

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 534 544**

51 Int. Cl.:

C07D 513/04 (2006.01)

A61K 31/429 (2006.01)

A61P 3/10 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **20.06.2008 E 08768696 (0)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **25.02.2015 EP 2167510**

54 Título: **Compuestos de imidazotiazol moduladores de sirtuina**

30 Prioridad:

20.06.2007 US 936633 P

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:

24.04.2015

73 Titular/es:

**GLAXOSMITHKLINE LLC (100.0%)
Corporation Service Company, 2711 Centreville
Road, Suite 400
Wilmington, Delaware 19808, US**

72 Inventor/es:

**BEMIS, JEAN;
DISCH, JEREMY S.;
JIROUSEK, MICHAEL;
LUNSMANN, WALTER JOSEPH;
NG, PUI YEE y
VU, CHI B.**

74 Agente/Representante:

DE ELZABURU MÁRQUEZ, Alberto

ES 2 534 544 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín europeo de patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Compuestos de imidazotiazol moduladores de sirtuina

Antecedentes

5 La familia de genes Reguladores de Información Silenciosos (SIR) representa un grupo de genes altamente conservados presente en los genomas de organismos que oscilan de arqueobacterias y una variedad de eucariotas (Frye, 2000). Las proteínas SIR codificadas están implicadas en diversos procesos que van desde regulación de silenciamiento de genes hasta reparación de ADN. Las proteínas codificadas por miembros de la familia de genes SIR exhiben alta conservación de secuencias en un dominio de núcleo de 250 aminoácidos. Un gen bien caracterizado en esta familia es *S. cerevisiae* SIR2, que está implicado en la silenciación de los locus HM que
10 contienen información que especifica el tipo sexual de levadura, los efectos de la posición del telómero y el envejecimiento celular (Guarente, 1999; Kaerberlein et al., 1999; Shore, 2000). La proteína Sir2 de levadura pertenece a una familia de histona desacetilasas (revisado en Guarente, 2000; Shore, 2000). El homólogo de Sir2, CobB, en *Salmonella typhimurium*, funciona como una ADP-ribosil transferasa dependiente de NAD (dinucleótido de nicotinamida adenina) (Tsang y Escalante-Semerena, 1998).

15 La proteína Sir2 es una desacetilasa de clase III que usa NAD como un co-sustrato (Imai et al., 2000; Moazed, 2001; Smith et al., 2000; Tanner et al., 2000; Tanny y Moazed, 2001). A diferencia de otras desacetilasas, muchas de las cuales están implicadas en el silenciamiento de genes, Sir2 es insensible a los inhibidores de histona desacetilasa de clases I y II como tricostatina A (TSA) (Imai et al., 2000; Landry et al., 2000a; Smith et al., 2000).

20 La desacetilación de acetil-lisina por Sir2 está firmemente unida a la hidrólisis de NAD, produciendo nicotinamida y un nuevo compuesto acetil-ADP ribosa (Tanner et al., 2000; Landry et al., 2000b; Tanny y Moazed, 2001). La actividad de la desacetilasa dependiente de NAD de Sir2 es esencial ya que sus funciones pueden conectar su papel biológico con el metabolismo celular en levadura (Guarente, 2000; Imai et al., 2000; Lin et al., 2000; Smith et al., 2000). Los homólogos de Sir2 de mamíferos tienen actividad de histona desacetilasa dependiente de NAD (Imai et al., 2000; Smith et al., 2000). La mayoría de la información sobre las funciones mediadas por Sir2 proviene de los
25 estudios en levadura (Gartenberg, 2000; Gottschling, 2000).

Los estudios bioquímicos han mostrado que Sir2 puede desacetilar fácilmente los extremos aminoterminales de las histonas H3 y H4, dando como resultado la formación de 1-O-acetil-ADP-ribosa y nicotinamida. Las cepas con copias adicionales de SIR2 exhiben mayor silenciación de ADN_r y una vida un 30% más larga. Se ha mostrado recientemente que las copias adicionales del homólogo de SIR2 *C. elegans*, sir-2.1 y el gen *D. melanogaster* dSir2
30 extienden en gran medida la vida en esos organismos. Esto implica que la ruta reguladora dependiente de SIR2 para el envejecimiento surgió temprano en la evolución y se ha conservado bien. Hoy en día, se cree que los genes Sir2 han evolucionado para potenciar la salud y la resistencia al estrés de un organismo para aumentar sus probabilidades de sobrevivir a la adversidad.

35 SIRT3 es un homólogo de SIRT1 que se conserva en procariotas y eucariotas (P. Onyango et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 99: 13653-13658 (2002)). La proteína SIRT3 está dirigida a las crestas mitocondriales mediante un dominio único situado en el extremo N. SIRT3 posee actividad proteína desacetilasa dependiente de NAD⁺ y se expresa de manera ubicua, particularmente en los tejidos metabólicamente activos. Tras la transferencia a la mitocondria, se cree que SIRT3 se escinde a una forma activa más pequeña mediante una peptidasa de procesamiento de matriz mitocondrial (MPP) (B. Schwer et al., J. Cell Biol. 158: 647-657 (2002)).

40 Se ha sabido desde hace más de 70 años que la restricción calórica mejora la salud y extiende la vida de los mamíferos (Masoro, 2000). La vida de la levadura, al igual que la de los metazoarios, se extiende también por las intervenciones que se parecen a la restricción calórica, tal como glucosa baja. El descubrimiento de que tanto la levadura como las moscas que carecen del gen SIR2 no viven más cuando están calóricamente restringidas aporta el dato de que los genes SIR2 median los efectos de salud beneficiosos de esta dieta (Anderson et al., 2003; Helfand y Rogina, 2004). Asimismo, las mutaciones que reducen la actividad de la ruta (PKA) dependiente de cAMP (adenosina 3',5'-monofosfato) sensible a glucosa de levadura extienden la vida en células de tipo salvaje en cepas sir2 mutantes, demostrando que SIR2 probablemente va a ser un componente corriente abajo clave de la ruta de restricción calórica (Lin et al., 2001).

50 El documento WO2007019344 describe derivados de imidazol[2,1-b]tiazol como compuestos moduladores de sirtuina.

Compendio

Se proporcionan en esta memoria nuevos compuestos moduladores de sirtuina y métodos de uso de los mismos.

En un aspecto, la invención proporciona compuestos moduladores de sirtuina de Fórmulas IV a VI como se describen en detalle a continuación.

55 En otro aspecto, se describen métodos para usar compuestos moduladores de sirtuina, o composiciones que

comprenden compuestos moduladores de sirtuina. En ciertas realizaciones, los compuestos moduladores de sirtuina que aumentan el nivel y/o la actividad de una proteína sirtuina pueden usarse para una variedad de aplicaciones terapéuticas que incluyen, por ejemplo, aumentar la vida de una célula, y tratar y/o prevenir una amplia variedad de enfermedades y trastornos que incluyen, por ejemplo, enfermedades o trastornos relacionados con el envejecimiento o el estrés, diabetes, obesidad, enfermedades neurodegenerativas, neuropatía inducida por sustancias quimioterapéuticas, neuropatía asociada con un episodio isquémico, enfermedades y/o trastornos oculares, enfermedad cardiovascular, trastornos de coagulación de la sangre, inflamación y/o sofocos, etc. Los compuestos moduladores de sirtuina que aumentan el nivel y/o la actividad de una proteína sirtuina también pueden usarse para tratar una enfermedad o trastorno en un sujeto que se beneficiaría del aumento de la actividad mitocondrial, para potenciar el rendimiento muscular, para incrementar los niveles de ATP en los músculos o para tratar o prevenir el daño del tejido muscular asociado con hipoxia o isquemia. En otras realizaciones, los compuestos moduladores de sirtuina que disminuyen el nivel y/o la actividad de una proteína sirtuina pueden usarse para una variedad de aplicaciones terapéuticas que incluyen, por ejemplo, aumentar la sensibilidad celular al estrés, aumentar la apoptosis, tratamiento del cáncer, estimulación del apetito y/o estimulación del aumento de peso, etc. Como se describe en más detalle a continuación, los métodos comprenden administrar a un sujeto que lo necesita una cantidad farmacéuticamente efectiva de un compuesto modulador de sirtuina.

En ciertos aspectos, los compuestos moduladores de sirtuina pueden administrarse solos o en combinación con otros compuestos, incluyendo otros compuestos moduladores de sirtuina u otros agentes terapéuticos.

Breve descripción de los dibujos

La Figura 1 muestra la forma salina de cloruro del Compuesto 1 caracterizado por Análisis Termogravimétrico (TGA) y Calorimetría de Barrido Diferencial (DSC).

La Figura 2 muestra la forma de base libre del Compuesto 1 caracterizado por Análisis Termogravimétrico (TGA) y Calorimetría de Barrido Diferencial (DSC).

La Figura 3 muestra la glucosa en sangre habiendo comido en la semana 2 en un modelo de ratón DIO administrado con la base libre del Compuesto 1.

La Figura 4 muestra la glucosa en sangre en ayunas en la semana 3 en un modelo de ratón DIO administrado con la base libre del Compuesto 1.

La Figura 5 muestra la glucosa en sangre habiendo comido en la semana 4 en un modelo de ratón DIO administrado con la base libre del Compuesto 1.

La Figura 7 muestra la glucosa en sangre en ayunas en la semana 2 en un modelo de ratón Ob/ob administrado con la base libre del Compuesto 1.

La Figura 8 muestra la glucosa en sangre habiendo comido en la semana 3 en un modelo de ratón Ob/ob administrado con la base libre del Compuesto 1.

La Figura 9 muestra la glucosa en sangre en ayunas en la semana 1 en un modelo de ratón Ob/ob administrado con la base libre o la forma salina de cloruro del Compuesto 1.

La Figura 10 muestra la glucosa en sangre en ayunas en la semana 2 en un modelo de ratón Ob/ob administrado con la base libre o la forma salina de cloruro del Compuesto 1.

Descripción detallada

1. Definiciones

Como se usan en esta memoria, los siguientes términos y frases tendrán los significados expuestos a continuación. A menos que se defina otra cosa, todos los términos tecnológicos y científicos usados en esta memoria tienen el mismo significado que se entiende comúnmente por un experto en la materia.

Las formas singulares "un", "una" y "el/la" incluyen la referencia plural a menos que el contexto indique claramente lo contrario.

El término "agente" se usa en esta memoria para indicar un compuesto químico, una mezcla de compuestos químicos, una macromolécula biológica (tal como un ácido nucleico, un anticuerpo, una proteína o parte de la misma, por ejemplo, un péptido), o un extracto hecho a partir de materiales biológicos tales como bacterias, plantas, hongos o células o tejidos animales (particularmente de mamíferos). La actividad de dichos agentes puede volverlos adecuados como un "agente terapéutico", que es una(s) sustancia (o sustancias) biológica, fisiológica o farmacológicamente activas que actúa local o sistémicamente en un sujeto.

El término "animales de compañía" se refiere a gatos y perros. Como se usa en esta memoria, el término "perro(s)" indica cualquier miembro de la especie *Canis familiaris*, de la cual existe un gran número de razas distintas. El

término "gato(s)" se refiere a un animal felino, incluyendo gatos domésticos y otros miembros de la familia Felidae, género Felis.

El término "comprenden" y "que comprende" se usan en el sentido abierto e inclusivo que indica que pueden incluirse elementos adicionales.

- 5 "Diabetes" se refiere a hiperglucemia o cetoacidosis, como también a anomalías metabólicas generales y crónicas que surgen de un estado de hiperglucemia prolongado o de una reducción en la tolerancia a la glucosa. "Diabetes" abarca tanto las formas de tipo I como de tipo II (Diabetes mellitus no dependiente de insulina o NIDDM) de la enfermedad. Los factores de riesgo para la diabetes incluyen los siguientes factores: cintura de más de 40 pulgadas (101,60 cm) para los hombres o 35 pulgadas (88,90 cm) en las mujeres, presión arterial de 130/85 mmHg o mayor, triglicéridos por encima de 150 mg/dl, glucosa en sangre en ayunas superior a 100 mg/dl o lipoproteína de alta densidad de menos de 40 mg/dl en hombres o 50 mg/dl en mujeres.

