или часть полипептида АКТЗ человека или мыши, слитого со вторым полипептидом непосредственно или через линкерную пептидную последовательность, которая слита со вторым полипептидом. В одном из вариантов осуществления изобретения ECD человеческого или мышинного АКТЗ или его фрагмента слиты со вторым полипептидом. Слитые белки необязательно содержат домен, который используется для димеризации или мультимеризации двух или более слитых белков. Линкерный домен пептид/полипептид может быть либо отдельным доменом, либо, альтернативно, может содержаться в одном из других доменов (первом полипептиде или втором полипептиде) слитого белка. Точно так же домен, который используется для димеризации или мультимеризации слитых белков, может быть либо отдельным доменом, либо, альтернативно, может содержаться в одном из других доменов (первого полипептида, второго полипептида или пептидного/полипептидного линкерного домена) слитого белка. В одном из вариантов осуществления изобретения домен димеризации/мультимеризации и пептидный/полипептидный линкерный домен являются одними и теми же доменами.

[0191] Слитые белки, раскрытые в настоящем документе, имеют формулу А:



где «N» обозначает N-конец слитого белка и «C» обозначает C-конец слитого белка. В некоторых вариантах осуществления изобретения «P1» представляет собой полипептид или белок АКТЗ или его фрагмент или вариант, «P2» представляет собой необязательный пептидный/полипептидный линкерный домен и «P3» представляет собой второй полипептид. Или же, P3 может быть полипептидом или белком АКТЗ, или его фрагментом, или вариантом, а P1 может быть вторым полипептидом. В

некоторых вариантах осуществления изобретения полипептид АКТЗ представляет собой внеклеточный домен.

[0192] Димеризация или мультимеризация может происходить между или среди двух или более слитых белков через домены димеризации или мультимеризации. Или же, димеризация или мультимеризация слитых белков может происходить путем химического поперечного сшивания. Образующиеся димеры или мультимеры могут быть гомодимерными/гомомультимерными или гетеродимерными/гетеромультимерными.

[0193] В некоторых вариантах осуществления изобретения слитый белок включает внеклеточный домен АКТЗ или его фрагмент или вариант, слитый с Fc-фрагментом Ig. Рекомбинантные слитые белки Ig могут быть получены путем слияния кодирующей области внеклеточного домена или его фрагмента или варианта с областью Fc-фрагмента IgG1, IgG2, IgG3 или IgG4 человека или IgG2a мыши или другим подходящим доменом Ig, как описано ранее (Chapoval, et al., *Methods Mol. Med.*, 45:247-255 (2000); полностью включено в настоящий документ посредством ссылки).

iv. Полипептидные модификации

[0194] Полипептиды и слитые белки могут быть модифицированы химическими фрагментами, которые могут присутствовать в полипептидах в нормальном клеточном окружении, например, путем фосфорилирования, метилирования, амидирования, сульфатирования, ацилирования, гликозилирования, сумоилирования и убиквитиления. Слитые белки также могут быть модифицированы меткой, способной давать обнаруживаемый сигнал прямо или косвенно, включая, помимо прочего, радиоизотопы и флуоресцентные соединения.

[0195] Полипептиды и слитые белки также могут быть модифицированы химическими фрагментами, которые обычно не добавляются к полипептидам в клеточное окружение. Например, раскрытые слитые белки также могут быть модифицированы путем ковалентного присоединения полимерных цепей, включая, помимо прочего, цепи полиэтиленгликолевого полимера ПЭГ (polyethylene glycol polymer, PEG) (т.е. пегилирование). Конъюгация макромолекул с PEG недавно предстала в качестве эффективной стратегии для изменения фармакокинетических (ФК) (pharmacokinetic, PK) профилей различных лекарственных средств и, таким образом, для улучшения их терапевтического потенциала. Конъюгация с ПЭГ

увеличивает удержание лекарств в кровотоке, защищая от ферментативного расщепления, замедляя фильтрацию почками и снижая выработку нейтрализующих антител. Кроме того, конъюгаты ПЭГ можно использовать для мультимеризации слитых белков.

[0196] Модификации могут быть введены в молекулу путем взаимодействия целевых аминокислотных остатков полипептида с органическим дериватирующим агентом, который способен реагировать с выбранными боковыми цепями или концевыми остатками. Другая модификация представляет собой циклизацию белка.

[0197] Примеры химических производных полипептидов включают лизинильные и аминоконцевые остатки, дериватизированные ангидридами янтарной или другой карбоновой кислоты. Дериватизация циклическим ангидридом карбоновой кислоты приводит к изменению заряда лизинильных остатков. Другие подходящие реагенты для дериватизации аминокислотных остатков включают имидоэфиры, такие как метилпиколинимидат; пиридоксальфосфат; пиридоксаль; хлорборгидрид; тринитробензолсульфокислота; О-метилизомочевина; 2,4-пентандион; и катализируемая трансаминазами реакция с глиоксилатом. Карбоксильные боковые группы, аспартил или глутамил, могут быть селективно модифицированы реакцией с карбодиимидами ($R-N=C=N-R'$), такими как 1-циклогексил-3-(2-морфолинил-(4-этил)карбодиимид или 1-этил-3-(4-азония-4,4-диметилпентил)карбодиимид. Кроме того, остатки аспартила и глутамина могут быть превращены в остатки аспарагина и глутамина реакцией с аммиаком. Слитые белки могут также включать одну или несколько D-аминокислот, которые замещены одной или несколькими L-аминокислотами.

v. Модифицированные свойства связывания

[0198] Связывающие свойства белков, полипептидов, их фрагментов, вариантов и слияний актуальны для вводимой дозы и режима дозирования. В одном из вариантов осуществления изобретения раскрытые белки, полипептиды, их фрагменты, варианты и слияния обладают связывающими свойствами с АКТЗ или лигандом АКТЗ, которые демонстрируют более высокий срок или более высокий процент занятости участка связывания (например, на лиганде) по сравнению с другими рецепторными молекулами, которые связываются с ними. В других вариантах осуществления изобретения раскрытые белки, полипептиды, их фрагменты, варианты и слияния

имеют пониженную связывающую аффинность к АКТЗ по сравнению с белком дикого типа.

[0199] В некоторых вариантах осуществления изобретения белки, полипептиды, их фрагменты, варианты и слияния обладают относительно высокой аффинностью к АКТЗ и, следовательно, могут иметь относительно низкую скорость диссоциации. В других вариантах осуществления изобретения белки, полипептиды, их фрагменты, варианты и слияния вводят периодически в течение нескольких дней, недель или месяцев для ослабления иммунных ответов, которым дают восстановиться перед следующим введением, что может способствовать изменению иммунного ответа без полного включения или выключения его и может предотвратить отдалённые побочные эффекты.

3. Выделенные молекулы нуклеиновой кислоты

[0200] В настоящем документе раскрыты последовательности выделенных нуклеиновых кислот, кодирующие АКТЗ белки, полипептиды, их фрагменты, варианты и слияния. В контексте данного документа «выделенная нуклеиновая кислота» относится к нуклеиновой кислоте, которая отделена от других молекул нуклеиновой кислоты, которые присутствуют в геноме млекопитающего, включая нуклеиновые кислоты, которые обычно примыкают к одной или обеим сторонам нуклеиновой кислоты в геноме млекопитающего. В контексте данного документа термин «выделенная» по отношению к нуклеиновым кислотам также включает комбинацию с любой неприродной последовательностью нуклеиновой кислоты, поскольку такие неприродные последовательности не встречаются в природе и не имеют непосредственно соседних последовательностей в природном геноме.

[0201] Выделенная нуклеиновая кислота может быть, например, молекулой ДНК, при условии, что одна из последовательностей нуклеиновой кислоты, обычно обнаруживаемая непосредственно по бокам данной молекулы ДНК в природном геноме, удалена или отсутствует. Таким образом, выделенная нуклеиновая кислота включает, помимо прочего, молекулу ДНК, которая существует как отдельная молекула, независимая от других последовательностей (например, химически синтезированная нуклеиновая кислота или кДНК или фрагмент геномной ДНК, полученный с помощью ПЦР или обработки рестрикционной эндонуклеазой), а также рекомбинантную ДНК, которая включена в вектор, автономно реплицирующуюся плазмиду, вирус (например, ретровирус, лентивирус, аденовирус или вирус герпеса)

или в геномную ДНК прокариота или эукариота. Кроме того, выделенная нуклеиновая кислота может включать сконструированную нуклеиновую кислоту, такую как рекомбинантная молекула ДНК, которая является частью гибридной или слитой нуклеиновой кислотой. Нуклеиновая кислота, существующая среди сотен до миллионов других нуклеиновых кислот, например, в библиотеке кДНК или геномной библиотеке, или в срезе геля, содержащем рестрикционный гидролизат геномной ДНК, не считается выделенной нуклеиновой кислотой.

[0202] Нуклеиновые кислоты, кодирующие белки, полипептиды, их фрагменты, варианты и слияния, могут быть оптимизированы для экспрессии в выбранном хозяине экспрессии. Кодоны могут замещаться альтернативными кодонами, кодирующими одну и ту же аминокислоту, чтобы учесть различия в использовании кодонов между млекопитающим, от которого получена последовательность нуклеиновой кислоты, и хозяином экспрессии. Таким образом, нуклеиновые кислоты могут быть синтезированы с использованием кодонов, предпочтительных для хозяина экспрессии.

[0203] Нуклеиновые кислоты могут иметь смысловую или антисмысловую ориентацию или могут быть комплементарны эталонной последовательности, кодирующей полипептид или белок АКТЗ. Нуклеиновые кислоты могут быть ДНК, РНК или аналогами нуклеиновых кислот. Аналоги нуклеиновых кислот могут быть модифицированы по основному фрагменту, сахарному фрагменту или фосфатному остову. Такие модификации могут улучшить, например, стабильность, гибридизацию или растворимость нуклеиновой кислоты. Модификации основного фрагмента могут включать дезоксиуридин для дезокситимидина и 5-метил-2'-дезоксцитидин или 5-бром-2'-дезоксцитидин для дезоксцитидина. Модификации сахарного фрагмента могут включать модификацию 2'-гидроксильной группы рибозного сахара с образованием 2'-О-метиловых или 2'-О-аллильных сахаров. Дезоксирибозофосфатный остов можно модифицировать для получения морфолино-нуклеиновых кислот, в которых каждый основной фрагмент связан с шестичленным морфолиновым кольцом или пептидными нуклеиновыми кислотами, в которых дезоксифосфатный остов заменен псевдопептидным остовом, и четыре основания сохранены. См., например, Summerton and Weller (1997) *Antisense Nucleic Acid Drug Dev.* 7:187-195; и Hyrup *et al.* (1996) *Bioorg. Med. Chem.* 4:5-23 (каждая полностью включена в настоящий документ посредством ссылки). Кроме того, дезоксифосфатный остов может быть заменен,

например, фосфоротиоатным или фосфородитиоатным остовом, фосфоамидитным или алкилфосфотриэфирным остовом.

[0204] Нуклеиновые кислоты, кодирующие полипептиды, можно вводить нуждающимся в этом субъектам. Нуклеиновая доставка включает введение «чужих» нуклеиновых кислот в клетку и, в конечном счете, в живое животное. Композиции и способы доставки нуклеиновых кислот субъекту известны в данной области (см. *Understanding Gene Therapy* (Основные сведения о генной терапии), Lemoine, N.R., ed., BIOS Scientific Publishers, Oxford, 2008; полностью включена в настоящее описание посредством ссылки).

4. Векторы и клетки-хозяева

[0205] Также предложены векторы, кодирующие белки, полипептиды, их фрагменты, варианты и слияния. Нуклеиновые кислоты, такие как описанные выше, могут быть встроены в векторы для экспрессии в клетках. Используемый здесь термин «вектор» представляет собой репликон, такой как плаزمид, фаг, вирус или космида, в который может быть вставлен другой сегмент ДНК для того, чтобы вызвать репликацию вставленного сегмента. Векторы могут быть векторами экспрессии. «Вектор экспрессии» представляет собой вектор, который включает одну или несколько последовательностей контроля экспрессии, и «последовательность контроля экспрессии» представляет собой последовательность ДНК, которая контролирует и регулирует транскрипцию и/или трансляцию другой последовательности ДНК.