- 15 El término "ED₅₀" se reconoce en la técnica. En ciertas realizaciones, ED₅₀ significa la dosis de un fármaco que produce el 50% de su respuesta o efecto máximo, o alternativamente, la dosis que produce una respuesta predeterminada en el 50% de los sujetos o preparados de ensayo. El término "LD₅₀" se reconoce en la técnica. En ciertas realizaciones, LD₅₀ significa la dosis de un fármaco que es mortal en el 50% de los sujetos de ensayo. El término "índice terapéutico" es un término reconocido en la técnica que se refiere al índice terapéutico de un fármaco, definido como LD₅₀/ED₅₀.

El término "hiperinsulinemia" se refiere a un estado en un individuo en el que el nivel de insulina en la sangre es mayor que el normal.

- 20 El término "que incluye" se usa para expresar "que incluye, aunque sin estar limitado a". "Que incluye" y "que incluye, aunque sin estar limitado a" se usan de manera intercambiable.

El término "resistencia a la insulina" se refiere a un estado en el que una cantidad normal de insulina produce una respuesta biológica subnormal en relación a la respuesta biológica en un sujeto que no experimenta resistencia a la insulina.

- 25 Un "trastorno de resistencia a la insulina," como se trata en esta memoria, se refiere a cualquier enfermedad o afección que está causada por o contribuye a la resistencia a la insulina. Los ejemplos incluyen: diabetes, obesidad, síndrome metabólico, síndromes de resistencia a la insulina, síndrome X, resistencia a la insulina, alta presión sanguínea, hipertensión, alto colesterol en sangre, dislipidemia, hiperlipidemia, dislipidemia, enfermedad aterosclerótica que incluye ictus, enfermedad de las arterias coronarias o infarto de miocardio, hiperglucemia, hiperinsulinemia y/o hiperproinsulinemia, intolerancia a la glucosa, liberación demorada de insulina, complicaciones diabéticas que incluyen cardiopatías coronarias, angina de pecho, insuficiencia cardiaca congestiva, ictus, funciones cognitivas en demencia, retinopatía, neuropatía periférica, nefropatía, glomerulonefritis, glomerulosclerosis, síndrome nefrótico, nefrosclerosis hipertensiva, algunos tipos de cáncer (tal como de endometrio, mama, próstata y colon), complicaciones del embarazo, mala salud reproductiva femenina (tal como irregularidades menstruales, esterilidad, ovulación irregular, síndrome del ovario poliquístico (PCOS)), lipodistrofia, trastornos relacionados con el colesterol, tal como cálculos biliares, colecistitis y coledocistitis, gota, apnea del sueño obstructiva y problemas respiratorios, artrosis y prevención y tratamiento de pérdida ósea, por ejemplo, osteoporosis.

- 40 El término "ganado" se refiere a cuadrúpedos domesticados, que incluye aquellos criados para carne y diversos subproductos, por ejemplo, un animal bovino, incluyendo vacas y otros miembros del género Bos, un animal porcino que incluye cerdos domésticos y otros miembros del género Sus, un animal ovino que incluye ovejas y otros miembros del género Ovis, cabras domésticas y otros miembros del género Capra; cuadrúpedos domesticados criados para tareas especializadas tales como uso como bestia de carga, por ejemplo, un equino, incluyendo caballos domésticos y otros miembros de la familia Equidae, género Equus.

- 45 El término "mamífero" se conoce en la técnica, y los ejemplos de mamíferos incluyen seres humanos, primates, ganado (incluidos bovinos, porcinos, etc.), animales de compañía (por ejemplo, cánidos, felinos, etc.) y roedores (por ejemplo, ratones y ratas).

Individuos "obesos" o individuos que padecen obesidad son en general individuos que tienen un índice de masa corporal (IMC) de al menos 25 o más. La obesidad puede o no asociarse con la resistencia a la insulina.

- 50 Los términos "administración parenteral" y "administrado parenteralmente" se reconocen en la técnica y se refieren a modos de administración distintos de la administración enteral y tópica, normalmente por inyección, e incluye sin limitación la inyección e infusión intravenosa, intramuscular, intraarterial, intratecal, intracapsular, intraorbital, intracardiaca, intradérmica, intraperitoneal, transtraqueal, subcutánea, subcuticular, intra-articular, subcapsular, subaracnoidea, intraespinal e intraesternal.

Un "paciente", "sujeto", "individuo" o "huésped" se refiere o bien a un ser humano o a un animal no humano.

- 55 El término "vehículo farmacéuticamente aceptable" se reconoce en la técnica y se refiere a un material, composición

o vehículo farmacéuticamente aceptable, tal como una carga líquida o sólida, diluyente, excipiente, disolvente o material de encapsulado, implicado en llevar o transportar cualquier composición o componente de la misma. Cada vehículo debe ser "aceptable" en el sentido de ser compatible con la composición en cuestión y sus componentes, y no debe ser perjudicial para el paciente. Algunos ejemplos de materiales que pueden servir como vehículos farmacéuticamente aceptables incluyen: (1) azúcares, tales como lactosa, glucosa y sacarosa; (2) almidones, tales como almidón de maíz y almidón de patata; (3) celulosa y sus derivados, tales como carboximetilcelulosa sódica, etilcelulosa y acetato de celulosa; (4) tragacanto en polvo; (5) malta; (6) gelatina; (7) talco; (8) excipientes, tales como manteca de cacao y supositorios de cera; (9) aceites, tales como aceite de cacahuete, aceite de semilla de algodón, aceite de cártamo, aceite de sésamo, aceite de oliva, aceite de maíz y aceite de soja; (10) glicoles, tales como propilenglicol; (11) polioles, tales como glicerina, sorbitol, manitol y polietilenglicol; (12) ésteres, tales como oleato de etilo y laurato de etilo; (13) agar; (14) agentes tampón, tales como hidróxido de magnesio e hidróxido de aluminio; (15) ácido alginico; (16) agua libre de pirógenos; (17) disolución salina isotónica; (18) disolución de Ringer; (19) alcohol etílico; (20) disoluciones tampón de fosfato; y (21) otras sustancias compatibles no tóxicas empleadas en formulaciones farmacéuticas.

El término tratamiento "profiláctico" o "terapéutico" se reconoce en la técnica y se refiere a la administración de un fármaco a un huésped. Si se administra antes de la manifestación clínica del proceso indeseado (por ejemplo, enfermedad u otro estado no deseado del animal huésped), entonces el tratamiento es profiláctico, es decir, protege al huésped frente al desarrollo del proceso no deseado, mientras que si se administra después de la manifestación del proceso no deseado, el tratamiento es terapéutico (es decir, tiene como fin disminuir, mejorar o mantener el proceso indeseado existente o los efectos secundarios derivados de él).

El término "libre de pirógenos", con referencia a una composición, se refiere a una composición que no contiene un pirógeno en una cantidad que conduciría a un efecto adverso (por ejemplo, irritación, fiebre, inflamación, diarrea, problemas respiratorios, choque endotóxico, etc.) en un sujeto al cual se le ha administrado la composición. Por ejemplo, el término pretende abarcar composiciones que están libres, o prácticamente libres, de una endotoxina tal como, por ejemplo, un lipopolisacárido (LPS).

"Vida replicativa" de una célula se refiere al número de células hijas producidas por una "célula madre" individual. "Edad cronológica" o "vida cronológica," por otra parte, se refiere a la longitud de tiempo que una población de células no divididas permanece viable cuando se le agotan los nutrientes. "Aumento de la vida de una célula" o "extensión de la vida de una célula," como se aplica a células u organismos, se refiere a aumentar el número de células hijas producidas por una célula; aumentar la capacidad de las células u organismos para enfrentarse al estrés y combatir el daño, por ejemplo, a ADN, proteínas; y/o aumentar la capacidad de las células u organismos de sobrevivir y existir en estado vivo durante más tiempo bajo una condición particular, por ejemplo, estrés (por ejemplo, choque térmico, estrés osmótico, radiación de alta energía, estrés inducido químicamente, daño al ADN, nivel de sal inadecuado, nivel de nitrógeno inadecuado o nivel de nutrientes inadecuado). La vida puede aumentarse en al menos aproximadamente 20%, 30%, 40%, 50%, 60% o entre 20% y 70%, 30% y 60%, 40% y 60% o más, usando los métodos descritos en esta memoria.

"Compuesto activador de sirtuina" se refiere a un compuesto que aumenta el nivel de una proteína sirtuina y/o aumenta al menos una actividad de una proteína sirtuina. En una realización ilustrativa, un compuesto activador de sirtuina puede aumentar al menos una actividad biológica de una proteína sirtuina en al menos aproximadamente 10%, 25%, 50%, 75%, 100% o más. Las actividades biológicas ilustrativas de las proteínas sirtuina incluyen desacetilación, por ejemplo, de histonas y p53; extensión de la vida; aumento de la estabilidad genómica; silenciamiento de la transcripción; y control de la segregación de proteínas oxidadas entre células madre e hija.

"Compuesto inhibidor de sirtuina" se refiere a un compuesto que reduce el nivel de una proteína sirtuina y/o reduce al menos una actividad de una proteína sirtuina. En una realización ilustrativa, un compuesto inhibidor de sirtuina puede reducir al menos una actividad biológica de una proteína sirtuina en al menos aproximadamente 10%, 25%, 50%, 75%, 100% o más. Las actividades biológicas ilustrativas de las proteínas sirtuina incluyen desacetilación, por ejemplo, de histonas y p53; extensión de la vida; aumento de la estabilidad genómica; silenciamiento de la transcripción; y control de la segregación de proteínas oxidadas entre células madre e hija.

El "compuesto modulador de sirtuina" se refiere a un compuesto de Fórmulas (I)-(VI) como se describe en esta memoria. En realizaciones ilustrativas, un compuesto modulador de sirtuina puede o bien incrementar (por ejemplo, activar o estimular), reducir (por ejemplo, inhibir o suprimir) o de algún otro modo cambiar una propiedad funcional o actividad biológica de una proteína sirtuina. Los compuestos moduladores de sirtuina pueden actuar para modular una proteína sirtuina o bien directa o indirectamente. En ciertas realizaciones, un compuesto modulador de sirtuina puede ser un compuesto activador de sirtuina o un compuesto inhibidor de sirtuina.

"Proteína sirtuina" se refiere a un miembro de la familia de proteínas sirtuina desacetilasa, o preferiblemente a la familia sir2, que incluyen las proteínas de levadura Sir2 (Núm. de acceso en GenBank P53685), *C.elegans* Sir-2.1 (Núm. de acceso en GenBank NP_501912) y SIRT1 humana (Núm. de acceso en GenBank NM_012238 y NP_036370 (o AF083106)) y SIRT2 (Núm. de acceso en GenBank NM_012237, NM_030593, NP_036369, NP_085096 y AF083107). Otros miembros de la familia incluyen los cuatro genes adicionales de tipo Sir2 de levadura denominados "*genes HST*" (homólogos de Sir dos) HST1, HST2, HST3 y HST4, y los otros cinco

homólogos humanos hSIRT3, hSIRT4, hSIRT5, hSIRT6 y hSIRT7 (Brachmann et al. (1995) Genes Dev. 9:2888 y Frye et al. (1999) BBRC 260:273). Las sirtuinas preferidas son aquellas con mayores similitudes con SIRT1, es decir, hSIRT1, y/o Sir2 que con SIRT2, tal como aquellos miembros que tienen por lo menos parte de la secuencia N-terminal presente en SIRT1 y ausente en SIRT2, tal como tiene SIRT3.

5 "Proteína SIRT1" se refiere a un miembro de la familia sir2 de sirtuina desacetilasas. En una realización, una proteína SIRT1 incluye las proteínas Sir2 de levadura (Núm. de acceso en GenBank P53685), *C. elegans* Sir-2.1 (Núm. de acceso en GenBank NP_501912), SIRT1 humana (Núm. de acceso en GenBank NM_012238 o NP_036370 (o AF083106)) y SIRT2 humana (Núm. de acceso en GenBank NM_012237, NM_030593, NP_036369, NP_085096 o AF083107) y equivalentes y fragmentos de los mismos. En otra realización, una proteína SIRT1
10 incluye un polipéptido que comprende una secuencia que consiste en, o que consiste esencialmente en, la secuencia de aminoácidos expuesta en los núm. de acceso en GenBank NP_036370, NP_501912, NP_85096, NP_036369 o P53685. Las proteínas SIRT1 incluyen polipéptidos que comprenden toda o una parte de la secuencia de aminoácidos expuesta en los núm. de acceso en GenBank NP_036370, NP_501912, NP_085096, NP_036369 o P53685; la secuencia de aminoácidos expuesta en los núm. de acceso en GenBank NP_036370, NP_501912,
15 NP_085096, NP_036369 o P53685 con 1 a aproximadamente 2, 3, 5, 7, 10, 15, 20, 30, 50, 75 o más sustituciones de aminoácidos conservadoras; una secuencia de aminoácidos que es al menos 60%, 70%, 80%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98% o 99% idéntica a los núm. de acceso en GenBank NP_036370, NP_501912, NP_085096, NP_036369 o P53685, y fragmentos funcionales de los mismos. Los polipéptidos también incluyen homólogos (por ejemplo, ortólogos y parálogos), variantes o fragmentos, de los núms. de acceso en GenBank NP_036370, NP_501912,
20 NP_085096, NP_036369 o P53685.

"Proteína SIRT3" se refiere a un miembro de la familia de proteínas sirtuina desacetilasa y/o a un homólogo de una proteína SIRT1. En una realización, una proteína SIRT3 incluye las proteínas SIRT3 humana (núm. de acceso en GenBank AAH01042, NP_036371 o NP_001017524) y SIRT3 de ratón (núm. de acceso en GenBank NP_071878), y equivalentes y fragmentos de los mismos. En otra realización, una proteína SIRT3 incluye un polipéptido que
25 comprende una secuencia que consiste en, o que consiste esencialmente en, la secuencia de aminoácidos expuesta en los núms. de acceso en GenBank AAH01042, NP_036371, NP_001017524 o NP_071878. Las proteínas SIRT3 incluyen los polipéptidos que comprenden toda o una parte de la secuencia de aminoácidos expuesta en los núms. de acceso en GenBank AAH01042, NP_036371, NP_001017524 o NP_071878; la secuencia de aminoácidos expuesta en los núms. de acceso en GenBank AAH01042, NP_036371, NP_001017524 o NP_071878 con 1 a
30 aproximadamente 2, 3, 5, 7, 10, 15, 20, 30, 50, 75 o más sustituciones de aminoácidos conservadoras; una secuencia de aminoácidos que es al menos 60%, 70%, 80%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98% o 99% idéntica a los núms. de acceso en GenBank AAH01042, NP_036371, NP_001017524 o NP_071878, y fragmentos funcionales de los mismos. Los polipéptidos también incluyen homólogos (por ejemplo, ortólogos y parálogos), variantes o fragmentos, de los núms. de acceso en GenBank AAH01042, NP_036371, NP_001017524 o NP_071878. En una realización,
35 una proteína SIRT3 incluye un fragmento de la proteína SIRT3 que se produce por escisión con una peptidasa de procesado de matriz mitocondrial (MPP) y/o una peptidasa intermedia mitocondrial (MIP).

Los términos "administración sistémica," "administrado sistémicamente," "administración periférica" y "administrado periféricamente" se reconocen en la técnica y se refieren a la administración de una composición, sustancia terapéutica u otro material que no sea directamente al sistema nervioso central, de modo que entra en el sistema del
40 paciente y, por ende, esté sujeto a metabolismo y otros procesos similares.

El término "agente terapéutico" se reconoce en la técnica y se refiere a cualquier resto químico que es una sustancia biológica, fisiológica o farmacológicamente activa que actúa local o sistémicamente en un sujeto. El término también significa cualquier sustancia prevista para el uso en el diagnóstico, cura, mitigación, tratamiento o prevención de enfermedad o en la mejoría del desarrollo físico o mental deseable y/o de procesos en un animal o ser humano.

45 El término "efecto terapéutico" se reconoce en la técnica y se refiere a un efecto local o sistémico en animales, particularmente mamíferos, y más particularmente seres humanos, provocado por una sustancia farmacológicamente activa. La frase "cantidad terapéuticamente efectiva" se refiere a la cantidad de una sustancia tal que produce algún efecto deseado local o sistémico deseado con una relación razonable beneficio/riesgo aplicable a cualquier tratamiento. La cantidad terapéuticamente efectiva de dicha sustancia variará dependiendo del
50 sujeto y de la enfermedad que se trata, el peso y la edad del sujeto, la gravedad de la enfermedad, el modo de administración y similares, que el experto en la técnica puede determinar fácilmente. Por ejemplo, ciertas composiciones descritas en esta memoria pueden administrarse en una cantidad suficiente para producir un efecto deseado con una relación razonable beneficio/riesgo aplicable a dicho tratamiento.

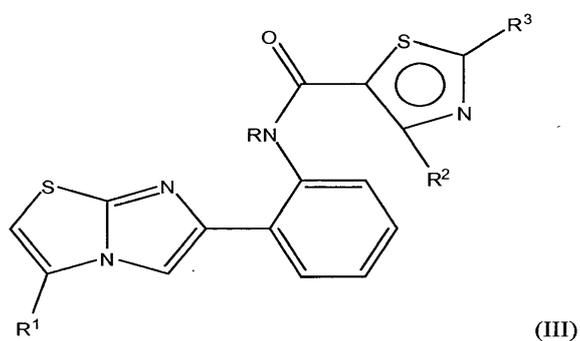
55 "Tratar" un proceso o enfermedad se refiere a curar además de aliviar por lo menos un síntoma del proceso o enfermedad.

El término "deterioro de la visión" se refiere a disminución de la visión, que con frecuencia es reversible solo parcialmente o es irreversible tras el tratamiento (por ejemplo, cirugía). El deterioro de la visión particularmente severo se denomina "ceguera" o "pérdida de visión", que se refiere a una pérdida completa de la visión, a la visión peor que 20/200 que no puede mejorarse con lentes correctoras, o a un campo visual de menos de 20 grados de diámetro (radio de 10 grados).
60

2. Moduladores de sirtuina

En un aspecto, la invención proporciona nuevos compuestos moduladores de sirtuina para tratar y/o prevenir una amplia variedad de enfermedades y trastornos, que incluyen, por ejemplo, enfermedades o trastornos relacionados con el envejecimiento o el estrés, diabetes, obesidad, enfermedades neurodegenerativas, enfermedades y trastornos oculares, enfermedad cardiovascular, trastornos de coagulación de la sangre, inflamación, cáncer y/o sofocos, etc. Los compuestos moduladores de sirtuina que aumentan el nivel y/o la actividad de una proteína sirtuina pueden también usarse para tratar una enfermedad o trastorno en un sujeto que se beneficiaría del aumento de la actividad mitocondrial, para mejorar el rendimiento muscular, para aumentar los niveles de ATP musculares o para tratar o prevenir el daño del tejido muscular asociado con hipoxia e isquemia. Otros compuestos descritos en esta memoria pueden ser adecuados para el uso en una composición farmacéutica y/o uno o más métodos descritos en esta memoria.

En una realización, los compuestos moduladores de sirtuina de la invención se representan por la Fórmula Estructural (III):



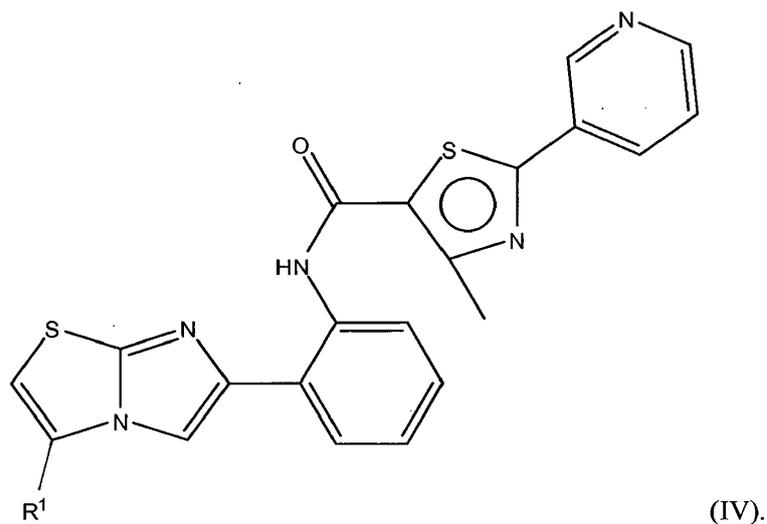
o una sal del mismo, en donde:

15 R es -H o -CH₃;

R¹ es un grupo (morfolino sustituido o no sustituido)metilo o un grupo 1,2,4-triazolilmetilo;

R² es -H o -CH₃; y

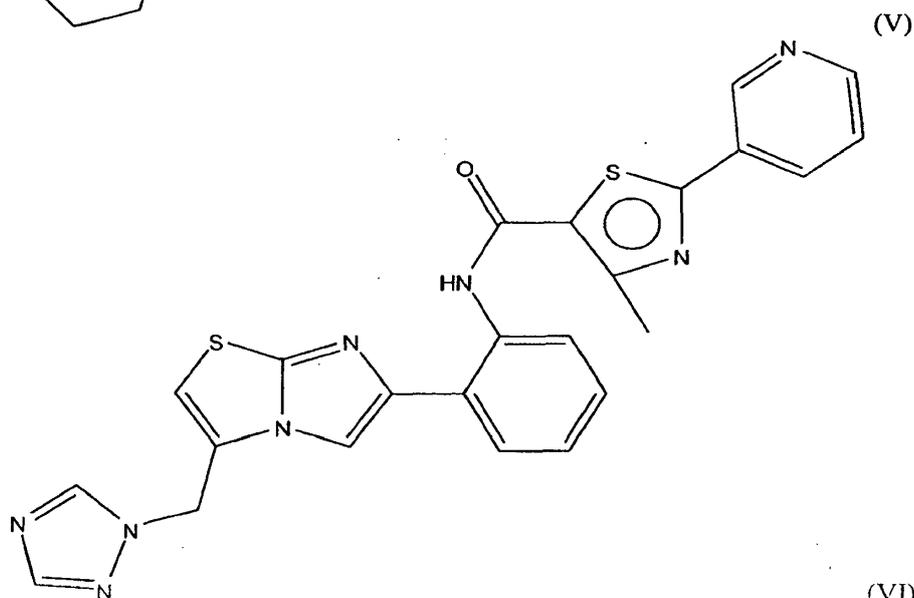
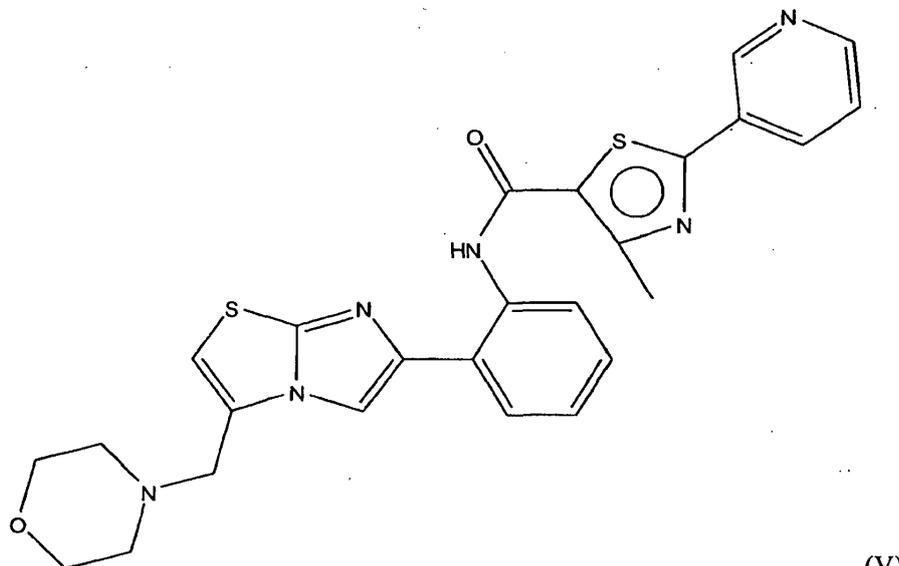
R³ es un grupo piridilo no sustituido, o (IV):



20 en donde valores adecuados de R¹ son como se describen anteriormente.