[0206] Нуклеиновые кислоты в векторах могут быть функционально связаны с одной или несколькими последовательностями контроля экспрессии. В контексте данного документа «функционально связанный» означает, что он включен в генетическую конструкцию так, что последовательности контроля экспрессии эффективно контролируют экспрессию представляющей интерес кодирующей последовательности. Примеры последовательностей контроля экспрессии включают промоторы, энхансеры и области терминации транскрипции. Промотор представляет собой последовательность контроля экспрессии, состоящую из области молекулы ДНК, обычно в пределах 100 нуклеотидов выше точки, при которой начинается транскрипция (обычно вблизи сайта инициации РНК-полимеразы II). Чтобы установить кодирующую последовательность под контроль промотора, необходимо расположить сайт инициации трансляции трансляционной рамки считывания полипептида на расстоянии от одного до примерно пятидесяти нуклеотидов ниже

промотора. Энхансеры обеспечивают специфичность экспрессии с точки зрения времени, местоположения и уровня. В отличие от промоторов, энхансеры могут функционировать, находясь на разных расстояниях от сайта транскрипции. Энхансер также может располагаться ниже сайта инициации транскрипции. Кодированная последовательность «функционально связана» и «находится под контролем» последовательностей контроля экспрессии в клетке, когда РНК-полимераза способна транскрибировать кодирующую последовательность в мРНК, которая затем может транслироваться в белок, кодируемый кодирующей последовательностью.

[0207] Подходящие векторы экспрессии включают, помимо прочего, плазмиды и вирусные векторы, полученные, например, из бактериофага, бакуловирусов, вируса табачной мозаики, вирусов герпеса, цитомегаловируса, ретровирусов, вирусов осповакцины, аденовирусов и аденоассоциированных вирусов. Многочисленные векторы и экспрессирующие системы коммерчески доступны от таких корпораций, как Novagen (Madison, WI), Clontech (Palo Alto, CA), Stratagene (La Jolla, CA) и Invitrogen Life Technologies (Carlsbad, CA).

[0208] Экспрессирующий вектор может включать последовательность тегов (меток). Последовательности тегов обычно экспрессируются в виде слияния с кодируемым полипептидом. Такие теги (метки) могут быть вставлены в пределах полипептида, в том числе либо на карбоксильном, либо на амино-конце. Примеры пригодных меток включают, помимо прочего, зеленый флуоресцентный белок (green fluorescent protein, GFP), глутатион-S-трансферазу (glutathione S-transferase, GST), полигистидин, с-мус, гемагглютинин, метку Flag™ (Kodak, New Haven, CT), мальтоза-связывающий белок E и белок A. В одном из вариантов осуществления изобретения молекула нуклеиновой кислоты, кодирующая один из раскрытых полипептидов, присутствует в векторе, содержащем нуклеиновые кислоты, которые кодируют один или несколько доменов константного участка тяжелой цепи Ig, например, с аминокислотной последовательностью, соответствующей шарнирным, CH2 и CH3 областям, цепи Cγ1 иммуноглобулина человека.

[0209] Векторы, содержащие экспрессируемые нуклеиновые кислоты, могут быть перенесены в клетки-хозяина. Предполагается, что термин «клетка-хозяин» включает прокариотические и эукариотические клетки, в которые может быть введен рекомбинантный вектор экспрессии. В контексте данного документа «трансформированный» и «трансфицированный» охватывают введение молекулы

нуклеиновой кислоты (например, вектора) в клетку одним из ряда способов. Хотя это и не ограничивается конкретным методом, целый ряд таких методов хорошо известен в данной области. Прокариотические клетки можно трансформировать нуклеиновыми кислотами, например, с помощью электропорации или опосредованной хлоридом кальция трансформации. Нуклеиновые кислоты могут быть трансфицированы в клетки млекопитающих методами, включающими, например, соосаждение фосфатом кальция, опосредованную DEAE-декстраном трансфекцию, липофекцию, электропорацию или микроинъекцию. Клетки-хозяина (например, прокариотическая клетка или эукариотическая клетка, такая как клетка CHO) могут быть использованы, например, для получения белков, полипептидов, их фрагментов, вариантов и слияний, описанных в настоящем документе.

[0210] Описанные векторы можно использовать для экспрессии белков, полипептидов, их фрагментов, вариантов и слияний в клетках. Приводимый в качестве примера вектор включает, но не ограничивается этим, аденовирусный вектор. Один подход включает перенос нуклеиновой кислоты в первичные клетки в культуре с последующей аутологичной трансплантацией клеток, трансформированных *ex vivo*, хозяину либо системно, либо в конкретный орган или ткань. Методы *ex vivo* могут включать, например, стадии отбора клеток у субъекта, культивирования клеток, трансдукции их экспрессирующим вектором и поддержания клеток в условиях, пригодных для экспрессии кодируемых полипептидов. Эти способы известны в области молекулярной биологии. Стадия трансдукции может быть осуществлена любыми стандартными средствами, используемыми для генной терапии *ex vivo*, включая, например, фосфат кальция, липофекцию, электропорацию, вирусную инфекцию и биолистический перенос генов. Или же, можно использовать липосомы или полимерные микрочастицы. Затем клетки, которые были успешно трансдуцированы, могут быть отобраны, например, для экспрессии кодирующей последовательности или гена лекарственной устойчивости. Затем клетки могут быть смертельно облучены (в случае необходимости) и введены или имплантированы субъекту. В одном из вариантов осуществления изобретения экспрессирующие векторы, содержащие нуклеиновые кислоты, кодирующие слитые белки, трансфицируют в клетки, которые вводят субъекту, нуждающемуся в этом.

[0211] Нуклеинокислотная терапия *in vivo* может быть осуществлена путем прямого переноса функционально активной ДНК в соматическую ткань или орган

млекопитающего *in vivo*. Например, нуклеиновые кислоты, кодирующие раскрытые в данном изобретении полипептиды, можно вводить непосредственно в лимфоидные ткани. В качестве альтернативы, специфическая направленность на лимфоидную ткань может быть достигнута с использованием специфических для лимфоидной ткани транскрипционных регуляторных элементов (transcriptional regulatory elements, TREs), таких как В-лимфоцит-, Т-лимфоцит- или дендритных клеток-специфический TRE. TREs, специфичные для лимфоидной ткани, известны в данной области.

[0212] Нуклеиновые кислоты можно также вводить *in vivo* с помощью вирусов. Молекулы нуклеиновой кислоты, кодирующие слитые белки, могут быть упакованы в ретровирусные векторы с использованием пакующих клеточных линий, которые продуцируют дефектные по репликации ретровирусы, как это хорошо известно в данной области. Также могут быть использованы другие вирусные векторы, включая рекомбинантные аденовирусы и вирус коровьей оспы, которые можно сделать нереплицирующимися. Помимо «голых» ДНК или РНК или вирусных векторов, в качестве векторов можно использовать сконструированные бактерии.

[0213] Нуклеиновые кислоты также могут доставляться другими носителями, включая липосомы, полимерные микро- и наночастицы и поликатионы, такие как асиалогликопротеин/полилизин.

[0214] В дополнение к переносу генов *in vivo*, опосредованному вирусами и носителями, для прямого переноса ДНК можно использовать физические средства, хорошо известные в данной области, включая введение плазмидной ДНК и перенос генов, опосредованный бомбардировкой частицами.

5. Малые молекулы

[0215] Иммуномодулирующее средство может представлять собой малую молекулу. Агонисты и антагонисты малых молекул АКТ3 известны в данной области или могут быть идентифицированы с использованием обычных методов скрининга.

[0216] В некоторых вариантах осуществления изобретения скрининговые исследования могут включать случайный скрининг больших библиотек исследуемых веществ. В качестве альтернативы, исследования могут быть использованы для фокусирования на определенных классах соединений, подозреваемых в модулировании уровня АКТ3. Исследования могут включать определение сигнальной активности, опосредованной АКТ3. Другие исследования могут включать определения

транскрипции или трансляции нуклеиновых кислот, уровней мРНК, стабильности мРНК, деградации мРНК, скоростей транскрипции и скоростей трансляции.

D. Фармацевтические композиции

[0217] В одном варианте осуществления изобретения предлагаются составы и фармацевтические композиции, включающие описанные активаторы или ингибиторы Akt3. Как правило, уровни доз для соединений, раскрытых в настоящем документе, составляют от около 0,0001 мг/кг массы тела до около 1000 мг/кг, более предпочтительно от 0,001 до 500 мг/кг, более предпочтительно от 0,01 до 50 мг/кг массы тела для ежедневного введения млекопитающим.

[0218] Предлагаются фармацевтические композиции, включающие описанные модуляторы Akt3 со средством доставки или без него. Фармацевтические композиции могут быть приготовлены для введения парентеральным (внутримышечная, интраперитонеальная, внутривенная (IV) или подкожная инъекция), энтеральным, трансмукозальным (назальным, вагинальным, ректальным или сублингвальным) или трансдермальным (пассивно или с использованием ионофореза или электропорации) способом введения или с использованием биоразлагаемых вставок и могут быть приготовлены в виде лекарственных форм, характерных для каждого пути введения.

[0219] В некоторых вариантах осуществления изобретения композиции вводят локально, например, путем инъекции непосредственно в место, подлежащее лечению (например, в опухоль). В некоторых вариантах осуществления изобретения композиции вводят инъекцией или вводят иным образом непосредственно в сосудистое русло на сосудистую ткань в предполагаемом месте лечения или рядом с ним (например, рядом с опухолью). Как правило, локальное введение вызывает повышенную локализованную концентрацию композиции, превышающую ту, которая может быть достигнута при системном введении.

1. Составы для парентерального введения

[0220] Соединения и их фармацевтические композиции можно вводить в виде водного раствора путем парентеральной инъекции. Состав также может быть в форме суспензии или эмульсии. Как правило, предлагаются фармацевтические композиции, включающие эффективные количества активного(ых) агента(ов) и необязательно содержащие фармацевтически приемлемые разбавители, консерванты, солюбилизаторы, эмульгаторы, вспомогательные лекарственные вещества и/или

носители. Такие композиции включают разбавители: стерильную воду, забуференный физиологический раствор с различным содержанием буфера (например, Трис-НСl, ацетат, фосфат), рН и ионной силой; и, необязательно, добавки, такие как детергенты и солюбилизирующие средства (например, TWEEN[®] 20, TWEEN[®] 80, также называемые полисорбатами 20 или 80), антиоксиданты (например, аскорбиновая кислота, метабисульфит натрия) и консерванты (например, тимерсол, бензиловый спирт) и наполнители (например, лактоза, маннит). Примерами неводных растворителей или носителей являются пропиленгликоль, полиэтиленгликоль, растительные масла, такие как оливковое масло и кукурузное масло, желатин и органические сложные эфиры для инъекций, такие как этилолеат. Составы могут быть лиофилизированы и повторно растворены/ресуспендированы непосредственно перед использованием. Состав может быть стерилизован, например, фильтрованием через удерживающий бактерии фильтр, включением в композиции стерилизующих средств, облучением композиций или нагреванием композиций.

2. Энтеральные препараты

[0221] Подходящие пероральные лекарственные формы включают таблетки, капсулы, растворы, суспензии, сиропы и таблетки для рассасывания. Таблетки могут быть изготовлены с использованием методов прессования или формования, хорошо известных в данной области. Желатиновые или нежелатиновые капсулы могут быть изготовлены в виде твердых или мягких оболочек капсул, которые могут инкапсулировать жидкие, твердые и полутвердые материалы наполнителя, с использованием методов, хорошо известных в данной области.

[0222] Составы могут быть приготовлены с использованием фармацевтически приемлемого носителя. Как обычно используется в данном документе, «носитель» включает, среди прочих, разбавители, консерванты, связующие вещества, смазывающие вещества, дезинтеграторы, способствующие набуханию вещества, наполнители, стабилизаторы и их комбинации.

[0223] Носитель также включает все компоненты композиции для покрытия, которые могут включать пластификаторы, пигменты, красители, стабилизирующие агенты и вещества, способствующие скольжению. Лекарственные формы с отсроченным высвобождением могут быть приготовлены, как описано в перекрёстных ссылках. В этих источниках дается информация о носителях, материалах,

оборудовании и способах приготовления таблеток и капсул, и лекарственных форм с отсроченным высвобождением в виде таблеток, капсул и гранул.

[0224] Примеры подходящих материалов для покрытия включают, среди прочих, полимеры целлюлозы, такие как ацетатфталат целлюлозы, гидроксипропилцеллюлоза, гидроксипропилметилцеллюлоза, фталат гидроксипропилметилцеллюлозы и ацетатсукцинат гидроксипропилметилцеллюлозы; фталат поливинилацетата, полимеры и сополимеры акриловой кислоты и метакриловые смолы, коммерчески доступные под торговой маркой Eudragit® (Roth Pharma, Westerstadt, Germany), зеин, шеллак и полисахариды.

[0225] Кроме того, материал для покрытия может содержать обычные носители, такие как пластификаторы, пигменты, красители, вещества, способствующие скольжению, стабилизаторы, порообразователи и поверхностно-активные вещества.

[0226] Необязательные фармацевтически приемлемые вспомогательные вещества включают, среди прочих, разбавители, связующие вещества, смазывающие вещества, разрыхлители, красители, стабилизаторы и поверхностно-активные вещества.

Разбавители, также называемые «наполнителями», обычно необходимы для увеличения объема твердой лекарственной формы, чтобы обеспечить практический размер для прессования таблеток или формирования шариков и гранул. Подходящие разбавители включают, среди прочих, дигидрат дикальцийфосфата, сульфат кальция, лактозу, сахарозу, маннит, сорбит, целлюлозу, микрокристаллическую целлюлозу, каолин, хлорид натрия, сухой крахмал, гидролизованные крахмалы, прежелатинизированный крахмал, диоксид кремния, оксид титана, алюмосиликат магния и сахарную пудру.

[0227] Связующие вещества используются для придания когезивных свойств твердой лекарственной форме и, таким образом, гарантируют, чтобы таблетка, шарик или гранула остались неповрежденными после формирования лекарственных форм. Подходящие связующие вещества включают, среди прочих, крахмал, прежелатинизированный крахмал, желатин, сахара (включая сахарозу, глюкозу, декстрозу, лактозу и сорбит), полиэтиленгликоль, воски, природные и синтетические камеди, такие как аравийская камедь, трагакант, альгинат натрия, и целлюлозу, включая гидроксипропилметилцеллюлозу, гидроксипропилцеллюлозу, этилцеллюлозу и вигум, и синтетические полимеры, такие как сополимеры акриловой и метакриловой

кислот, сополимеры метакриловой кислоты, сополимеры метилметакрилата, сополимеры аминоалкилметакрилата, полиакриловая кислота/полиметакриловая кислота и поливинилпирролидон.

[0228] Смазки используются для облегчения производства таблеток. Примеры подходящих смазок включают, среди прочих, стеарат магния, стеарат кальция, стеариновую кислоту, глицеринбегенат, полиэтиленгликоль, тальк и минеральное масло.

[0229] Разрыхлители используются для облегчения дезинтеграции или «разрушения» лекарственной формы после введения и обычно включают, среди прочих, крахмал, натрия крахмала гликолят, натрий-карбоксиметилцеллюлозу, гидроксипропилцеллюлозу, предварительно желатинизированный крахмал, глины, целлюлозу, альгинин, смолы или сшитые полимеры, такие как сшитый PVP (Polyplasdone® XL от GAF Chemical Corp).

[0230] Стабилизаторы используются для ингибирования или замедления реакций распада лекарств, которые включают, как например, окислительные реакции. Подходящие стабилизаторы включают, среди прочих, антиоксиданты, бутилированный гидрокситолуол (butylated hydroxytoluene, БНТ); аскорбиновую кислоту, ее соли и сложные эфиры; витамин Е, токоферол и его соли; сульфиты, такие как метабисульфит натрия; цистеин и его производные; лимонную кислоту; пропилгаллат и бутилгидроксианизол (butylated hydroxyanisole, БНА).

[0231] Пероральные лекарственные формы, такие как капсулы, таблетки, растворы и суспензии, могут быть приготовлены для контролируемого высвобождения. Например, одно или несколько соединений и необязательно один или несколько дополнительных активных агентов могут быть сформированы в виде наночастиц, микрочастиц и их комбинаций и инкапсулированы в мягкую или твердую желатиновую или нежелатиновую капсулу или диспергированы в дисперсионной среде с образованием пероральной суспензии или сиропа. Частицы могут быть образованы лекарственным средством и полимером или матрицей с контролируемым высвобождением. В качестве альтернативы частицы лекарственного средства могут быть покрыты одним или несколькими покрытиями с контролируемым высвобождением до включения в готовую лекарственную форму.

[0232] В другом варианте осуществления изобретения одно или несколько соединений и необязательно один или несколько дополнительных активных агентов диспергируются в матричном материале, который превращается в гель или эмульгируется при контакте с водной средой, такой как физиологические жидкости. В случае гелей матрица набухает, захватывая активные агенты, которые со временем медленно высвобождаются за счет диффузии и/или деградации матричного материала. Такие матрицы могут быть изготовлены в виде таблеток или в качестве наполнителей для твердых и мягких капсул.

[0233] В еще одном варианте осуществления изобретения одно или несколько соединений и необязательно один или несколько дополнительных активных агентов вводят в состав реализуемой лекарственной формы для перорального применения, такой как таблетка или капсула, и твердая лекарственная форма покрывается одним или несколькими покрытиями (слоями) с контролируемым высвобождением, такими как покрытия с отсроченным высвобождением или покрытия с пролонгированным высвобождением. Покрытие или покрытия могут также содержать соединения и/или дополнительные активные агенты.

Лекарственные формы с пролонгированным высвобождением

[0234] Составы с пролонгированным высвобождением обычно получают в виде диффузионных или осмотических систем, которые известны в данной области. Диффузионная система обычно состоит из двух типов устройств, резервуара и матрицы, и хорошо известна и описана в данной области. Матричные устройства обычно изготавливают путем прессования лекарственного средства с медленно растворяющимся полимерным носителем в таблетированную форму. Три основных типа материалов, используемых при изготовлении матричных устройств, представляют собой нерастворимые пластики, гидрофильные полимеры и жирные соединения. Пластиковые матрицы включают, среди прочих, метилакрилат-метилметакрилат, поливинилхлорид и полиэтилен. Гидрофильные полимеры включают, среди прочих, полимеры на основе целлюлозы, такие как метил- и этилцеллюлоза, гидроксилалкилцеллюлозы, такие как гидроксипропилцеллюлоза, гидроксипропилметилцеллюлоза, натрий-карбоксиметилцеллюлоза и Carbol® 934, полиэтиленоксиды и их смеси. Жирные соединения включают, среди прочих, различные воски, такие как карнаубский воск и глицерилтристеарат, и вещества типа

воска, включающие гидрогенизированное касторовое масло или гидрогенизированное растительное масло, или их смеси.

[0235] В некоторых предпочтительных вариантах пластиковый материал представляет собой фармацевтически приемлемый акриловый полимер, включающий, помимо прочего, сополимеры акриловой и метакриловой кислот, метилметакрилат, сополимеры метилметакрилата, этоксиэтилметакрилаты, цианоэтилметакрилат, сополимер аминоксилметакрилата, поли(акриловую кислоту), поли(метакриловую кислоту), сополимер алкиламин метакриловой кислоты, поли(метилметакрилат), поли(метакриловая кислота)(ангидрид), полиметакрилат, полиакриламид, поли(ангидрид метакриловой кислоты) и сополимеры глицидилметакрилата.

[0236] В некоторых предпочтительных вариантах акриловый полимер состоит из одного или нескольких аммонийно-метакрилатных сополимеров. Аммонийно-метакрилатные сополимеры хорошо известны в данной области техники и описаны в NF XVII как полностью полимеризованные сополимеры сложных эфиров акриловой и метакриловой кислот с низким содержанием четвертичных аммониевых групп.

[0237] В одном предпочтительном варианте акриловый полимер представляет собой лак на основе акриловой смолы, такой как лак, который коммерчески доступен от Rohm Pharma под торговой маркой Eudragit®. В других предпочтительных вариантах акриловый полимер содержит смесь двух лаков на основе акриловой смолы, коммерчески доступных от Rohm Pharma под торговыми названиями Eudragit® RL30D и Eudragit® RS30D, соответственно. Eudragit® RL30D и Eudragit® RS30D представляют собой сополимеры акриловых и метакриловых эфиров с низким содержанием четвертичных аммониевых групп, молярное соотношение аммониевых групп к остальным нейтральным (мет)акриловым эфирам составляет 1:20 в Eudragit® RL30D и 1:40 в Eudragit® RS30D. Средняя молекулярная масса составляет около 150 000. Eudragit® S-100 и Eudragit® L-100 также являются предпочтительными. Кодовые обозначения RL (высокая проницаемость) и RS (низкая проницаемость) относятся к свойствам проницаемости этих агентов. Смеси Eudragit® RL/RS нерастворимы в воде и пищеварительных жидкостях. Однако системы из множества частиц, образованные из одних и тех же веществ, способны набухать и быть проницаемы в водных растворах и пищеварительных жидкостях.

[0238] Описанные выше полимеры, такие как Eudragit[®] RL/RS, можно смешивать друг с другом в любом заданном соотношении, чтобы в конечном итоге получить состав с замедленным высвобождением, имеющий оптимальный профиль растворения. Оптимальные системы с замедленным высвобождением, состоящие из множества частиц, могут быть получены, например, из 100 % Eudragit[®] RL, 50 % Eudragit[®] RL и 50 % Eudragit[®] RS и 10 % Eudragit[®] RL и 90 % Eudragit[®] RS. Специалисту в данной области будет понятно, что можно использовать также и другие акриловые полимеры, такие как, например, Eudragit[®] L.

[0239] В качестве альтернативы, составы с пролонгированным высвобождением можно получить с помощью осмотических систем или путем нанесения на лекарственную форму полупроницаемого покрытия. В последнем случае оптимальный профиль высвобождения лекарственного средства может быть достигнут путем комбинирования слабопроницаемых и высокопроницаемых материалов для покрытия в подходящей для этой цели пропорции.

[0240] Приемы с различными механизмами высвобождения лекарственного средства, описанные выше, могут быть объединены в конечную лекарственную форму, содержащую одну или множество структурно обособленных единиц. Примеры множества структурно обособленных единиц включают, помимо прочего, многослойные таблетки и капсулы, содержащие таблетки, шарики или гранулы и т. д.

[0241] Часть с немедленным высвобождением может быть добавлена к системе с пролонгированным высвобождением или путем нанесения слоя с немедленным высвобождением поверх ядра с пролонгированным высвобождением с использованием процесса нанесения покрытия или процесса таблетирования, или в систему множества структурно обособленных единиц, такую как капсула, содержащая шарики с пролонгированным и немедленным высвобождением.

[0242] Таблетки с пролонгированным высвобождением, содержащие гидрофильные полимеры, получают методами, широко известными в данной области, такими как процессы прямого прессования, влажной грануляции или сухой грануляции. Их составы обычно включают полимеры, разбавители, связующие и смазывающие вещества, а также активный фармацевтический ингредиент. Обычные разбавители включают инертные порошкообразные вещества, такие как крахмалы, порошкообразная целлюлоза, особенно кристаллическая и микрокристаллическая

целлюлоза, сахара, такие как фруктоза, маннит и сахароза, зерновую муку и соответствующие пищевые порошки. Типичные разбавители включают, например, различные типы крахмала, лактозу, маннит, каолин, фосфат или сульфат кальция, неорганические соли, такие как хлорид натрия, и сахарную пудру. Также пригодны порошкообразные производные целлюлозы. Типичные связующие для таблеток включают вещества, такие как крахмал, желатин и сахара, такие как лактоза, фруктоза и глюкоза. Также можно использовать природные и синтетические камеди, включая аравийскую камедь, альгинаты, метилцеллюлозу и поливинилпирролидон. Связующими веществами также могут служить полиэтиленгликоль, гидрофильные полимеры, этилцеллюлоза и воски. Для предотвращения прилипания таблетки и пуансонов к матрице в таблетированной форме необходимо наличие смазывающего вещества. Смазывающее вещество выбирают из таких скользких твердых веществ, как тальк, стеарат магния и кальция, стеариновая кислота и гидрогенизированные растительные масла.