Sustituyentes ilustrativas para los restos heterocíclicos en R¹ incluyen uno o más grupos hidroxilo, halo o metilo.

Ejemplos de compuestos representados por la Fórmula Estructural (III) incluyen los representados por las Fórmulas Estructurales (V) y (VI):



5 Los compuestos de la invención, que incluyen los nuevos compuestos de la invención, pueden también usarse en los métodos descritos en esta memoria.

Los compuestos moduladores de sirtuina de la invención ventajosamente modulan el nivel y/o la actividad de una proteína sirtuina, particularmente la actividad de desacetilasa de la proteína sirtuina.

10 Separadamente o además de las propiedades anteriores, ciertos compuestos moduladores de sirtuina de la invención no tienen sustancialmente una o más de las siguientes actividades: inhibición de PI3-quinasa, inhibición de aldorreductasa, inhibición de tirosinaquinasa, transactivación de EGFR tirosina quinasa, dilatación coronaria o actividad espasmolítica, a concentraciones del compuesto que son eficaces para modular la actividad de desacetilación de una proteína sirtuina (por ejemplo, tal como una proteína SIRT1 y/o SIRT3).

15 Un grupo alquilo es un hidrocarburo de cadena lineal, ramificado o cíclico no aromático que está completamente saturado. Típicamente, un grupo alquilo de cadena lineal o ramificado tiene de 1 a aproximadamente 20 átomos de carbono, preferiblemente de 1 a aproximadamente 10, y un grupo alquilo cíclico tiene de 3 a aproximadamente 10 átomos de carbono, preferiblemente de 3 a aproximadamente 8. Los ejemplos de grupos alquilo de cadena lineal y ramificados incluyen metilo, etilo, n-propilo, iso-propilo, n-butilo, sec-butilo, terc-butilo, pentilo, hexilo, pentilo y octilo. Un grupo alquilo de cadena lineal o ramificado C1-C4 también se denomina grupo "alquilo inferior".

Los grupos aromáticos (arilo) incluyen grupos aromáticos carbocíclicos tales como fenilo, naftilo y antracilo, y grupos heteroarilo tales como imidazolilo, tienilo, furilo, piridilo, pirimidilo, piranilo, pirazolilo, pirroilo, pirazinilo, tiazolilo, oxazolilo y tetrazolilo.

5 Los grupos aromáticos también incluyen sistemas de anillos aromáticos policíclicos condensados en los que un anillo aromático carbocíclico o un anillo heteroarilo está condensado a uno o más anillos heteroarilo distintos. Los ejemplos incluyen benzotienilo, benzofurilo, indolilo, quinolinilo, benzotiazol, benzoxazol, bencimidazol, quinolinilo, isoquinolinilo e isoindolilo.

10 Los anillos heterocíclicos no aromáticos son anillos carbocíclicos no aromáticos que incluyen uno o más heteroátomos tales como nitrógeno, oxígeno o azufre en el anillo. El anillo puede tener cinco, seis, siete u ocho miembros. Los ejemplos incluyen tetrahidrofurilo, tetrahidrotiofenilo, morfolino, tiomorfolino, pirrolidinilo, piperazinilo, piperidinilo y tiazolidinilo, junto con la forma cíclica de azúcares.

Un anillo condensado a un segundo anillo comparte por lo menos un enlace en común.

15 Los sustituyentes adecuados en un grupo alquilo, heterociclilo no aromático o arilo (carbocíclico y heteroarilo) son aquellos que no interfieren sustancialmente con la capacidad de los compuestos descritos para tener una o más de las propiedades descritas en esta memoria. Un sustituyente interfiere sustancialmente con las propiedades de un compuesto cuando la magnitud de la propiedad se reduce en más de aproximadamente 50% en un compuesto con el sustituyente en comparación con un compuesto sin el sustituyente. Ejemplos de sustituyentes adecuados incluyen

20 -OH, halógeno (-Br, -Cl, -I y -F), -OR^a, -O-COR^a, -COR^a, -C(O)R^a, -CN, -NO², -COOH, -COOR^a, -OCO₂R^a, -C(O)NR^aR^b, -OC(O)NR^aR^b, -SO₃H, -NH₂, -NHR^a, -N(R^aR^b), -COOR^a, -CHO, -CONH₂, -CONHR^a, -CON(R^aR^b), -NHCOR^a, -NRCOR^a, -NHCONH₂, -NHCONR^aH, -NHCON(R^aR^b), -NR^cCONH₂, -NR^cCONR^aH, -NR^cCON(R^aR^b), -C(=NH)-NH₂, -C(=NH)-NHR^a, -C(=NH)-N(R^aR^b), -C(=NR^c)-NH₂, -C(=NR^c)-NHR^a, -C(=NR^c)-N(R^aR^b), -NH-C(=NH)-NH₂, -NH-C(=NH)-NHR^a, -NH-C(=NH)-N(R^aR^b), -NH-C(=NR^c)-NH₂, -NH-C(=NR^c)-NHR^a, -NH-C(=NR^c)-N(R^aR^b), -NR^dH-C(=NH)-NH₂, -NR^d-C(=NH)-NHR^a, -NR^d-C(=NH)-N(R^aR^b), -NR^d-C(=NR^c)-NH₂, -NR^d-C(=NR^c)-NHR^a, -NR^d-C(=NR^c)-N(R^aR^b), -NHNH₂, -NHNHR^a, -NHR^aR^b, -SO₂NH₂, -SO₂NHR^a, -SO₂NR^aR^b, -CH=CHR^a, -CH=CR^aR^b, -CR^c=CR^aR^b, CR^c=CHR^a, -CR^c=CR^aR^b, -CCR^a, -SH, -SO_kR^a (k es 0, 1 o 2), -S(O)_kOR^a (k es 0, 1 o 2) y -NH-C(=NH)-NH₂. R^a-R^d son cada uno independientemente un grupo sustituido opcionalmente seleccionado de un grupo alifático, bencilo o aromático, preferiblemente un grupo alquilo, bencílico o arilo. Los sustituyentes opcionales en R^a-R^d se seleccionan de NH₂, NH(C₁₋₄ alifático), N(C₁₋₄ alifático)₂, halógeno, C₁₋₄ alifático, OH, O(C₁₋₄ alifático), NO₂, CN, CO₂H, CO₂(C₁₋₄ alifático), O(haloC₁₋₄ alifático), o haloC₁₋₄ alifático, en donde cada uno de los grupos C₁₋₄ alifático precedentes no están sustituidos. Además, -NR^aR^b, tomados juntos, pueden también formar un grupo heterocíclico no aromático, sustituido o no sustituido. Un grupo heterocíclico no aromático, grupo bencílico o grupo arilo puede también tener un grupo alifático o alifático sustituido como un sustituyente. Un grupo alifático sustituido puede también tener un anillo heterocíclico no aromático, un anillo heterocíclico no aromático sustituido, grupo bencilo, bencilo sustituido, arilo o arilo sustituido como un sustituyente. Un grupo heterocíclico no aromático, alifático sustituido, arilo sustituido o bencilo sustituido puede tener más de un sustituyente.

35

Los sustituyentes típicos en un anillo arilo se seleccionan de un grupo solubilizante, halógeno; -R^o; -OR^o; -SR^o; 1,2-metilendioxi; 1,2-etilendioxi; fenilo (Ph) opcionalmente sustituido con R^o; -O(Ph) opcionalmente sustituido con R^o; -(CH₂)₁₋₂(Ph), opcionalmente sustituido con R^o; -CH=CH(Ph), opcionalmente sustituido con R^o; -NO₂; -CN; -N(R^o)₂; -C(O)C(O)R^o; -C(O)CH₂C(O)R^o; -CO₂R^o; -C(O)R^o; -S(O)₂R^o; -SO₂N(R^o)₂; -S(O)R^o; -NR^oSO₂N(R^o)₂; -NR^oSO₂R^o; -C(=S)N(R^o)₂; o -C(=NH)-N(R^o)₂; o en donde cada ocurrencia independiente de R^o se selecciona de hidrógeno, C₁₋₆ alifático opcionalmente sustituido, un anillo heteroarilo o heterocíclico de 5-6 miembros no sustituido, fenilo, -O(Ph) o -CH₂(Ph), o, a pesar de la definición anterior, dos ocurrencias independientes de R^o, en el mismo sustituyente o diferentes sustituyentes, puestos juntos con el(los) átomo(s) a que cada grupo R^o está unido, forman un cicloalquilo de 3-8 miembros, heterociclilo, arilo o anillo heteroarilo que tiene 0-3 heteroátomos seleccionados independientemente de nitrógeno, oxígeno o azufre. Los sustituyentes opcionales en el grupo alifático de R^o se seleccionan de NH₂, NH(C₁₋₄ alifático), N(C₁₋₄ alifático)₂, halógeno, C₁₋₄ alifático, OH, O(C₁₋₄ alifático), NO₂, CN, CO₂H, CO₂(C₁₋₄ alifático), O(haloC₁₋₄ alifático), o halo C₁₋₄ alifático, en donde cada uno de los grupos C₁₋₄ alifático precedentes de R^o no están sustituidos.

40

45

Las combinaciones de sustituyentes y variables contempladas por esta invención son solamente aquellas que dan por resultado la formación de compuestos estables. Como se usa en esta memoria, el término "estable" se refiere a compuestos que poseen la estabilidad suficiente para permitir la fabricación y que mantienen la integridad del compuesto durante un periodo de tiempo suficiente para ser útiles a los fines que se detallan en esta memoria.

50

Los compuestos descritos en esta memoria también incluyen variantes parcial o totalmente deuteradas. En ciertas realizaciones, uno o más átomos de deuterio están presentes para estudios cinéticos. Un experto en la técnica puede seleccionar los sitios en que dichos átomos de deuterio están presentes.

55

También se incluyen en la presente invención sales, particularmente las sales farmacéuticamente aceptables, de los compuestos moduladores de sirtuina descritos en esta memoria. Los compuestos de la presente invención que poseen grupos suficientemente ácidos, suficientemente básicos, o ambos grupos funcionales, pueden reaccionar con cualquiera de un número de bases inorgánicas, y ácidos inorgánicos y orgánicos para formar una sal.

Alternativamente, los compuestos que están inherentemente cargados, tales como aquellos con un nitrógeno cuaternario, pueden formar una sal con un contraión apropiado (por ejemplo, un haluro tal como bromuro, cloruro o fluoruro, particularmente bromuro).

5 Los compuestos y sales de los mismos descritos en esta memoria también incluyen los hidratos (por ejemplo, hemihidrato, monohidrato, dihidrato, trihidrato, tetrahidrato) y solvatos de los compuestos y sales de los mismos. Los disolventes adecuados para la preparación de solvatos e hidratos pueden en general seleccionarse por un experto en la materia.

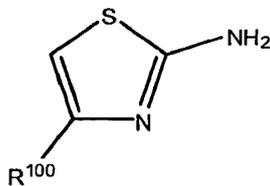
Los compuestos y sales de los mismos pueden estar presentes en formas amorfa o cristalina (que incluyen las formas co-cristalina y polimórfica).