[0243] Таблетки с пролонгированным высвобождением, содержащие сырье из воска, обычно получают с использованием способов, известных в данной области, таких как метод прямого смешивания, метод отвердевания (застывания) и метод водной дисперсии. В методе отвердевания лекарственный препарат смешивается с сырьем из воска и либо отвердевает распылением, либо застывает, просеивается и обрабатывается.

Лекарственные формы с отсроченным высвобождением

[0244] Составы с отсроченным высвобождением могут быть созданы путем покрытия твердой лекарственной формы полимерной пленкой, которая нерастворима в кислой среде желудка и растворима в нейтральной среде тонкого кишечника.

[0245] Единичные дозы с отсроченным высвобождением могут быть получены, например, путем нанесения покрытия на лекарственное средство или композицию, содержащую лекарственное средство, выбранным материалом для нанесения покрытия. Композиция, содержащая лекарственное средство, может быть, например, таблеткой для включения в капсулу, таблеткой для применения в качестве внутреннего ядра в лекарственной форме «ядра с покрытием» или в виде множества шариков, частиц или гранул, содержащих лекарственное средство, для включения либо в таблетку, либо в капсулу. Предпочтительные материалы для покрытия включают биоразлагаемые, постепенно гидролизующиеся, постепенно растворяющиеся в воде

и/или ферментативно разлагаемые полимеры и могут быть обычными «энтеросолюбивыми» полимерами. Специалистам в данной области понятно, что энтеросолюбивые полимеры растворяются в среде с более высоким рН в нижнем отделе желудочно-кишечного тракта или медленно разрушаются по мере того, как лекарственная форма проходит через желудочно-кишечный тракт, в то время как ферментативно разлагаемые полимеры разлагаются бактериальными ферментами, присутствующими в нижнем отделе желудочно-кишечного тракта, особенно в толстой кишке. Подходящие материалы для покрытия для осуществления отсроченного высвобождения включают, среди прочих, полимеры на основе целлюлозы, такие как гидроксипропилцеллюлоза, гидроксипропилцеллюлоза, гидроксиметилцеллюлоза, гидроксипропилметилцеллюлоза, ацетат-сукцинат гидроксипропилметилцеллюлозы, фталат гидроксипропилметилцеллюлозы, метилцеллюлоза, ацетатцеллюлоза, этилцеллюлоза, ацетатфталат целлюлозы, ацетат-тримеллитат целлюлозы и натрий-карбоксиметилцеллюлоза; полимеры и сополимеры акриловой кислоты, предпочтительно образованные из акриловой кислоты, метакриловой кислоты, метилакрилата, этилакрилата, метилметакрилата и/или этилметакрилата и других метакриловых смол, которые коммерчески доступны под торговой маркой Eudragit® (Rohm Pharma; Westerstadt, Германия), включая Eudragit® L30D-55 и L100-55 (растворимы при рН 5,5 и выше), Eudragit® L-100 (растворим при рН 6,0 и выше), Eudragit® S (растворим при рН 7,0 и выше, в результате более высокой степени этерификации) и Eudragit® NE, RL и RS (водонерастворимые полимеры, имеющие разную степень проницаемости и способности к расширению); виниловые полимеры и сополимеры, такие как поливинилпирролидон, винилацетат, винилацетатфталат, сополимер винилацетата и кротоновой кислоты и сополимер этилена и винилацетата; ферментативно разлагаемые полимеры, такие как азополимеры, пектин, хитозан, амилоза и гуаровая камедь; зеин и шеллак. Можно также использовать комбинации различных материалов для покрытия. Также могут применяться многослойные покрытия с использованием различных полимеров.

[0246] Предпочтительный вес нанесенного слоя для конкретных материалов для покрытия специалисту в данной области можно легко определить путем оценки индивидуальных кривых высвобождения для таблеток, шариков и гранул, полученных с различными количествами различных материалов для покрытий. Именно сочетание материалов, способа и формы применения обеспечивает желаемые характеристики

высвобождения, которые можно определить только на основании клинических исследований.

[0247] Композиция для нанесения покрытия может включать обычные добавки, такие как пластификаторы, пигменты, красители, стабилизаторы, вещества, способствующие скольжению, и т.д. Пластификатор обычно присутствует для уменьшения хрупкости покрытия и обычно составляет около 10 масс. % до 50 мас. % по отношению к сухой массе полимера. Примеры типичных пластификаторов включают полиэтиленгликоль, пропиленгликоль, триацетин, диметилфталат, диэтилфталат, дибутилфталат, дибутилсебацат, триэтилцитрат, трибутилцитрат, триэтилацетилцитрат, касторовое масло и ацелированные моноглицериды. Стабилизирующий агент предпочтительно используют для стабилизации частиц в дисперсии. Типичными стабилизирующими агентами являются неионогенные эмульгаторы, такие как сложные эфиры сорбитана, полисорбаты и поливинилпирролидон. Вещества, способствующие скольжению, рекомендуются для уменьшения эффектов прилипания во время образования пленки и сушки, и обычно они составляют приблизительно от 25 мас. % до 100 мас. % от массы полимера в пленкообразующем растворе. Одним из эффективных скользящих веществ является тальк. Также можно использовать другие скользящие вещества, такие как стеарат магния и моностеараты глицерина. Также можно использовать пигменты, такие как диоксид титана. Небольшие количества противовспенивающего агента, такого как силикон (например, симетикон), также могут быть добавлены к композиции для нанесения покрытия.

3. Составы для введения пульмональным и мукозальным способом

[0248] Действующее(ие) вещество(а) и их композиции могут применяться в составе для пульмонального или мукозального введения. Введение может включать доставку композиции в легкие, интраназальное, пероральное (сублингвальное, буккальное), вагинальное введение или введение через слизистую оболочку прямой кишки.

[0249] В одном из вариантов осуществления изобретения соединения входят в составы для доставки в легкие, такие как интраназальное введение или пероральная ингаляция. Дыхательные пути являются структурой, участвующей в газообмене между атмосферой и кровотоком. Легкие представляют собой разветвленные структуры, в конечном итоге заканчивающиеся альвеолами, где происходит газообмен. Площадь альвеолярной поверхности является самой большой в дыхательной системе, и именно

здесь происходит всасывание лекарственного средства. Альвеолы покрыты тонким эпителием без ресничек или слизистого защитного слоя и секретируют поверхностно-активные фосфолипиды. Дыхательные пути охватывают верхние дыхательные пути, включая ротовую часть глотки и дыхательное горло, за ними следуют нижние дыхательные пути, которые включают трахею, с последующим разветвлением на бронхи и бронхиолы. Верхние и нижние дыхательные пути называются дыхательными путями, в которых не происходит газообмен. Терминальные бронхиолы затем делятся на респираторные бронхиолы, которые затем ведут в конечную респираторную зону, альвеолы или глубокие легкие. Глубокие легкие, или альвеолы, являются основной целью вдыхаемых терапевтических аэрозолей для системной доставки лекарственного средства.

[0250] Наблюдалось введение пульмональным способом терапевтических композиций, состоящих из низкомолекулярных лекарственных средств, например, бета-андрогенных антагонистов для лечения астмы. Другие терапевтические средства, которые активны в легких, вводились системно и нацелены на легочную абсорбцию. Поступление через слизистую оболочку носа считается перспективным методом введения лекарственных средств по следующим причинам: нос имеет большую площадь поверхности, доступной для абсорбции лекарственных средств, благодаря покрытию поверхности эпителия многочисленными микроворсинками, субэпителиальный слой сильно васкуляризирован, венозная кровь из носа поступает непосредственно в большой круг кровообращения и, следовательно, позволяет избежать потери лекарственного средства при первичном метаболизме в печени, предлагает более низкие дозы, более быстрое достижение терапевтических уровней в крови, более быстрое начало фармакологической активности, меньше побочных эффектов, высокий общий кровоток на см³, пористую базальную мембрану эндотелия и легкую доступность.

[0251] В контексте данного документа термин «аэрозоль» относится к любому препарату мелкодисперсного аэрозоля из частиц, который может находиться в растворе или суспензии, независимо от того, производится он с использованием пропеллента или нет. Аэрозоли могут быть получены с использованием стандартных методов, таких как обработка ультразвуком или обработка высоким давлением.

[0252] Носители для легочных составов можно разделить на носители для составов в виде сухого порошка и для введения в виде растворов. Аэрозоли для доставки

терапевтических средств в дыхательные пути известны в данной области. Для введения через верхние дыхательные пути состав может быть приготовлен в виде раствора, например, водного или изотонического солевого раствора, забуференного или не забуференного, или в виде суспензии, для интраназального применения в виде капель или спрея. Предпочтительно, когда такие растворы или суспензии являются изотоническими по отношению к выделениям из носа и имеют примерно одинаковый pH, например, в диапазоне от примерно pH 4,0 до примерно pH 7,4 или примерно от pH 6,0 до примерно pH 7,0. Буферы должны быть физиологически совместимы и включать, просто в виде примера, фосфатные буферы. Например, типичный представитель противоотёчного препарата для местного применения описан как забуференный до pH около 6,2. Специалист в данной области может легко определить пригодное для этой цели содержание солевого раствора и pH для безвредного водного раствора для назального введения и/или введения в верхние дыхательные пути.

[0253] Предпочтительно, когда водный раствор представляет собой воду, физиологически приемлемые водные растворы, содержащие соли и/или буферы, такие как фосфатно-солевой буфер (phosphate buffered saline, PBS), или любой другой водный раствор, приемлемый для введения животному или человеку. Такие растворы хорошо известны специалистам в данной области и включают, среди прочих, дистиллированную воду, деионизированную воду, чистую или ультрачистую воду, солевой раствор и PBS. Другие подходящие водные носители включают, среди прочих, раствор Рингера и изотонический раствор хлорида натрия. Водные суспензии могут включать суспендирующие средства, такие как производные целлюлозы, альгинат натрия, поливинилпирролидон и трагакантовую камедь, и увлажняющее средство, такое как лецитин. Подходящие консерванты для водных суспензий включают этил- и н-пропил-п-гидроксibenзоат.

[0254] В другом варианте осуществления изобретения для составов можно использовать растворители, которые представляют собой малотоксичные органические (т.е. неводные) остаточные растворители класса 3, такие как этанол, ацетон, этилацетат, тетрагидрофуран, этиловый эфир и пропанол. Растворитель выбирают на основании его способности легко превращать состав в аэрозоль. Растворитель не должен с ущербом реагировать с соединениями. Следует использовать соответствующий растворитель, который растворяет соединения или образует суспензию соединений. Растворитель должен быть достаточно летучим, чтобы

обеспечить образование аэрозоля из раствора или суспензии. Дополнительные растворители или аэрозольные агенты, такие как фреоны, по желанию можно добавить для увеличения летучести раствора или суспензии.

[0255] В одном из вариантов осуществления изобретения композиции могут содержать незначительные количества полимеров, поверхностно-активных веществ или других вспомогательных веществ, хорошо известных специалистам в данной области. В этом контексте «незначительные количества» означает отсутствие вспомогательных веществ, которые могли бы повлиять или опосредовать поглощение соединений в легких, и что присутствующие вспомогательные вещества присутствуют в количествах, которые не оказывают негативного воздействия на поглощение соединений в легких.

[0256] Сухие липидные порошки могут непосредственно диспергироваться в этаноле благодаря их гидрофобному характеру. Для липидов, хранящихся в органических растворителях, например хлороформе, нужное количество раствора помещают в пробирку и хлороформ выпаривают в токе азота с образованием сухой тонкой пленки на поверхности стеклянной пробирки. Пленка легко набухает при ресуспендировании в этаноле. Чтобы полностью диспергировать молекулы липидов в органическом растворителе, суспензию обрабатывают ультразвуком. Неводные суспензии липидов также можно приготовить в абсолютном этаноле с помощью небулайзера многократного пользования PARI LC Jet+ (PARI Respiratory Equipment, Monterey, CA).

[0257] Сухие порошкообразные составы (dry powder formulations, «DPF») с крупным размером частиц обладают улучшенными характеристиками текучести, такими как меньшая агрегация, более легкая аэрозолизация и потенциально меньший фагоцитоз. Сухие порошковые аэрозоли для ингаляционной терапии обычно производятся со средним диаметром, в основном, в пределах менее 5 микрон, хотя предпочтительный диапазон составляет от одного до десяти микрон в аэродинамическом диаметре. Крупные частицы-«переносчики» (не содержащие лекарственного средства) доставляются вместе с терапевтическими аэрозолями, чтобы среди других возможных выгод помочь в достижении эффективной аэрозолизации.

[0258] Полимерные частицы можно получить с использованием выпаривания растворителя из одинарной и двойной эмульсии, высушивания распылением,

экстракции растворителем, выпаривания растворителя, фазового разделения, простой и сложной коацервации, межфазной полимеризации и других способов, хорошо известных специалистам в данной области. Частицы могут быть получены на основе способов изготовления микросфер или микрокапсул, известных в данной области. Предпочтительными способами производства являются сушка распылением и сушка вымораживанием, что влечет за собой использование раствора, содержащего поверхностно-активное вещество, распыление для образования капель необходимого размера и удаление растворителя.

[0259] Частицы могут быть изготовлены из приемлемого материала, с микрогеометрией, диаметром и насыпной плотностью для локализованной доставки в выбранные области дыхательных путей, такие как глубокие отделы легких или верхние дыхательные пути. Например, для доставки в верхние дыхательные пути можно использовать частицы более высокой плотности или более крупные частицы. Совершенно аналогично, смесь частиц разных размеров, обеспеченная одним и тем же или разными EGS, можно вводить в разные целевые области легкого за одно введение.

[0260] Препараты для доставки в легкие включают однослойные фосфолипидные везикулы, липосомы или липопротеиновые частицы. Составы и способы получения таких составов, содержащих нуклеиновую кислоту, хорошо известны специалистам в данной области. Липосомы образуются из коммерчески доступных фосфолипидов, поставляемых различными поставщиками, включая Avanti Polar Lipids, Inc. (Birmingham, Ala.). В одном из вариантов осуществления изобретения липосома может включать молекулу лиганда, специфичную для рецептора на поверхности клетки-мишени, для направления липосомы к клетке-мишени.

4. Трансдермальный

[0261] Также могут быть получены трансдермальные составы. Обычно это мази, лосьоны, спреи или пластыри, которые можно получить с помощью стандартной технологии. Трансдермальные составы могут включать усилители проникновения.

IV. КОМБИНИРОВАННАЯ ТЕРАПИЯ

[0262] Описанные модуляторы Akt3 можно вводить субъекту, нуждающемуся в этом, отдельно или в комбинации с одним или несколькими дополнительными терапевтическими средствами. В некоторых вариантах осуществления изобретения модуляторы Akt3 и дополнительное терапевтическое средство вводят отдельно, но

одновременно. Модуляторы Akt3 и дополнительное терапевтическое средство также можно вводить как часть одной и той же композиции. В других вариантах осуществления изобретения модуляторы Akt3 и второе терапевтическое средство вводят отдельно и в разные моменты времени, но как часть одной и той же схемы лечения.

[0263] Субъекту можно вводить первое терапевтическое средство за 1, 2, 3, 4, 5, 6 или более часов или за 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 или более дней до введения второго терапевтического средства. В некоторых вариантах осуществления изобретения субъекту можно вводить одну или несколько доз первого агента каждые 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 14, 21, 28, 35 или 48 дней до первого введения второго средства. Модуляторы Akt3 могут быть первым или вторым терапевтическим средством.

[0264] Модуляторы Akt3 и дополнительное терапевтическое средство можно вводить в рамках программы лечения. Например, если первое терапевтическое средство можно вводить субъекту каждый четвертый день, второе терапевтическое средство можно вводить в первый, второй, третий или четвертый день или их комбинации. Первое терапевтическое средство или второе терапевтическое средство можно вводить повторно на протяжении всей схемы лечения.

[0265] Приводимые в качестве примера молекулы включают, среди прочих, цитокины, химиотерапевтические средства, радионуклиды, другие иммунотерапевтические средства, ферменты, антибиотики, противовирусные средства (особенно ингибиторы протеазы отдельно или в комбинации с нуклеозидами для лечения ВИЧ или гепатита В или С), антипаразитарные средства (гельминты, простозоа), факторы роста, ингибиторы роста, гормоны, антагонисты гормонов, антитела и их биоактивные фрагменты (включая гуманизированные, одноцепочечные и химерные антитела), антигенные и вакцинные препараты (включая адъюванты), пептидные лекарства, противовоспалительные средства, лиганды, которые связываются с Toll-подобными рецепторами (включая, помимо прочего, олигонуклеотиды CpG) для активации врожденной иммунной системы, молекулы, которые мобилизуют и оптимизируют адаптивную иммунную систему, другие молекулы, которые активируют или усиливают действие цитотоксических Т-лимфоцитов, НК-клеток и Т-хелперов, а также другие молекулы, которые дезактивируют или подавляют супрессорные или регуляторные Т-клетки.

[0266] Дополнительные терапевтические средства выбирают на основе состояния, расстройства или заболевания, подлежащего лечению. Например, модуляторы Akt3 можно вводить совместно с одним или несколькими дополнительными средствами, которые функционируют таким образом, что усиливают или стимулируют иммунный ответ или снижают или ингибируют иммунный ответ.

А. Химиотерапевтические средства

[0267] Описанные модуляторы Akt3 можно комбинировать с одним или несколькими химиотерапевтическими средствами и проапоптотическими средствами. Типичные представители химиотерапевтических средств включают, среди прочих, амсакрин, блеомицин, бусульфан, капецитабин, карбоплатин, кармустин, хлорамбуцил, цисплатин, кладрибин, клофарабин, кризантаспазу, циклофосфамид, цитарабин, дакарбазин, дактиномицин, даунорубицин, доцетаксел, доксорубицин, эпирубицин, этопозид, флударабин, фторурацил, гемцитабин, гидроксикарбамид, идарубицин, ифосфамид, иринотекан, лейковорин, липосомальный доксорубицин, липосомальный даунорубицин, ломустин, мелфалан, меркаптопурин, месна, метотрексат, митомицин, митоксантрон, оксалиплатин, паклитаксел, пеметрексед, пентостатин, прокарбазин, ралтитрексед, сатраплатин, стрептозоцин, тегафур-урацил, темозоломид, тенипозид, тиотепа, тиогуанин, топотекан, треосульфан, винбластин, винкристин, виндезин, винорелбин или их комбинации. Типичные представители проапоптотических средств включают, среди прочих, флударабинтауроспорин, циклогексимид, актиномицин D, лактозилцерамид, 15d-PGJ(2) и их комбинации.

В. Противовоспалительные препараты

[0268] Другие подходящие терапевтические средства включают, среди прочих, противовоспалительные средства. Противовоспалительное средство может быть нестероидным, стероидным или их комбинацией. В одном варианте осуществления изобретения предложены композиции для ухода за полостью рта, содержащие от около 1 % (мас./мас.) до около 5 % (мас./мас.), обычно около 2,5 % (мас./мас.) противовоспалительного средства. Типичные примеры нестероидных противовоспалительных средств включают, помимо прочего, оксикамы, такие как пироксикам, изоксикам, теноксикам, судоксикам; салицилаты, такие как аспирин, дисальцид, бенорилат, трилизат, сафаприн, солприн, дифлунисал и фендосал; производные уксусной кислоты, такие как диклофенак, фенклофенак, индометацин, сулиндак, толметин, изоксепак, фурофенак, тиопинак, зидометацин, ацематацин,

фентиазак, зомепирак, клинданак, оксепинак, фелбинак и кеторолак; фенаматы, такие как мефенамовая, меклофенамовая, флуфенамовая, нифлумовая и толфенамовая кислоты; производные пропионовой кислоты, такие как ибупрофен, напроксен, беноксапрофен, флурбипрофен, кетопрофен, фенопрофен, фенбуфен, индопрофен, пирпрофен, карпрофен, оксапрозин, пранопрофен, миропрофен, тиоксапрофен, супрофен, алминопрофен и тиапрофен; пиразолы, такие как фенилбутазон, оксифенбутазон, фепразон, азапропазон и триметазон. Также можно использовать смеси этих нестероидных противовоспалительных средств.

[0269] Типичные примеры стероидных противовоспалительных препаратов включают, помимо прочего, кортикостероиды, такие как гидрокортизон, гидрокситриамцинолон, альфа-метилдексаметазон, дексаметазон-фосфат, дипропионаты беклометазона, клобетазола валерат, дезонид, дезоксиметазон, дезоксикортикостерона ацетат, дексаметазон, дихлоризон, дифлоразона диацетат, дифлукортолона валерат, флуадренолон, флуклоролона ацетонид, флудрокортизон, флуметазона пивалат, флуоцинолона ацетонида, флуоцинонид, бутиловые эфиры флукортина, флуокортолон, флупреднидена (флупреднилидена) ацетат, флурандренолон, галцинонид, гидрокортизона ацетат, гидрокортизона бутират, метилпреднизолон, триамцинолона ацетонид, кортизон, кортодоксон, флуцетонид, флудрокортизон, дифторзона диацетат, флурадренолон, флудрокортизон, дифлурозона диацетат, флурадренолона ацетонид, медризон, амцинафель, амцинафид, бетаметазон и его сбалансированные эфиры, хлорпреднизон, хлорпреднизона ацетат, клокортелон, клесцинолон, дихлоризон, дифлурпреднат, флуклоронид, флунизолид, фторметалон, флуперолон, флупреднизолон, гидрокортизона валерат, гидрокортизона циклопентилпропионат, гидрокортамат, мепреднизон, параметазон, преднизолон, преднизон, беклометазона дипропионат, триамцинолон и их смеси.

С. Иммунодепрессивные средства

[0270] В некоторых вариантах осуществления изобретения раскрытое в данном документе соединение снижает активность или продукцию Treg. В некоторых вариантах осуществления изобретения соединение, раскрытое в настоящем документе, используется в индукционной терапии рака. В некоторых вариантах осуществления изобретения соединение, описанное в настоящем документе, используется в комбинации с другими иммунотерапевтическими средствами, иммуномодуляторами, костимулирующими активирующими агонистами, другими цитокинами и хемокинами

и факторами, вакцинами, онколитическими вирусами, клеточной терапией, синтетическими препаратами и таргетной терапией, химиотерапией и лучевой терапией. В некоторых вариантах осуществления изобретения иммуномодуляторы включают ингибиторы контрольных точек, такие как анти-PD1, анти-CTLA4, анти-TIM3, анти-LAG3. В некоторых вариантах осуществления изобретения костимулирующие активирующие агонисты включают анти-OX40, анти-GITR и т.п. В некоторых вариантах осуществления изобретения клеточная терапия включает сконструированные Т-клетки, CAR-T, TCR-T-клетки и другие.

[0271] В некоторых вариантах осуществления изобретения соединение, раскрытое в настоящем документе, используется в комбинации с другими иммунотерапевтическими средствами, иммуномодуляторами, биологическими препаратами (например, антителами), вакцинами, синтетическими препаратами и таргетной терапией, противовоспалительными средствами, клеточной терапией (например, сконструированные Treg и другие типы клеток, химиотерапия и лучевая терапия).

[0272] В некоторых вариантах осуществления изобретения раскрытое в настоящем документе соединение, используемое либо отдельно, либо в комбинации с другими средствами, вводят пациенту *in vivo* внутривенно, внутримышечно или другими парентеральными способами. Их также можно вводить интраназально, с помощью ингаляции, ректально, вагинально, местно, перорально или в виде имплантатов. В других вариантах осуществления изобретения соединение, описанное в настоящем документе, либо используемое отдельно, либо в комбинации с другими средствами, применяется *ex vivo* для усиления функции супрессивных Tregs, включая природные Tregs, индуцирующие Tregs, сконструированные Tregs и другие типы супрессорных Т-клеток, которые необязательно могут затем использоваться для лечения пациента.

[0273] В некоторых вариантах осуществления изобретения дополнительное терапевтическое средство представляет собой иммунодепрессант. Иммунодепрессивные средства включают, среди прочих, антитела против других поверхностных маркеров лимфоцитов (например, CD40, интегрин альфа-4) или против цитокинов, слитые белки (например, CTLA-4-Ig (Оренсия[®]), TNFR-Ig (Энбрел[®])), блокаторы TNF-α, такие как Энбрел, Ремикайд, Кимзия и Хумира, циклофосфамид (CTX) (т.е. Эндоксан[®], Цитоксан[®], Неосар[®], Процитокс[®], Ревиммун[™]), метотрексат (methotrexate, MTX) (т.е. Ревматрекс[®], Трексалл[®]), белиумаб (т.е. Бенлиста[®]) или

другие иммунодепрессивные средства (например, циклоспорин А, FK506-подобные соединения, соединения рапамицина или стероиды), антипролиферативные средства, цитотоксические средства или другие соединения, которые могут способствовать иммуносупрессии.