10 Los ácidos comúnmente empleados para formar sales de adición de ácidos son ácidos inorgánicos tales como ácido clorhídrico, ácido bromhídrico, ácido yodhídrico, ácido sulfúrico, ácido fosfórico y similares, y ácidos orgánicos tales como ácido p-toluensulfónico, ácido metanosulfónico, ácido oxálico, ácido p-bromofenil-sulfónico, ácido carbónico, ácido succínico, ácido cítrico, ácido benzoico, ácido acético y similares. Los ejemplos de dichas sales incluyen el sulfato, piro-sulfato, bisulfato, sulfito, bisulfito, fosfato, monohidrogenofosfato, dihidrogenofosfato, metafosfato, pirofosfato, cloruro, bromuro, yoduro, acetato, propionato, decanoato, caprilato, acrilato, formiato, isobutirato, caproato, heptanoato, propiolato, oxalato, malonato, succinato, suberato, sebacato, fumarato, maleato, butino-1,4-dioato, hexino-1,6-dioato, benzoato, clorobenzoato, metilbenzoato, dinitrobenzoato, hidroxibenzoato, metoxibenzoato, ftalato, sulfonato, xilenosulfonato, fenilacetato, fenilpropionato, fenilbutirato, citrato, lactato, gamma-hidroxibutirato, glicolato, tartrato, metanosulfonato, propanosulfonato, naftaleno-1-sulfonato, naftaleno-2-sulfonato, mandelato y similares.

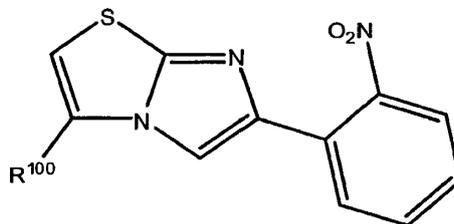
Las sales de adición de bases incluyen aquellas derivadas de bases inorgánicas, tales como hidróxidos de amonio o metal alcalino o alcalinotérreo, carbonatos, bicarbonatos y similares. Dichas bases útiles en la preparación de las sales de esta invención incluyen por lo tanto hidróxido de sodio, hidróxido de potasio, hidróxido de amonio, carbonato de potasio y similares.

25 Los compuestos moduladores de sirtuina definidos anteriormente pueden sintetizarse usando técnicas convencionales. Ventajosamente, estos compuestos se sintetizan convenientemente a partir de materiales de partida fácilmente disponibles.

En una realización, ciertos compuestos de la invención se preparan según el siguiente método. Primero, un compuesto de la siguiente fórmula:

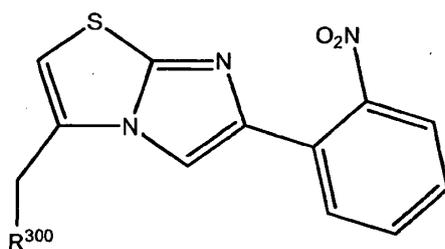


30 donde R^{100} es un grupo que puede transformarse en un grupo metilo sustituido con un grupo saliente, tal como un alcóxycarbonilo (por ejemplo, etoxycarbonilo), se hace reaccionar con un grupo 2-saliente, 2'-nitroacetofenona (por ejemplo, 2-halo, 2'-nitroacetofenona donde halo es típicamente bromo o cloro) para formar el siguiente compuesto:

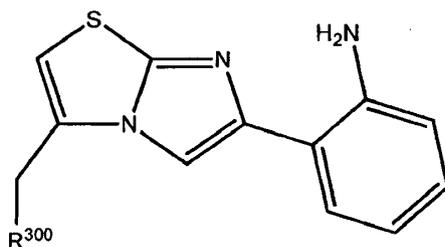


35 Este compuesto se hace reaccionar entonces para convertir $-R^{100}$ en $-R^1$. En realizaciones donde $-R^{100}$ es un alcóxycarbonilo, entonces el grupo se convierte primero típicamente en un ácido carboxílico (por ejemplo, usando una base tal como un hidróxido de metal alcalino como NaOH o KOH) y después se reduce a hidroximetilo usando un agente reductor apropiado (por ejemplo, NaBH_4). El grupo se transforma entonces en R^1 haciendo reaccionar el grupo hidroximetilo con R^3 y, si se necesita, a través de una etapa intermedia para aumentar la reactividad del grupo hidroximetilo (por ejemplo, transformando hidroximetilo en clorometilo usando SOCl_2 o cloruro de metanosulfonilo) antes de la reacción con R^{300} . Valores ilustrativas de R^{300} incluyen morfolina y 1H-1,2,4-triazol. El compuesto que sigue estas etapas se representa mediante la siguiente estructura:

40



El grupo nitro se reduce a través de la reacción con un agente reductor adecuado, tal como Pd/H₂ o hidrosulfuro sódico, para formar el siguiente compuesto:



- 5 Este compuesto se hace reaccionar con el ácido tiazolcarboxílico R₂,R₃-sustituido deseado (por ejemplo, ácido 4-metil-2-piridil-3-il tiazolcarboxílico), típicamente en presencia de un agente catalizador (por ejemplo, SOCl₂) para formar el compuesto producto.

10 Las transformaciones y metodologías de la química sintética útiles para sintetizar los compuestos moduladores de sirtuina descritos en esta memoria se conocen en la técnica e incluyen, por ejemplo, aquellas descritas en R. Larock, *Comprehensive Organic Transformations* (1989); T. W. Greene y P. G. M. Wuts, *Protective Groups in Organic Synthesis*, 2^a Ed. (1991); L. Fieser y M. Fieser, *Fieser and Fieser's Reagents for Organic Synthesis* (1994); y L. Paquette, ed., *Encyclopedia of Reagents for Organic Synthesis* (1995).

15 En una realización ilustrativa, un compuesto modulador de sirtuina puede atravesar la membrana citoplásmica de una célula. Por ejemplo, un compuesto puede tener una permeabilidad celular de al menos aproximadamente 20%, 50%, 75%, 80%, 90% o 95%.

20 Los compuestos moduladores de sirtuina descritos en esta memoria pueden también tener una o más de las siguientes características: el compuesto puede ser esencialmente no tóxico para una célula o sujeto; el compuesto modulador de sirtuina puede ser una molécula orgánica o una molécula pequeña de 2000 amu o menos, 1000 amu o menos; un compuesto puede tener una semivida bajo condiciones atmosféricas normales de al menos aproximadamente 30 días, 60 días, 120 días, 6 meses o 1 año; el compuesto puede tener una semivida en disolución de al menos aproximadamente 30 días, 60 días, 120 días, 6 meses o 1 año; un compuesto modulador de sirtuina puede ser más estable en disolución que el resveratrol por al menos un factor de aproximadamente 50%, 2 veces, 5 veces, 10 veces, 30 veces, 50 veces o 100 veces; un compuesto modulador de sirtuina puede promover la desacetilación del factor de reparación de ADN Ku70; un compuesto modulador de sirtuina puede promover la desacetilación de RelA/p65; un compuesto puede incrementar la velocidad de recambio y potenciar la sensibilidad de las células a la apoptosis inducida por TNF.

30 En ciertas realizaciones, un compuesto modulador de sirtuina no tiene ninguna capacidad sustancial de inhibir una histona desacetilasa (HDAC) de clase I, una HDAC de clase II o HDAC I y II, a concentraciones (por ejemplo, in vivo) efectivas para modular la actividad desacetilasa de la sirtuina. Por ejemplo, en realizaciones preferidas, el compuesto modulador de sirtuina es un compuesto activador de sirtuina y se elige para que tenga un EC₅₀ para activar la actividad sirtuina desacetilasa que es al menos 5 veces menor que el EC₅₀ para la inhibición de una HDAC I y/o HDAC II, e incluso más preferiblemente al menos 10 veces, 100 veces o incluso 1000 veces menor. Los métodos para ensayar la actividad de HDAC I y/o HDAC II se conocen bien en la técnica, y los equipos para realizar dichos ensayos pueden adquirirse en el mercado. Véase por ejemplo, BioVision, Inc. (Mountain View, CA; red informática mundial en biovision.com) y Thomas Scientific (Swedesboro, NJ; red informática mundial tomassci.com).

40 En ciertas realizaciones, un compuesto modulador de sirtuina no tiene ninguna capacidad sustancial para modular los homólogos de sirtuina. En una realización, un activador de una proteína sirtuina humana puede no tener ninguna capacidad sustancial para activar una proteína sirtuina proveniente de eucariotas inferiores, particularmente levadura o patógenos humanos, a concentraciones (por ejemplo, in vivo) eficaces para activar la actividad desacetilasa de la sirtuina humana. Por ejemplo, puede elegirse un compuesto activador de sirtuina que tenga un EC₅₀ para activar una sirtuina humana, tal como SIRT1 y/o SIRT3, actividad desacetilasa que es al menos 5 veces menor que el EC₅₀ para activar una sirtuina de levadura, tal como Sir2 (tal como *Candida*, *S. cerevisiae*, etc.), e incluso más preferiblemente al menos 10 veces, 100 veces o incluso 1000 veces menor. En otra realización, un inhibidor de una proteína sirtuina

proveniente de eucariotas inferiores, particularmente de levadura o patógenos humanos, no tiene ninguna capacidad sustancial de inhibir una proteína sirtuina de seres humanos a concentraciones (por ejemplo, in vivo) eficaces para inhibir la actividad desacetilasa de una proteína sirtuina procedente de una eucariota inferior. Por ejemplo, puede elegirse un compuesto inhibidor de sirtuina que tenga un IC_{50} para inhibir una sirtuina humana, tal como SIRT1 y/o SIRT3, la actividad desacetilasa que es al menos 5 veces menor que el valor IC_{50} para inhibir una sirtuina de levadura, tal como Sir2 (como *Candida*, *S. cerevisiae*, etc.), e incluso más preferiblemente al menos 10 veces, 100 veces o incluso 1000 veces menor.

En ciertas realizaciones, un compuesto modulador de sirtuina puede tener la capacidad de modular uno o más homólogos de la proteína sirtuina, tales como por ejemplo, uno o más de SIRT1, SIRT2, SIRT3, SIRT4, SIRT5, SIRT6 o SIRT7 humanas. En una realización, un compuesto modulador de sirtuina tiene la capacidad para modular tanto una proteína SIRT1 como SIRT3.

En otras realizaciones, un modulador de SIRT1 no tiene ninguna capacidad sustancial para modular otros homólogos de la proteína sirtuina, tales como por ejemplo, uno o más de SIRT2, SIRT3, SIRT4, SIRT5, SIRT6 o SIRT7 humanas, a concentraciones (por ejemplo, in vivo) eficaces para modular la actividad desacetilasa de SIRT1 humana. Por ejemplo, puede elegirse un compuesto modulador de sirtuina que tenga un ED_{50} para modular la actividad desacetilasa de SIRT1 humana que sea al menos 5 veces menor al ED_{50} para modular una o más SIRT2, SIRT3, SIRT4, SIRT5, SIRT6 o SIRT7 humanas, e incluso más preferiblemente al menos 10 veces, 100 veces o incluso 1000 veces inferior. En una realización, un modulador de SIRT1 no tiene ninguna capacidad sustancial de modular una proteína SIRT3.

En otras realizaciones, un modulador de SIRT3 no tiene ninguna capacidad sustancial para modular otros homólogos de la proteína sirtuina, tales como por ejemplo, una o más de SIRT1, SIRT2, SIRT4, SIRT5, SIRT6 o SIRT7 humanas, a concentraciones (por ejemplo, in vivo) eficaces para modular la actividad desacetilasa de SIRT3 humana. Por ejemplo, puede elegirse un compuesto modulador de sirtuina que tenga un ED_{50} para modular la actividad desacetilasa de SIRT3 humana que sea al menos 5 veces menor que el ED_{50} para modular una o más SIRT1, SIRT2, SIRT4, SIRT5, SIRT6 o SIRT7 humanas, e incluso más preferiblemente al menos 10 veces, 100 veces o incluso 1000 veces menor. En una realización, un modulador de SIRT3 no tiene ninguna capacidad sustancial para modular una proteína SIRT1.