[0274] В некоторых вариантах осуществления изобретения дополнительное терапевтическое средство может представлять собой ингибитор иммунных контрольных точек. В некоторых вариантах осуществления изобретения терапевтическое средство может представлять собой слитый белок CTLA-4, такой как CTLA-4-Ig (абатацепт). Слитые белки CTLA-4-Ig конкурируют с костимулирующим рецептором CD28 на Т-клетках за связывание с CD80/CD86 (B7-1/B7-2) на антигенпрезентирующих клетках и функционируют таким образом, чтобы ингибировать активацию Т-клеток. В другом варианте осуществления изобретения терапевтическое средство представляет собой слитый белок CTLA-4-Ig, известный как белатацепт. Белатацепт содержит две аминокислотные замены (L104E и A29Y), которые заметно повышают его авидность к CD86 *in vivo*. В другом варианте осуществления изобретения терапевтический агент представляет собой Маху-4.

[0275] В другом варианте осуществления изобретения терапевтическое средство представляет собой циклофосфамид (CTX). Циклофосфамид (непатентованное наименование Эндоксан[®], Цитоксан[®], Neosar[®], Процитокс[®], Ревиммун[™]), также известный как цитофосфан, представляет собой азотистый иприт - алкилирующий агент из группы оксазофоринов.

[0276] Терапевтическое средство можно вводить в количестве, эффективном для снижения уровней аутоантител, антител к двухцепочечной ДНК (анти-дцДНК), в крови или сыворотке и/или для уменьшения протеинурии у пациента, нуждающегося в этом.

[0277] В другом варианте осуществления изобретения терапевтическое средство увеличивает количество аденозина в сыворотке, см., например, WO 08/147482 (полностью включено в настоящий документ посредством ссылки). Например, вторым терапевтическим средством может быть CD73-Ig, рекомбинантный CD73 или другое средство (например, цитокин или моноклональное антитело или низкомолекулярный препарат), которое увеличивает экспрессию CD73, см., например, WO 04/084933 (полностью включено в настоящий документ посредством ссылки). В другом варианте

осуществления изобретения терапевтическое средство представляет собой интерферон-бета.

[0278] Терапевтическое средство может представлять собой низкомолекулярную молекулу, которая ингибирует или снижает дифференциацию, пролиферацию, активность и/или продукцию и/или секрецию цитокинов с помощью Th1, Th17, Th22 и/или других клеток, которые секретируют или провоцируют другие клетки секретировать молекулы воспаления, включая, помимо прочего, IL-1 β , TNF- α , TGF-бета, IFN- γ , IL-18, IL-17, IL-6, IL-23, IL-22, IL-21 и MMPs. В другом варианте осуществления изобретения терапевтическое средство представляет собой низкомолекулярную молекулу, которая взаимодействует с Tregs, усиливает активность Tregs, стимулирует или усиливает секрецию IL-10 с помощью Tregs, увеличивает количество Tregs, увеличивает супрессорную способность Tregs или их комбинации.

[0279] В некоторых вариантах осуществления изобретения композиция увеличивает активность или продукцию Treg. Типичные средства, усиливающие Treg, включают, среди прочих, глюкокортикоидный флутиказон, сальметерол, антитела к IL-12, IFN- γ и IL-4; витамин D3 и дексаметазон и их комбинации.

[0280] В некоторых вариантах осуществления изобретения терапевтическое средство представляет собой антитело, например, антитело, блокирующее функции против провоспалительной молекулы, такой как IL-6, IL-23, IL-22 или IL-21.

[0281] В контексте данного документа термин «соединение рапамицина» включает нейтральное трициклическое соединение рапамицина, производные рапамицина, аналоги рапамицина и другие макролидные соединения, которые, как считается, обладают таким же механизмом действия, как и рапамицин (например, ингибирование функции цитокинов). Выражение «соединения рапамицина» включает соединения, имеющие структурное сходство с рапамицином, например, соединения со сходной макроциклической структурой, которые были модифицированы для повышения их терапевтической эффективности. Приводимые в качестве примера соединения рапамицина известны в данной области (см., например, WO95122972; WO 95116691; WO 95104738; Патенты США № 6015809; 5989591; 5567709; 5559112; 5530006; 5484790; 5385908; 5202332; 5162333; 5780462; 5120727; каждый из них полностью включен в настоящий документ посредством ссылки).

[0282] Выражение «FK506-подобные соединения» включает FK506 и производные и аналоги FK506, например, соединения, имеющие структурное сходство с FK506, например, соединения со сходной макроциклической структурой, которые были модифицированы для повышения их терапевтической эффективности. Примеры FK506-подобных соединений включают, например, соединения, описанные в WO 00101385 (полностью включено в настоящий документ посредством ссылки). В некоторых вариантах осуществления изобретения выражение «соединение рапамицина», в контексте данного документа, не включает FK506-подобные соединения.

D. Лечение нейродегенеративных заболеваний

[0283] Описанные модуляторы Akt3 можно вводить со вторым терапевтическим средством, которое выбирают на основании патологического состояния субъекта. Вторым медицинским назначением может быть лечение болезни Альцгеймера. Современные методы лечения болезни Альцгеймера включают, помимо прочего, ингибиторы холинэстеразы, такие как донепезил, ривастигмин и галантамин; мемантин; антидепрессанты, такие как циталопрам, флуоксетин, пароксетин, сертралин и тразадон; транквилизаторы, такие как лоразепам и оксазепам; и нейролептики, такие как арипипразол, клозапин, галоперидол, оланзапин, кветиапин, рисперидон и zipразидон.

[0284] В другом варианте осуществления изобретения дополнительное терапевтическое средство может представлять собой средство для лечения ALS. В настоящее время существует два одобренных FDA США препарата для лечения ALS: рилузол и эдавараон. Было показано, что оба препарата замедляют прогрессирование ALS. Помимо рилузола и эдавараона, пациентов с ALS также можно лечить препаратами, воздействующими на характерный симптом заболевания. Типичные лекарственные средства включают, среди прочих, лекарственные средства для уменьшения спастичности, такие как антиспазматические средства, например баклофен, дантролен и диазепам; препараты, помогающие контролировать невралгию, такие как амитриптилин, карбамазепин, дулоксетин, габапентин, ламотриджин, милнаципран, нортриптилин, прегабалин и венлафаксин; и препараты, помогающие пациентам глотать, такие как тригексифенидил или амитриптилин.

[0285] В одном варианте осуществления изобретения дополнительное терапевтическое средство может представлять собой средство для лечения болезни

Паркинсона. Современные способы лечения болезни Паркинсона включают, помимо прочего, карбидопу-леводопу; агонисты дофаминовых рецепторов, такие как прамипексол, ропинирол и ротиготин; ингибиторы МАО В, такие как селегилин, разагилин и сафинамид; ингибиторы катехол-О-метилтрансферазы, такие как энтакапон и толкапон; антихолинергические средства, такие как бензтропин и тригексифенидил; и амантадин.

[0286] Второе терапевтическое средство может представлять собой средство для лечения болезни Гентингтона. Современные способы лечения болезни Гентингтона включают, помимо прочего, тетрабеназин; нейролептики, такие как галоперидол, хлорпромазин, рисперидон и кветиапин; амантадин; леветирацетам; клоназепам; антидепрессанты, такие как циталопрам, эсциталопрам, флуоксетин и сертралин; и противосудорожные препараты, такие как вальпроат, карбамазепин и ламотриджин.

Е. Лечение потери веса

[0287] В одном варианте осуществления изобретения раскрытые модуляторы Akt3 можно вводить субъекту с дополнительным терапевтическим средством, которое используется для лечения кахексии или экстремальной потери веса. Современная стратегия лечения кахексии и экстремальной потери веса заключается в улучшении аппетита с помощью стимуляторов аппетита для обеспечения адекватного потребления питательных веществ. Для лечения кахексии были использованы фармакологические воздействия стимуляторов аппетита, пищевой добавки, антагонистов 5-HT₃ и ингибитора Cox-2.

[0288] В одном варианте осуществления изобретения стимуляторы аппетита представляют собой витамины, минералы или травы, включая, помимо прочего, цинк, тиамин или рыбий жир. В другом варианте осуществления изобретения стимулятор аппетита представляет собой лекарственное средство, включающее, помимо прочего, дронабинол, мегестерол и оксандролон.

[0289] Хотя в вышеизложенном описании это изобретение было описано в отношении некоторых его вариантов осуществления и многие детали были представлены в целях иллюстрации, специалистам в данной области должно быть ясно, что изобретение допускает дополнительные варианты осуществления и что некоторые детали, описанные в данном документе, могут быть значительно изменены без отклонения от основных принципов изобретения.

[0290] Все процитированные ссылки во всей своей полноте включены в данный документ посредством ссылки. Настоящее изобретение может быть воплощено в других конкретных формах в пределах объема или существенных особенностей изобретения, и, соответственно, ссылка должна быть сделана на прилагаемую формулу изобретения, а не на вышеприведенное описание, на что указывает объем изобретения.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Способ лечения заболевания у субъекта, нуждающегося в этом, включающий введение субъекту композиции, содержащей модулятор Akt3 в количестве, эффективном для модуляции передачи сигналов Akt3 и лечения или задержки прогрессирования заболевания.

2. Способ по п. 1, в котором заболевание выбрано из группы, состоящей из нейродегенеративного заболевания, кахексии, анорексии, осложнения при ожирении, воспалительного заболевания, вызванной вирусом воспалительной реакции, синдрома войны в Персидском заливе, туберозного склероза, пигментного ретинита, отторжения трансплантата, рака, ишемического повреждения тканей, травматического повреждения тканей и их комбинации.

3. Способ по п. 2, в котором заболевание представляет собой нейродегенеративное заболевание.

4. Способ по п. 3, в котором нейродегенеративное заболевание выбрано из группы, состоящей из болезни Паркинсона, болезни Альцгеймера, бокового амиотрофического склероза, заболевания двигательных нейронов, болезни Гентингтона, ВИЧ-индуцированной нейродегенерации, болезни телец Леви, спинальной мышечной атрофии, прионной инфекции, спинально-церебеллярной атаксии, семейной амилоидной полинейропатии и их комбинации.

5. Способ по п. 2, в котором заболевание представляет собой кахексию или анорексию.

6. Способ по п. 2, в котором заболевание является осложнением при ожирении.

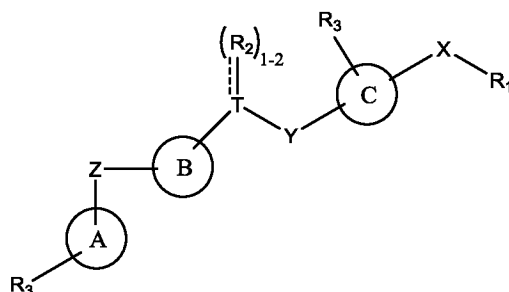
7. Способ по п. 6, в котором осложнение при ожирении выбрано из группы, состоящей из нарушения толерантности к глюкозе, жировой дегенерации печени, дислипидемии и их комбинации.

8. Способ по п. 2, в котором заболевание представляет собой воспалительное заболевание.

9. Способ по п. 8, в котором воспалительное заболевание выбрано из группы, состоящей из атопического дерматита, аллергии, астмы и их комбинации.

10. Способ по п. 2, в котором заболевание представляет собой вызванную вирусом воспалительную реакцию.
11. Способ по п. 10, в котором вызванная вирусом воспалительная реакция представляет собой воспалительный пневмонит, вызванную SARS коронавирусную болезнь 2019 или их комбинацию.
12. Способ по п. 2, в котором заболевание представляет собой синдром войны в Персидском заливе или туберозный склероз.
13. Способ по п. 2, в котором заболевание представляет собой пигментный ретинит или отторжение трансплантата.
14. Способ по п. 2, в котором заболевание представляет собой ишемическое повреждение ткани или травматическое повреждение ткани.
15. Способ по п. 2, в котором заболевание представляет собой рак.
16. Способ по п. 15, в котором рак выбран из группы, состоящей из Т-клеточного лейкоза/лимфомы взрослых, рака мочевого пузыря, головного мозга, молочной железы, шейки матки, колоректального рака, рака пищевода, почек, печени, легких, носоглотки, поджелудочной железы, предстательной железы, кожи, рака желудка, матки, яичников и яичек.
17. Способ по п. 15, в котором рак представляет собой лейкемию.
18. Способ по п. 17, в котором лейкоз представляет собой Т-клеточный лейкоз/лимфому взрослых.
19. Способ по п. 18, в котором Т-клеточный лейкоз/лимфома взрослых вызывается Т-клеточным лимфотропным вирусом человека.
20. Способ по любому из пп. 1-19, в котором Akt3 модулируется в иммунных клетках.
21. Способ по п. 20, в котором иммунные клетки выбраны из группы, состоящей из Т-клеток, В-клеток, макрофагов и глиальных клеток.
22. Способ по п. 21, в котором глиальные клетки представляют собой астроциты, микроглию или олигодендроциты.
23. Способ по п. 21, в котором Т-клетки представляют собой Т-регуляторные клетки.

24. Способ по п. 1 или 2, в котором модулятор Akt3 активирует передачу сигналов Akt3.
25. Способ по п. 1 или 2, в котором модулятор Akt3 ингибирует передачу сигналов Akt3.
26. Способ по п. 1 или 2, в котором модулятор Akt3 повышает активность или продукцию Т-регуляторных клеток.
27. Способ по п. 1 или 2, в котором модулятор Akt3 снижает активность или продукцию Т-регуляторных клеток.
28. Способ по любому из пп. 1-27, в котором модулятор Akt3 представляет собой соединение формулы I:



Формула I

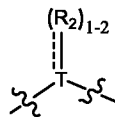
или его фармацевтически приемлемый энантиомер, соль или сольват, в котором:

кольца A, B и C независимо представляют собой шестичленные арильные или N-содержащие гетероарильные моно- или бициклические кольцевые системы, содержащие ноль или более атомов N, выбранные из группы, состоящей из фенила, пиридина, пиримидина, пиридазина, пиразина, триазина, хинолина, хиназолина, изохинолина, нафталина, нафтиридина, индола, изоиндола, циннолина, фталазина, хиноксалина, птеридина, пурина и бензимидазола;

R₁ представляет собой -(C₁-C₃₀)-алкил, -(C₃-C₁₂)-циклоалкил, -(C₃-C₁₂)-гетероциклоалкил, -(C₆-C₂₀)-арил или -(C₃-C₂₀)-гетероарил-группы, необязательно замещенные одним или несколькими заместителями, выбранными из -(C₁-C₁₂)-алкил, -(C₃-C₁₂)-циклоалкил, -(C₃-C₁₂)-гетероциклоалкил, -O-(C₁-C₁₂)-алкил, -O-(C₁-C₁₂)-алкил-(C₆-C₂₀)-арил, -O-(C₃-C₁₂)-циклоалкил, -S-(C₁-C₁₂)-алкил, -S-(C₃-C₁₂)-циклоалкил, -COO-(C₁-C₁₂)-алкил, -COO-(C₃-C₁₂)-циклоалкил, -CONH-(C₁-C₁₂)-алкил, -CONH-(C₃-C₁₂)-циклоалкил, -CO-(C₁-C₁₂)-алкил, -CO-(C₃-C₁₂)-циклоалкил, -N-[(C₁-C₁₂)-алкил]₂, -(C₆-C₂₀)-арил, -(C₆-C₂₀)-арил-(C₁-C₁₂)-алкил, -(C₆-C₂₀)-арил-O-(C₁-C₁₂)-алкил, -(C₃-C₂₀)-

гетероарил, $-(C_3-C_{20})$ -гетероарил- (C_1-C_{12}) -алкил, $-(C_3-C_{20})$ -гетероарил-О- (C_1-C_{12}) -алкил, $-COOH$, $-OH$, $-SH$, $-SO_3H$, $-CN$, $-NH_2$ -групп или атома галогена;

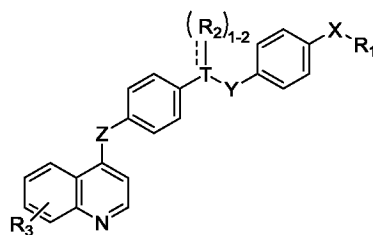
X, Y и Z независимо представляют собой $=O$, $-NH$, $-S$, $-N-(C_1-C_{30})$ -алкил или $-(C_1-C_{30})$ -арил-группы;



представляет собой $-CH((C_1-C_{30})\text{-алкил})$ -, $-(C=O)$ -, $-CH(OH)$, $-SO_2$ -, $-SO$ - или $-CH(SOCH_3)$ -группы; и

R_3 представляет собой $-(C_1-C_{30})$ -алкил, $-(C_3-C_{12})$ -циклоалкил, $-(C_3-C_{12})$ -гетероциклоалкил, $-(C_6-C_{20})$ -арил или $-(C_3-C_{20})$ -гетероарил-группы, необязательно замещенные одним или несколькими заместителями, выбранными из $-(C_1-C_{12})$ -алкил, $-(C_3-C_{12})$ -циклоалкил, $-(C_3-C_{12})$ -гетероциклоалкил, $-O-(C_1-C_{12})$ -алкил, $-O-(C_1-C_{12})$ -алкил- (C_6-C_{20}) -арил, $-O-(C_3-C_{12})$ -циклоалкил, $-S-(C_1-C_{12})$ -алкил, $-S-(C_3-C_{12})$ -циклоалкил, $-COO-(C_1-C_{12})$ -алкил, $-COO-(C_3-C_{12})$ -циклоалкил, $-CONH-(C_1-C_{12})$ -алкил, $-CONH-(C_3-C_{12})$ -циклоалкил, $-CO-(C_1-C_{12})$ -алкил, $-CO-(C_3-C_{12})$ -циклоалкил, $-N-[(C_1-C_{12})\text{-алкил}]_2$, $-(C_6-C_{20})$ -арил, $-(C_6-C_{20})$ -арил- (C_1-C_{12}) -алкил, $-(C_6-C_{20})$ -арил-О- (C_1-C_{12}) -алкил, $-(C_3-C_{20})$ -гетероарил, $-(C_3-C_{20})$ -гетероарил- (C_1-C_{12}) -алкил, $-(C_3-C_{20})$ -гетероарил-О- (C_1-C_{12}) -алкил, $-COOH$, $-OH$, $-SH$, $-SO_3H$, $-CN$, $-NH_2$ -групп или атома галогена.

29. Способ по любому из пп. 1-28, в котором модулятор Akt3 представляет собой соединение формулы II:



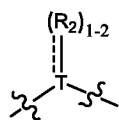
Формула II

или его фармацевтически приемлемый энантиомер, соль или сольват, в котором:

R_1 представляет собой $-(C_1-C_{30})$ -алкил, $-(C_3-C_{12})$ -циклоалкил, $-(C_3-C_{12})$ -гетероциклоалкил, $-(C_6-C_{20})$ -арил или $-(C_3-C_{20})$ -гетероарил-группы необязательно замещенные одним или несколькими заместителями, выбранными из $-(C_1-C_{12})$ -алкил, $-(C_3-C_{12})$ -циклоалкил, $-(C_3-C_{12})$ -гетероциклоалкил, $-O-(C_1-C_{12})$ -алкил, $-O-(C_1-C_{12})$ -алкил- (C_6-C_{20}) -арил, $-O-(C_3-C_{12})$ -циклоалкил, $-S-(C_1-C_{12})$ -алкил, $-S-(C_3-C_{12})$ -циклоалкил, $-COO-(C_1-C_{12})$ -алкил, $-COO-(C_3-C_{12})$ -циклоалкил, $-CONH-(C_1-C_{12})$ -алкил, $-CONH-(C_3-$

C₁₂)-циклоалкил, -CO-(C₁-C₁₂)-алкил, -CO-(C₃-C₁₂)-циклоалкил, -N-[(C₁-C₁₂)-алкил]₂, -(C₆-C₂₀)-арил, -(C₆-C₂₀)-арил-(C₁-C₁₂)-алкил, -(C₆-C₂₀)-арил-O-(C₁-C₁₂)-алкил, -(C₃-C₂₀)-гетероарил, -(C₃-C₂₀)-гетероарил-(C₁-C₁₂)-алкил, -(C₃-C₂₀)-гетероарил-O-(C₁-C₁₂)-алкил, -COOH, -OH, -SH, -SO₃H, -CN, -NH₂-групп или атома галогена;

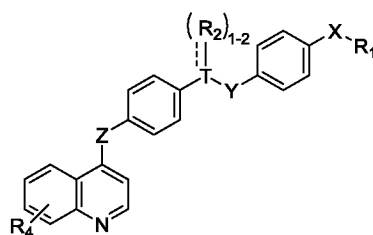
X, Y и Z независимо представляют собой -O, -NH, -S, -N-(C₁-C₃₀)-алкил или -(C₁-C₃₀)-арил-группы;



представляет собой -CH((C₁-C₃₀)-алкил)-, -(C=O)-, -CH(OH), -SO₂-, -SO- или -CH(SOCH₃)-группы; и

R₃ представляет собой -(C₁-C₃₀)-алкил, -(C₃-C₁₂)-циклоалкил, -(C₃-C₁₂)-гетероциклоалкил, -(C₆-C₂₀)-арил или -(C₃-C₂₀)-гетероарил-группы, необязательно замещенные одним или несколькими заместителями, выбранными из -(C₁-C₁₂)-алкил, -(C₃-C₁₂)-циклоалкил, -(C₃-C₁₂)-гетероциклоалкил, -O-(C₁-C₁₂)-алкил, -O-(C₁-C₁₂)-алкил-(C₆-C₂₀)-арил, -O-(C₃-C₁₂)-циклоалкил, -S-(C₁-C₁₂)-алкил, -S-(C₃-C₁₂)-циклоалкил, -COO-(C₁-C₁₂)-алкил, -COO-(C₃-C₁₂)-циклоалкил, -CONH-(C₁-C₁₂)-алкил, -CONH-(C₃-C₁₂)-циклоалкил, -CO-(C₁-C₁₂)-алкил, -CO-(C₃-C₁₂)-циклоалкил, -N-[(C₁-C₁₂)-алкил]₂, -(C₆-C₂₀)-арил, -(C₆-C₂₀)-арил-(C₁-C₁₂)-алкил, -(C₆-C₂₀)-арил-O-(C₁-C₁₂)-алкил, -(C₃-C₂₀)-гетероарил, -(C₃-C₂₀)-гетероарил-(C₁-C₁₂)-алкил, -(C₃-C₂₀)-гетероарил-O-(C₁-C₁₂)-алкил, -COOH, -OH, -SH, -SO₃H, -CN, -NH₂-групп или атома галогена.