En ciertas realizaciones, un compuesto modulador de sirtuina puede tener una afinidad de unión por una proteína sirtuina de aproximadamente $10^{-9}M$, $10^{-10}M$, $10^{-11}M$, $10^{-12}M$ o menos. Un compuesto modulador de sirtuina puede reducir (activador) o incrementar (inhibidor) el K_m aparente de una proteína sirtuina para su sustrato o NAD^+ (u otro cofactor) por un factor de al menos aproximadamente 2, 3, 4, 5, 10, 20, 30, 50 o 100. En ciertas realizaciones, los valores K_m se determinan usando el ensayo de espectrometría de masas descrito en esta memoria. Los compuestos activadores preferidos reducen el K_m de una sirtuina para su sustrato o cofactor hasta un grado mayor que el provocado por resveratrol en una concentración similar, o reducen el K_m de una sirtuina para su sustrato o cofactor similar al provocado por resveratrol a una concentración menor. Un compuesto modulador de sirtuina puede incrementar la V_{max} de una proteína sirtuina por un factor de al menos aproximadamente 2, 3, 4, 5, 10, 20, 30, 50 o 100. Un compuesto modulador de sirtuina puede tener un ED_{50} para modular la actividad desacetilasa de una proteína SIRT1 y/o SIRT3 de menos de aproximadamente 1 nM, menos de aproximadamente 10 nM, menos de aproximadamente 100 nM, menos de aproximadamente 1 μM , menos de aproximadamente 10 μM , menos de aproximadamente 100 μM , o de aproximadamente 1-10 nM, de aproximadamente 10-100 nM, de aproximadamente 0,1-1 μM , de aproximadamente 1-10 μM o de aproximadamente 10-100 μM . Un compuesto modulador de sirtuina puede modular la actividad desacetilasa de una proteína SIRT1 y/o SIRT3 por un factor de al menos aproximadamente 5, 10, 20, 30, 50 o 100, como se mide en un ensayo celular o en un ensayo basado en células. Un compuesto activador de sirtuina puede provocar al menos aproximadamente 10%, 30%, 50%, 80%, 2 veces, 5 veces, 10 veces, 50 veces o 100 veces mayor inducción de la actividad desacetilasa de una proteína sirtuina en relación a la misma concentración de resveratrol. Un compuesto modulador de sirtuina puede tener un ED_{50} para modular SIRT5 que es al menos aproximadamente 10 veces, 20 veces, 30 veces, 50 veces mayor que aquel para modular SIRT1 y/o SIRT3.

3. Usos ilustrativos

Se describen métodos para modular el nivel y/o actividad de una proteína sirtuina y métodos de uso de los mismos.

En ciertas realizaciones, se describen métodos para el uso de compuestos moduladores de sirtuina en donde los compuestos moduladores de sirtuina activan una proteína sirtuina, por ejemplo, aumentan el nivel y/o la actividad de una proteína sirtuina. Los compuestos moduladores de sirtuina que aumentan el nivel y/o la actividad de una proteína sirtuina pueden ser útiles para una variedad de aplicaciones terapéuticas que incluyen, por ejemplo, aumentar la vida de una célula y tratar y/o prevenir una amplia gama de enfermedades y trastornos que incluyen, por ejemplo, enfermedades o trastornos relacionados con el envejecimiento o el estrés, diabetes, obesidad, enfermedades neurodegenerativas, enfermedad cardiovascular, trastornos de coagulación de la sangre, inflamación, cáncer y/o sofocos, etc. Los métodos comprenden administrar a un sujeto que lo necesita una cantidad farmacéuticamente efectiva de un compuesto modulador de sirtuina, por ejemplo, un compuesto activador de sirtuina.

Si bien no se desea estar influenciados por la teoría, se cree que los activadores de la presente invención pueden interactuar con una sirtuina en el mismo sitio dentro de la proteína sirtuina (por ejemplo, sitio activo o sitio que afecta el Km o Vmax del sitio activo). Se cree que ésta es la razón por la cual ciertas clases de activadores e inhibidores de sirtuina pueden tener similitud estructural sustancial.

5 En ciertas realizaciones, los compuestos moduladores de sirtuina descritos en esta memoria pueden tomarse solos o combinados con otros compuestos. En una realización, una mezcla de dos o más compuestos moduladores de sirtuina puede administrarse a un sujeto que lo necesita. En otra realización, un compuesto modulador de sirtuina que aumenta el nivel y/o la actividad de una proteína sirtuina puede administrarse con uno o más de los siguientes compuestos: resveratrol, buteina, fisetina, piceatanol o quercetina. En una realización ilustrativa, un compuesto modulador de sirtuina que aumenta el nivel y/o la actividad de una proteína sirtuina puede administrarse en combinación con ácido nicotínico. En otra realización, un compuesto modulador de sirtuina que reduce el nivel y/o la actividad de una proteína sirtuina puede administrarse con uno o más de los siguientes compuestos: nicotinamida (NAM), suranim; NF023 (un antagonista de proteína G); NF279 (un antagonista del receptor purinérgico); Trolox (ácido 6-hidroxi-2,5,7,8,tetrametilcroman-2-carboxílico); (-)-epigallocatequina (hidroxi en los sitios 3, 5, 7, 3', 4', 5'); (-)-epigallocatequina galato (hidroxi en sitios 5, 7, 3', 4', 5' y galato éster en 3); cloruro de cianidina (cloruro de 3,5,7,3',4'-pentahidroxiflavilio); cloruro de delfinidina (cloruro de 3,5,7,3',4',5'-hexahidroxiflavilio); miricetina (cannabiscetina; 3,5,7,3',4',5'-hexahidroxiflavona); 3,7,3',4',5'-pentahidroxiflavona; gossypetina (3,5,7,8,3',4'-hexahidroxiflavona), sirtinol; y esplitomicina. En aún otra realización, uno o más compuestos moduladores de sirtuina pueden administrarse con uno o más agentes terapéuticos para el tratamiento o la prevención de diversas enfermedades, que incluyen por ejemplo, cáncer, diabetes, enfermedades neurodegenerativas, enfermedad cardiovascular, coagulación de la sangre, inflamación, sofocos, obesidad, envejecimiento, estrés, etc. En diversas realizaciones, las terapias de combinación que comprenden un compuesto modulador de sirtuina pueden referirse a (1) composiciones farmacéuticas que comprenden uno o más compuestos moduladores de sirtuina en combinación con uno o más agentes terapéuticos (por ejemplo, uno o más agentes terapéuticos descritos en esta memoria); y (2) co-administración de uno o más compuestos moduladores de sirtuina con uno o más agentes terapéuticos en donde el compuesto modulador de sirtuina y el agente terapéutico no se han formulado en las mismas composiciones (pero pueden estar presentes en el mismo equipo o paquete, tal como un envase blíster u otro paquete de múltiples cámaras; recipientes conectados, sellados separadamente (por ejemplo, bolsas de aluminio) que pueden separarse por el usuario; o un equipo en donde el(los) compuesto(s) modulador(es) de sirtuina y otro(s) agente(s) terapéutico(s) estén en recipientes separados). Cuando se usan formulaciones separadas, el compuesto modulador de sirtuina puede administrarse simultáneamente, de manera intermitente, escalonada, antes de, posterior a o combinaciones de los mismos, con la administración de otro agente terapéutico.

En ciertas realizaciones, los métodos para reducir, prevenir o tratar enfermedades o trastornos usando un compuesto modulador de sirtuina pueden también comprender aumentar el nivel de proteína de una sirtuina, tal como SIRT1, SIRT2 y/o SIRT3 humana, o los homólogos de las mismas. Aumentar los niveles de proteína puede lograrse introduciendo en una célula una o más copias de un ácido nucleico que codifica una sirtuina. Por ejemplo, el nivel de una sirtuina puede aumentarse en una célula de mamífero, introduciendo en la célula de mamífero un ácido nucleico que codifica la sirtuina, por ejemplo, aumentar el nivel de SIRT1 introduciendo un ácido nucleico que codifica la secuencia de aminoácidos expuesta en el núm. de acceso en GenBank NP_036370 y/o aumentar el nivel de SIRT3 introduciendo un ácido nucleico que codifica la secuencia de aminoácidos expuesta en el núm. de acceso en GenBank AAH01042.

Un ácido nucleico que se introduce en una célula para aumentar el nivel de proteína de una sirtuina puede codificar una proteína que es al menos aproximadamente 80%, 85%, 90%, 95%, 98% o 99% idéntica a la secuencia de una sirtuina, por ejemplo, proteína SIRT1 y/o SIRT3. Por ejemplo, el ácido nucleico que codifica la proteína puede ser al menos aproximadamente 80%, 85%, 90%, 95%, 98% o 99% idéntico a un ácido nucleico que codifica una proteína SIRT1 (por ejemplo, núm. de acceso en GenBank NM_012238) y/o SIRT3 (por ejemplo, núm. de acceso en GenBank BC001042). El ácido nucleico puede ser también un ácido nucleico que hibrida, preferiblemente bajo condiciones de hibridación rigurosas, a un ácido nucleico que codifica una sirtuina tipo salvaje, por ejemplo, proteína SIRT1 y/o SIRT3. Las condiciones de hibridación rigurosas pueden incluir hibridación y un lavado en 0,2 x SSC a 65°C. Cuando se usa un ácido nucleico que codifica una proteína que es diferente de una proteína sirtuina de tipo salvaje, tal como una proteína que es un fragmento de una sirtuina de tipo salvaje, la proteína es preferiblemente biológicamente activa, por ejemplo, es capaz de desacetilación. Solamente es necesario expresar en una célula una porción de la sirtuina que es biológicamente activa. Por ejemplo, una proteína que difiere de SIRT1 de tipo salvaje, que tiene núm. de acceso en GenBank NP_036370, preferiblemente la estructura de núcleo de la misma. La estructura de núcleo algunas veces se refiere a los aminoácidos 62-293 de núm. de acceso en GenBank NP_036370, que están codificados por los nucleótidos 237 a 932 de núm. de acceso en GenBank NM_012238, que abarca la unión NAD además de los dominios de unión al sustrato. El dominio de núcleo de SIRT1, también puede referirse a aproximadamente los aminoácidos 261 a 447 de núm. de acceso en GenBank NP_036370, que se codifican por los nucleótidos 834 a 1394 de núm. de acceso en GenBank NM_012238; a aproximadamente los aminoácidos 242 a 493 con núm. de acceso en GenBank NP_036370, que se codifican por los nucleótidos 777 a 1532 con núm. de acceso en GenBank NM_012238; o a aproximadamente los aminoácidos 254 a 495 con núm. de acceso en GenBank NP_036370, que se codifican por los nucleótidos 813 a 1538 con núm. de acceso en GenBank NM_012238. Si una proteína retiene una función biológica, por ejemplo, capacidades de desacetilación, puede

determinarse de acuerdo con métodos conocidos en la técnica.

5 En ciertas realizaciones, los métodos para reducir, prevenir o tratar enfermedades o trastornos usando un compuesto modulador de sirtuina pueden también comprender la disminución del nivel de proteína de una sirtuina, tal como SIRT1, SIRT2 y/o SIRT3 humana, u homólogos de las mismas. Reducir un nivel de proteína sirtuina puede lograrse de acuerdo con los métodos conocidos en la técnica. Por ejemplo, un siARN, un ácido nucleico antisentido o una ribozima dirigida a la sirtuina pueden expresarse en la célula. También puede usarse un mutante de sirtuina negativo dominante, por ejemplo, un mutante que no es capaz de desacetilación. Por ejemplo, puede usarse el mutante H363Y de SIRT1, descrito, por ejemplo, en Luo et al. (2001) Cell 107:137. Alternativamente, pueden usarse agentes que inhiben la transcripción.

10 Los métodos para modular los niveles de proteína sirtuina también incluyen métodos para modular la transcripción de genes que codifican sirtuinas, métodos para estabilizar/desestabilizar los correspondientes ARNm y otros métodos conocidos en la técnica.

Envejecimiento/Estrés

15 En una realización, se describe un método que extiende la vida de una célula, extiende la capacidad proliferativa de una célula, ralentiza el envejecimiento de una célula, promueve la supervivencia de una célula, retrasa la senescencia celular en una célula, imita los efectos de la restricción calórica, aumenta la resistencia de una célula al estrés o previene la apoptosis de una célula, poniendo en contacto la célula con un compuesto modulador de sirtuina de la invención que aumenta el nivel y/o la actividad de una proteína sirtuina. En una realización ilustrativa, los métodos comprenden poner en contacto la célula con un compuesto activador de sirtuina.