30. Способ по любому из пп. 1-28, в котором модулятор Akt3 представляет собой соединение формулы III:



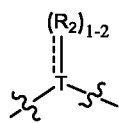
Формула III

или его фармацевтически приемлемый энантиомер, соль или сольват, в котором:

R₁ представляет собой -(C₁-C₃₀)-алкил, -(C₃-C₁₂)-циклоалкил, -(C₃-C₁₂)-гетероциклоалкил, -(C₆-C₂₀)-арил или -(C₃-C₂₀)-гетероарил-группы, необязательно замещенные одним или несколькими заместителями, выбранными из -(C₁-C₁₂)-алкил, -(C₃-C₁₂)-циклоалкил, -(C₃-C₁₂)-гетероциклоалкил, -O-(C₁-C₁₂)-алкил, -O-(C₁-C₁₂)-алкил-

(C₆-C₂₀)-арил, -O-(C₃-C₁₂)-циклоалкил, -S-(C₁-C₁₂)-алкил, -S-(C₃-C₁₂)-циклоалкил, -COO-(C₁-C₁₂)-алкил, -COO-(C₃-C₁₂)-циклоалкил, -CONH-(C₁-C₁₂)-алкил, -CONH-(C₃-C₁₂)-циклоалкил, -CO-(C₁-C₁₂)-алкил, -CO-(C₃-C₁₂)-циклоалкил, -N-[(C₁-C₁₂)-алкил]₂, -(C₆-C₂₀)-арил, -(C₆-C₂₀)-арил-(C₁-C₁₂)-алкил, -(C₆-C₂₀)-арил-O-(C₁-C₁₂)-алкил, -(C₃-C₂₀)-гетероарил, -(C₃-C₂₀)-гетероарил-(C₁-C₁₂)-алкил, -(C₃-C₂₀)-гетероарил-O-(C₁-C₁₂)-алкил, -COOH, -OH, -SH, -SO₃H, -CN, -NH₂-групп или атома галогена;

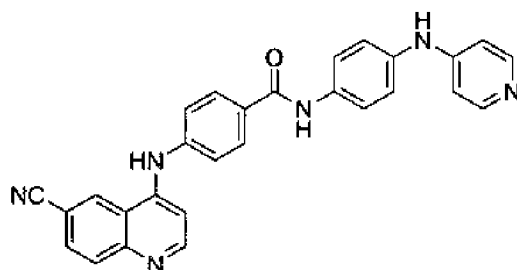
X, Y и Z независимо представляют собой -O, -NH, -S, -N-(C₁-C₃₀)-алкил или -(C₁-C₃₀)-арил-группы;



представляет собой -CH((C₁-C₃₀)-алкил)-, -(C=O)-, -CH(OH), -SO₂-, -SO- или -CH(SOCH₃)-группы; и

R₄ представляет собой -(C₁-C₁₂)-алкил, -(C₃-C₁₂)-циклоалкил, -(C₃-C₁₂)-гетероциклоалкил, -O-(C₁-C₁₂)-алкил, -O-(C₁-C₁₂)-алкил-(C₆-C₂₀)-арил, -O-(C₃-C₁₂)-циклоалкил, -S-(C₁-C₁₂)-алкил, -S-(C₃-C₁₂)-циклоалкил, -COO-(C₁-C₁₂)-алкил, -COO-(C₃-C₁₂)-циклоалкил, -CONH-(C₁-C₁₂)-алкил, -CONH-(C₃-C₁₂)-циклоалкил, -CO-(C₁-C₁₂)-алкил, -CO-(C₃-C₁₂)-циклоалкил, -N-[(C₁-C₁₂)-алкил]₂, -(C₆-C₂₀)-арил, -(C₆-C₂₀)-арил-(C₁-C₁₂)-алкил, -(C₆-C₂₀)-арил-O-(C₁-C₁₂)-алкил, -(C₃-C₂₀)-гетероарил, -(C₃-C₂₀)-гетероарил-(C₁-C₁₂)-алкил, -(C₃-C₂₀)-гетероарил-O-(C₁-C₁₂)-алкил, -COOH, -OH, -SH, -SO₃H, -CN, -NH₂-группы или атом галогена.

31. Способ по любому из пп. 1-28, в котором модулятор Akt3 представляет собой соединение формулы IV:



Формула IV

или его фармацевтически приемлемый энантиомер, соль или сольват.

32. Способ по любому из пп. 1-31, дополнительно включающий введение субъекту второго терапевтического средства.

33. Способ по п. 32, в котором второе терапевтическое средство выбрано из группы, состоящей из пищевой добавки, химиотерапевтического средства, противовоспалительного средства, иммунодепрессанта, ингибитора холинэстеразы, антидепрессанта, анксиолитика, нейролептика, рилузола, эдаварона, агониста дофаминовых рецепторов, ингибитора МАО-В, ингибитора катехол-О-метилтрансферазы, антихолинергического средства, противосудорожного средства, тетрабеназина, карбидопы-леводопы, антиспастического средства, антитела, слитого белка, фермента, нуклеиновой кислоты, рибонуклеиновой кислоты, антипролиферативного средства, цитотоксического средства, стимулятора аппетита, антагониста 5-НТЗ, ингибитора Сох-2 и их комбинации.

34. Способ лечения кахексии у нуждающегося в этом субъекта, включающий введение субъекту композиции, содержащей селективный ингибитор Akt3, в количестве, эффективном для ингибирования передачи сигналов Akt3 в адипоцитах и активации адипогенеза.

35. Способ по п. 34, дополнительно включающий введение субъекту второго терапевтического средства.

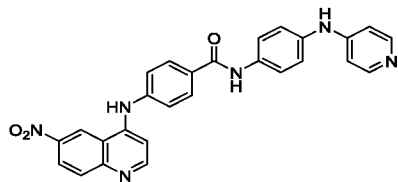
36. Способ по п. 35, в котором второе терапевтическое средство выбрано из группы, состоящей из стимулятора аппетита, пищевой добавки, антагониста 5-НТЗ, ингибитора Сох-2, химиотерапевтического средства, противовоспалительного средства, иммунодепрессивного средства, ингибитора холинэстеразы, антидепрессанта, анксиолитика, нейролептика, рилузола, эдаварона, агониста дофаминовых рецепторов, ингибитора МАО-В, ингибитора катехол-О-метилтрансферазы, антихолинергического средства, противосудорожного средства, тетрабеназина, карбидопы-леводопы, антиспастического средства, антитела, слитого белка, фермента, нуклеиновой кислоты, рибонуклеиновой кислоты, антипролиферативного средства, цитотоксического средства и их комбинации.

37. Способ по п. 36, в котором второе терапевтическое средство представляет собой стимулятор аппетита, пищевую добавку, антагонист 5-НТЗ или ингибитор Сох-2.

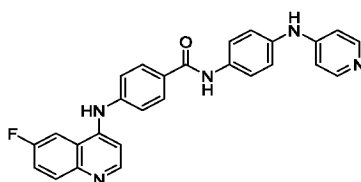
38. Способ по любому из пп. 34-37, в котором у субъекта имеется нейродегенеративное заболевание, кахексия, анорексия, осложнение при ожирении, воспалительное заболевание, вызванная вирусом воспалительная реакция, синдром

войны в Персидском заливе, туберозный склероз, пигментный ретинит, отторжение трансплантата, рак и их комбинация.

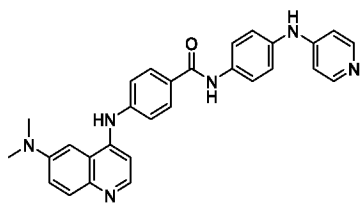
39. Способ по любому из пп. 1-38, в котором ингибитор Akt3 представляет собой соединение, выбранное из группы, состоящей из:



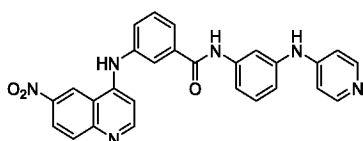
Формула VI,



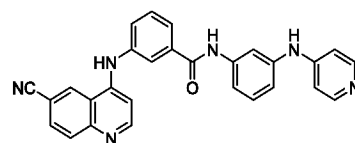
Формула VII,



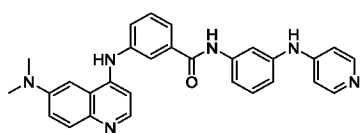
Формула VIII,



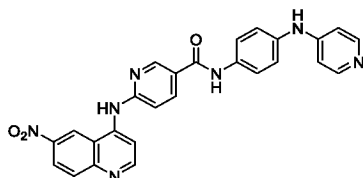
Формула IX,



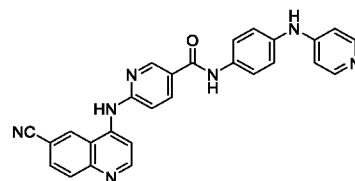
Формула X,



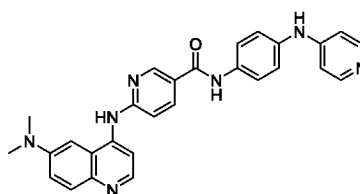
Формула XI,



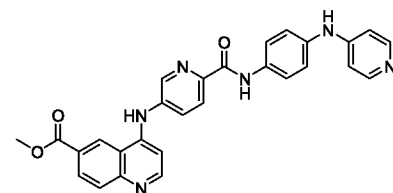
Формула XII,



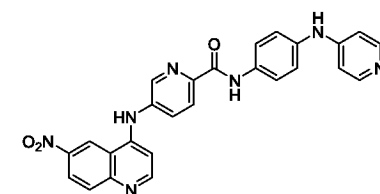
Формула XIII,



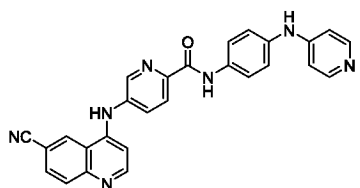
Формула XIV,



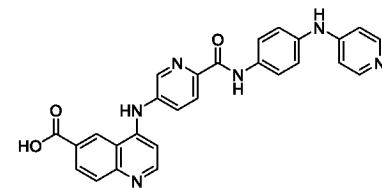
Формула XV,



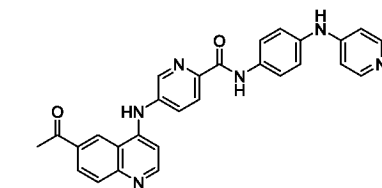
Формула XVI,



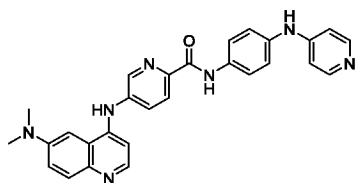
Формула XVII,



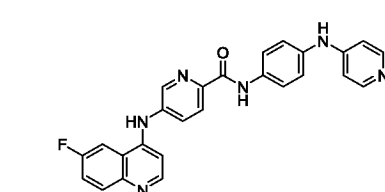
Формула XVIII,



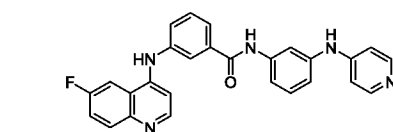
Формула XIX,



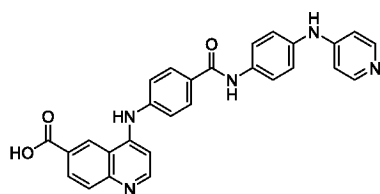
Формула XX,



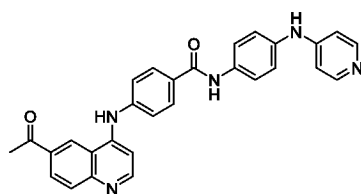
Формула XXI,



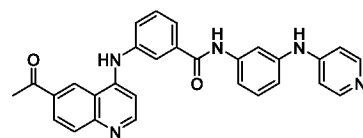
Формула XXII,



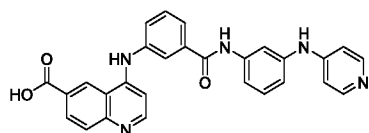
Формула XXIII,



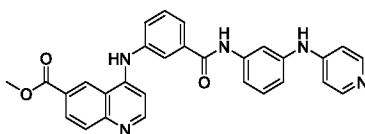
Формула XXIV,



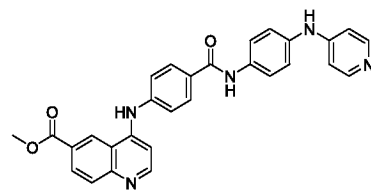
Формула XXV,



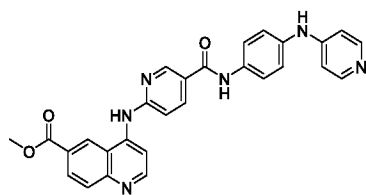
Формула XXVI,



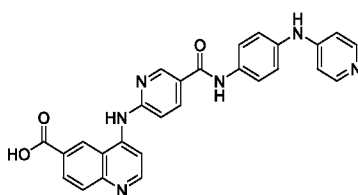
Формула XXVII,



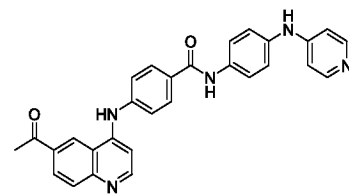
Формула XXVIII,



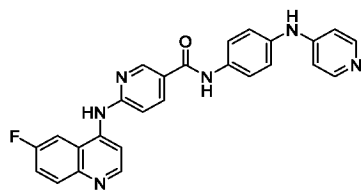
Формула XXIX,



Формула XXX,



Формула XXXI и



Формула XXXII.