20 Los métodos descritos en esta memoria pueden usarse para aumentar la cantidad de tiempo en que las células, particularmente las células primarias (es decir, células obtenidas de un organismo, por ejemplo, un ser humano), pueden mantenerse vivas en un cultivo celular. Las células madre embrionarias (ES) y las células pluripotentes, y las células diferenciadas provenientes de éstas, pueden también tratarse con un compuesto modulador de sirtuina que aumenta el nivel y/o la actividad de una proteína sirtuina para mantener las células, o la descendencia de las mismas, en cultivo durante periodos de tiempo más prolongados. Dichas células pueden también usarse para trasplante en un sujeto, por ejemplo, después de modificación *ex vivo*.

30 En una realización, las células que está previsto que se conserven durante largos periodos de tiempo pueden tratarse con un compuesto modulador de sirtuina que aumenta el nivel y/o la actividad de una proteína sirtuina. Las células pueden estar en suspensión (por ejemplo, células sanguíneas, suero, medios de crecimiento biológico, etc.) o en tejidos u órganos. Por ejemplo, la sangre extraída de un individuo para fines de transfusión puede tratarse con un compuesto modulador de sirtuina que aumenta el nivel y/o la actividad de una proteína sirtuina para conservar las células sanguíneas durante periodos de tiempo más prolongados. Además, la sangre que se usa para fines forenses puede también conservarse usando un compuesto modulador de sirtuina que aumenta el nivel y/o la actividad de una proteína sirtuina. Otras células que pueden tratarse para extender su vida o para proteger contra apoptosis incluyen células para consumo, por ejemplo, células de mamíferos no humanos (tal como carne) o células vegetales (tales como verduras).

35 Los compuestos moduladores de sirtuina que aumentan el nivel y/o la actividad de una proteína sirtuina pueden también aplicarse durante fases de desarrollo y crecimiento en mamíferos, plantas, insectos o microorganismos, con el fin de, por ejemplo, alterar, retardar o acelerar los procesos de desarrollo y/o crecimiento.

40 En otra realización, los compuestos moduladores de sirtuina que aumentan el nivel y/o la actividad de una proteína sirtuina pueden usarse para tratar células útiles para trasplante o terapia celular, incluyendo por ejemplo injertos de tejido sólido, trasplantes de órganos, suspensiones celulares, células madre, células de médula ósea, etc. Las células o el tejido pueden consistir en un autoinjerto, un aloinjerto, un isoinjerto o un xenoinjerto. Las células o el tejido pueden tratarse con el compuesto modulador de sirtuina antes de la administración/implante, concurrentemente con la administración/implante y/o post-administración/implante en un sujeto. Las células o el tejido pueden tratarse antes de la eliminación de las células del donante, *ex vivo* después de la eliminación de las células o el tejido del donante, o posterior al implante en el receptor. Por ejemplo, el donante o receptor puede tratarse sistémicamente con un compuesto modulador de sirtuina o puede tener un subconjunto de células/tejido tratado localmente con un compuesto modulador de sirtuina que aumenta el nivel y/o la actividad de una proteína sirtuina. En ciertas realizaciones, las células o el tejido (o donantes/receptores) pueden además tratarse con otro agente terapéutico útil para prolongar la supervivencia del injerto, tal como, por ejemplo, un agente inmunosupresor, una citoquina, un factor angiogénico, etc.

55 En aún otras realizaciones, las células pueden tratarse con un compuesto modulador de sirtuina que aumenta el nivel y/o la actividad de una proteína sirtuina *in vivo*, por ejemplo, para aumentar su vida o prevenir la apoptosis. Por ejemplo, la piel puede protegerse del envejecimiento (por ejemplo, desarrollo de arrugas, pérdida de elasticidad, etc.) tratando la piel o las células epiteliales con un compuesto modulador de sirtuina que aumente el nivel y/o la actividad de una proteína sirtuina. En una realización ilustrativa, la piel se pone en contacto con una composición farmacéutica o cosmética que comprende un compuesto modulador de sirtuina que incrementa el nivel y/o la

actividad de una proteína sirtuina. Las dolencias de la piel o afecciones cutáneas ilustrativas que pueden tratarse de acuerdo con los métodos descritos en esta memoria incluyen trastornos o enfermedades asociadas con o provocadas por inflamación, daño solar o envejecimiento natural. Por ejemplo, las composiciones encuentran utilidad en la prevención o el tratamiento de dermatitis de contacto (que incluye dermatitis de contacto irritante y dermatitis de contacto alérgica), dermatitis atópica (también conocida como eccema alérgico), queratosis actínica, trastornos de queratinización (incluido eccema), enfermedades de epidermólisis bullosa (incluido el pénfigo), dermatitis exfoliante, dermatitis seborreica, eritemas (que incluyen eritema multiforme y eritema nodoso), daño provocado por el sol u otras fuentes de luz, lupus eritematoso discoide, dermatomiositis, psoriasis, cáncer de piel y los efectos del envejecimiento natural. En otra realización, los compuestos moduladores de sirtuina que aumentan el nivel y/o la actividad de una proteína sirtuina pueden usarse para el tratamiento de heridas y/o quemaduras para promover la cicatrización, incluyendo por ejemplo quemaduras de primero, segundo o tercer grado y/o unas quemaduras térmicas, químicas o eléctricas. Las formulaciones pueden administrarse tópicamente, a la piel o tejido mucoso.

Las formulaciones tópicas que comprenden uno o más compuestos moduladores de sirtuina que aumentan el nivel y/o la actividad de una proteína sirtuina pueden también usarse como composiciones preventivas, por ejemplo, quimiopreventivas. Cuando se usan en un método quimiopreventivo, la piel susceptible se trata antes de cualquier condición visible en un individuo particular.

Los compuestos moduladores de sirtuina pueden administrarse local o sistémicamente a un sujeto. En una realización, un compuesto modulador de sirtuina se administra localmente al tejido u órgano de un sujeto por inyección, formulación tópica, etc.

En otra realización, un compuesto modulador de sirtuina que aumenta el nivel y/o la actividad de una proteína sirtuina puede usarse para tratar o prevenir una enfermedad o proceso inducido o agravado por senescencia celular en un sujeto; métodos para reducir el índice de senescencia de un sujeto, por ejemplo, después del inicio de la senescencia; métodos para extender la vida de un sujeto; métodos para tratar o prevenir una enfermedad o proceso relacionado con la vida; métodos para tratar o prevenir una enfermedad o proceso relacionado con la capacidad proliferativa de las células; y métodos para tratar o prevenir una enfermedad o proceso resultante de daño o muerte celular. En ciertas realizaciones, el método no actúa reduciendo el índice de aparición de enfermedades que acortan la vida de un sujeto. En ciertas realizaciones, un método no actúa reduciendo la mortalidad provocada por una enfermedad, tal como cáncer.

En aún otra realización, un compuesto modulador de sirtuina que aumenta el nivel y/o la actividad de una proteína sirtuina puede administrarse a un sujeto con el fin de aumentar en general la vida de sus células y de proteger sus células contra el estrés y/o contra la apoptosis. Se cree que tratar a un sujeto con un compuesto descrito en esta memoria es similar a someter al sujeto a hormesis, es decir, estrés leve que es beneficioso para los organismos y puede extender su vida.

Los compuestos moduladores de sirtuina que aumentan el nivel y/o la actividad de una proteína sirtuina pueden administrarse a un sujeto para prevenir el envejecimiento y las consecuencias o enfermedades relacionadas con el envejecimiento, tales como ictus, cardiopatía, insuficiencia cardíaca, artritis, hipertensión arterial y enfermedad de Alzheimer. Otros procesos que pueden tratarse incluyen trastornos oculares, por ejemplo, asociados con el envejecimiento del ojo, como cataratas, glaucoma y degeneración macular. Los compuestos moduladores de sirtuina que aumentan el nivel y/o la actividad de una proteína sirtuina pueden también administrarse a sujetos para el tratamiento de enfermedades, por ejemplo, enfermedades crónicas, asociadas con la muerte celular, para proteger a las células de muerte celular. Las enfermedades ilustrativas incluyen aquellas asociadas con muerte celular neuronal, disfunción neuronal o muerte o disfunción celular muscular, tal como enfermedad de Parkinson, enfermedad de Alzheimer, esclerosis múltiple, esclerosis lateral amiotrófica y distrofia muscular; sida; hepatitis fulminante; enfermedades asociadas con degeneración del cerebro, tal como enfermedad de Creutzfeld-Jakob, retinitis pigmentosa y degeneración cerebelar; mielodisplasia tal como anemia aplásica; enfermedades isquémicas tales como infarto de miocardio e ictus; enfermedades hepáticas tales como hepatitis alcohólica, hepatitis B y hepatitis C; enfermedades de las articulaciones tales como artrosis; aterosclerosis; alopecia; daño en la piel debido a la luz UV; liquen plano; atrofia de la piel; cataratas; y rechazo de injertos. La muerte celular también puede estar provocada por cirugía, farmacoterapia, exposición química o exposición a radiación.

Los compuestos moduladores de sirtuina que incrementan el nivel y/o la actividad de una proteína sirtuina pueden también administrarse a un sujeto que padece una enfermedad aguda, por ejemplo, daño a un órgano o tejido, por ejemplo, un sujeto que padece un ictus o infarto de miocardio o un sujeto que padece una lesión en la médula espinal. Los compuestos moduladores de sirtuina que aumentan el nivel y/o la actividad de una proteína sirtuina pueden también usarse para reparar un hígado alcohólico.

55 Enfermedad cardiovascular

En otra realización, se describe un método para tratar y/o prevenir una enfermedad cardiovascular administrando a un sujeto que lo necesita un compuesto modulador de sirtuina que aumenta el nivel y/o la actividad de una proteína sirtuina.

Las enfermedades cardiovasculares que pueden tratarse o prevenirse usando los compuestos moduladores de sirtuina que aumentan el nivel y/o la actividad de una proteína sirtuina incluyen cardiomiopatía o miocarditis; tales como cardiomiopatía idiopática, cardiomiopatía metabólica, cardiomiopatía alcohólica, cardiomiopatía inducida por drogas, cardiomiopatía isquémica y cardiomiopatía hipertensiva. También tratables o prevenibles con el uso de los compuestos y métodos descritos en esta memoria son los trastornos ateromatosos de los vasos sanguíneos principales (enfermedad macrovascular) tales como la aorta, las arterias coronarias, las arterias carótidas, las arterias cerebrovasculares, las arterias renales, las arterias ilíacas, las arterias femorales y las arterias popliteas. Otras enfermedades vasculares que pueden tratarse o prevenirse incluyen aquellas relacionadas con la agregación de plaquetas, las arteriolas retinianas, las arteriolas glomerulares, los vasos de los nervios, arteriolas cardiacas y lechos capilares asociados del ojo, el riñón, el corazón y los sistemas nerviosos central y periférico. Los compuestos moduladores de sirtuina que aumentan el nivel y/o la actividad de una proteína sirtuina pueden también usarse para aumentar los niveles de HDL en plasma de un individuo.

Aún otros trastornos que pueden tratarse con los compuestos moduladores de sirtuina que aumentan el nivel y/o la actividad de una proteína sirtuina incluyen restenosis, por ejemplo, después de intervención coronaria, y trastornos relacionados con un nivel anormal de colesterol de alta densidad y baja densidad.

En una realización, un compuesto modulador de sirtuina que aumenta el nivel y/o la actividad de una proteína sirtuina puede administrarse como parte de una combinación terapéutica con otro agente cardiovascular. En una realización, un compuesto modulador de sirtuina que aumenta el nivel y/o la actividad de una proteína sirtuina puede administrarse como parte de una combinación terapéutica con un agente anti-arritmia. En otra realización, un compuesto modulador de sirtuina que aumenta el nivel y/o la actividad de una proteína sirtuina puede administrarse como parte de una combinación terapéutica con otro agente cardiovascular.

Muerte celular/Cáncer

Los compuestos moduladores de sirtuina que aumentan el nivel y/o la actividad de una proteína sirtuina pueden administrarse a sujetos que han recibido recientemente o probablemente van a recibir una dosis de radiación o toxina. En una realización, la dosis de radiación o toxina se recibe como parte de un procedimiento relacionado con la actividad o médico, por ejemplo, administrado como una medida profiláctica. En otra realización, la exposición a radiación o toxina se recibe de forma no intencionada. En tal caso, el compuesto preferiblemente se administra lo antes posible después de la exposición para inhibir la apoptosis y el posterior desarrollo de síndrome de radiación agudo.

Los compuestos moduladores de sirtuina pueden también usarse para tratar y/o prevenir cáncer. En ciertas realizaciones, los compuestos moduladores de sirtuina que aumentan el nivel y/o la actividad de una proteína sirtuina pueden usarse para tratar y/o prevenir el cáncer. La restricción de calorías se ha relacionado con una reducción en la incidencia de trastornos relacionados con la edad que incluye cáncer. Por consiguiente, un incremento en el nivel y/o la actividad de una proteína sirtuina puede ser útil para tratar y/o prevenir la incidencia de trastornos relacionados con la edad, tal como por ejemplo, cáncer. Los cánceres ilustrativos que pueden tratarse usando un compuesto modulador de sirtuina son los de cerebro y riñón; cánceres dependientes de hormonas, que incluyen cánceres de mama, próstata, testículo y ovario; linfomas y leucemias. En cánceres asociados con tumores sólidos, un compuesto modulador puede administrarse directamente al tumor. El cáncer de las células sanguíneas, por ejemplo, leucemia, puede tratarse administrando un compuesto modulador en el torrente circulatorio o en la médula ósea. También puede tratarse el crecimiento de células benignas, por ejemplo, verrugas. Otras enfermedades que pueden tratarse incluyen enfermedades autoinmunes, por ejemplo, lupus eritematoso sistémico, escleroderma y artritis, en las que las células autoinmunes deberían eliminarse. Las infecciones víricas tales como herpes, VIH, adenovirus y los trastornos malignos y benignos asociados con HTLV-1 pueden también tratarse mediante la administración de un compuesto modulador de sirtuina. Alternativamente, las células pueden obtenerse de un sujeto, tratarse ex vivo para eliminar ciertas células indeseables, por ejemplo, células cancerígenas, y administrarse de nuevo al mismo sujeto o a un sujeto diferente.

Los agentes quimioterapéuticos pueden coadministrarse con compuestos moduladores descritos en esta memoria que tienen actividad anticancerosa, por ejemplo, los compuestos que inducen apoptosis, compuestos que reducen la vida o compuestos que vuelven a las células sensibles al estrés. Los agentes quimioterapéuticos pueden usarse por si mismos con un compuesto modulador de sirtuina descrito en esta memoria como inductores de la muerte celular o reductores de la vida o que aumentan la sensibilidad al estrés y/o en combinación con otros agentes quimioterapéuticos. Además de agentes quimioterapéuticos convencionales, los compuestos moduladores de sirtuina descritos en esta memoria pueden usarse también con ARN antisentido, ARNi u otros polinucleótidos para inhibir la expresión de los componentes celulares que contribuyen a proliferación celular indeseada.

Las terapias de combinación que comprenden compuestos moduladores de sirtuina y un agente quimioterapéutico convencional pueden ser ventajosas frente a las terapias de combinación conocidas en la técnica ya que la combinación permite que el agente quimioterapéutico convencional ejerza un mayor efecto a una menor dosis. En una realización preferida, la dosis efectiva (ED_{50}) para un agente quimioterapéutico, o la combinación de agentes quimioterapéuticos convencionales, cuando se usan en combinación con un compuesto modulador de sirtuina es al menos 2 veces menor que la ED_{50} para el agente quimioterapéutico solo, e incluso más preferiblemente a 5 veces,

10 veces o incluso 25 veces menor. De modo inverso, el índice terapéutico (TI) para dicho agente quimioterapéutico o combinación de dicho agente quimioterapéutico cuando se usa en combinación con un compuesto modulador de sirtuina descrito en esta memoria puede ser al menos 2 veces mayor que el TI para un régimen quimioterapéutico convencional solo, e incluso más preferiblemente a 5 veces, 10 veces o incluso 25 veces mayor.

5 Enfermedades/trastornos neuronales

En ciertos aspectos, los compuestos moduladores de sirtuina que aumentan el nivel y/o la actividad de una proteína sirtuina pueden usarse para tratar pacientes que padecen enfermedades neurodegenerativas, y lesión traumática o mecánica al sistema nervioso central (SNC), a la médula espinal o al sistema nervioso periférico (SNP). La enfermedad neurodegenerativa típicamente implica reducciones en la masa y el volumen del cerebro humano, que pueden deberse a la atrofia y/o muerte de las células cerebrales, que son mucho más profundas que aquellas en una persona sana que son atribuibles al envejecimiento. Las enfermedades neurodegenerativas pueden evolucionar gradualmente, después de un periodo prolongado de funcionamiento normal del cerebro, debido a la degeneración progresiva (por ejemplo, disfunción y muerte de las células nerviosas) de regiones del cerebro específicas. Alternativamente, las enfermedades neurodegenerativas pueden tener un inicio rápido, tal como aquellos asociados con traumatismo o toxinas. El inicio real de degeneración del cerebro puede preceder a la expresión clínica en muchos años. Los ejemplos de enfermedades neurodegenerativas incluyen, aunque no están limitadas a, enfermedad de Alzheimer (AD), enfermedad de Parkinson (PD), enfermedad de Huntington (HD), esclerosis lateral amiotrófica (ALS; enfermedad de Lou Gehrig), enfermedad de cuerpos de Lewy difusos, corea-acantocitosis, esclerosis lateral primaria, enfermedades oculares (neuritis ocular), neuropatías inducidas por quimioterapia (por ejemplo, por vincristina, paclitaxel, bortezomib), neuropatías inducidas por diabetes y ataxia de Friedreich. Los compuestos moduladores de sirtuina que aumentan el nivel y/o la actividad de una proteína sirtuina pueden usarse para tratar estos trastornos y otros como se describe a continuación.

AD es un trastorno del SNC que da por resultado pérdida de memoria, comportamiento inusual, cambios de personalidad y una disminución en las capacidades del pensamiento. Estas pérdidas se asocian con la muerte de tipos específicos de células cerebrales y la descomposición de conexiones y su red de soporte (por ejemplo, células gliales) entre ellas. Los síntomas más tempranos incluyen pérdida de la memoria reciente, falta de juicio y cambios de personalidad. PD es un trastorno del SNC que da por resultado movimientos corporales descontrolados, rigidez, temblor y disquinesia, y está asociado con la muerte de células cerebrales en un área del cerebro que produce dopamina. La ALS (enfermedad neuronal motora) es un trastorno del SNC que ataca las neuronas motoras, los componentes del SNC que conectan el cerebro con los músculos esqueléticos.

HD es otra enfermedad neurodegenerativa que provoca movimientos incontrolados, pérdida de facultades intelectuales y trastorno emocional. La enfermedad de Tay-Sachs y la enfermedad de Sandhoff son enfermedades de almacenaje de glucolípidos donde el gangliósido GM2 y sustratos glucolipídicos relacionados para la β -hexosaminidasa se acumulan en el sistema nervioso y desencadenan la neurodegeneración aguda.

Se sabe bien que la apoptosis juega un papel en la patogénesis del SIDA en el sistema inmunitario. Sin embargo, el VIH-1 también induce la enfermedad neurológica, que puede tratarse con compuestos moduladores de sirtuina de la invención.

La pérdida neuronal es también un rasgo saliente de enfermedades por priones, tal como la enfermedad de Creutzfeldt-Jakob en seres humanos, BSE en ganado (enfermedad de la vaca loca), enfermedad de Scrapie en ovejas y cabras, y encefalopatía espongiiforme felina (FSE) en gatos. Los compuestos moduladores de sirtuina que aumentan el nivel y/o la actividad de una proteína sirtuina pueden ser útiles para tratar o prevenir la pérdida neuronal debido estas enfermedades anteriores.

En otra realización, un compuesto modulador de sirtuina que aumenta el nivel y/o la actividad de una proteína sirtuina puede usarse para tratar o prevenir cualquier enfermedad o trastorno que implique axonopatía. La axonopatía distal es un tipo de neuropatía periférica que resulta de alguna alteración metabólica o tóxica de las neuronas del sistema nervioso periférico (SNP). Es la respuesta más frecuente de los nervios a alteraciones metabólicas o tóxicas, y como tal puede estar provocada por enfermedades metabólicas tales como la diabetes, insuficiencia renal, síndromes de deficiencia tal como desnutrición y alcoholismo, o los efectos de toxinas o fármacos. Aquellos con axonopatías distales presentan normalmente alteraciones motoras y sensoriales simétricas de guante y calcetín. Los reflejos de los tendones profundos y las funciones del sistema nervioso autónomo (SNA) también se pierden o disminuyen en áreas afectadas.

Las neuropatías diabéticas son trastornos neuropáticos que están asociados con diabetes mellitus. Los procesos relativamente frecuentes que pueden asociarse con la neuropatía diabética incluyen parálisis del tercer nervio; mononeuropatía; mononeuritis múltiple; amiotrofia diabética; una polineuropatía dolorosa; neuropatía autónoma; y neuropatía toracoabdominal.

Neuropatía periférica es el término médico para daño a los nervios del sistema nervioso periférico, que puede estar provocado o bien por enfermedades del nervio o por efectos secundarios de enfermedad sistémica. Las causas principales de la neuropatía periférica incluyen convulsiones, deficiencias nutricionales y VIH, aunque la diabetes es

la causa más probable.

5 En una realización ilustrativa, un compuesto modulador de sirtuina que aumenta el nivel y/o la actividad de una proteína sirtuina puede usarse para tratar o prevenir la esclerosis múltiple (MS), incluyendo MS con recaída y MS monosintomática, y otros procesos desmielinantes, tales como, por ejemplo, polineuropatía desmielinante inflamatoria crónica (CIDP), o síntomas asociados con éstas.

En aún otra realización, un compuesto modulador de sirtuina que aumenta el nivel y/o la actividad de una proteína sirtuina puede usarse para tratar traumatismo a los nervios, incluyendo traumatismo debido a enfermedad, lesión (incluida una intervención quirúrgica) o traumatismo ambiental (por ejemplo, neurotoxinas, alcoholismo, etc.).

10 Los compuestos moduladores de sirtuina que aumentan el nivel y/o la actividad de una proteína sirtuina pueden también ser útiles para prevenir, tratar y aliviar síntomas de diversos trastornos del SNP. El término "neuropatía periférica" abarca una amplia gama de trastornos en los que los nervios fuera del cerebro y la médula espinal, los nervios periféricos, se han dañado. La neuropatía periférica puede también denominarse como neuritis periférica, o si están implicados muchos nervios, pueden usarse los términos polineuropatía o polineuritis.

15 Enfermedades del SNP tratables con los compuestos moduladores de sirtuina que aumentan el nivel y/o la actividad de una proteína sirtuina incluyen: diabetes, lepra, enfermedad de Charcot-Marie-Tooth, síndrome de Guillain-Barré y Neuropatías del Plexo Braquial (enfermedades de las raíces cervical y primera torácica, troncos nerviosos, nervios y componentes nerviosos periféricos del plexo braquial).

20 En otra realización, puede usarse un compuesto activador de sirtuina para tratar o prevenir una enfermedad por poliglutamina. Enfermedades de poliglutamina ilustrativas incluyen atrofia muscular espinobulbar (enfermedad de Kennedy), enfermedad de Huntington (HD), atrofia dentato-rubro-palido-luisiana (síndrome de Haw River), ataxia espinocerebelar tipo 1, ataxia espinocerebelar tipo 2, ataxia espinocerebelar tipo 3 (enfermedad de Machado-Joseph), ataxia espinocerebelar tipo 6, ataxia espinocerebelar tipo 7 y ataxia espinocerebelar tipo 17.

En ciertas realizaciones, se describe un método para tratar una célula del sistema nervioso central para prevenir el daño en respuesta a una disminución en el flujo sanguíneo a la célula.

25 Típicamente, la gravedad del daño que puede prevenirse dependerá en gran parte del grado de reducción en el flujo sanguíneo a la célula y de la duración de la reducción. En una realización, la muerte celular apoptótica o necrótica puede prevenirse. En aún una realización adicional, el daño mediado por isquemia, tal como edema citotóxico o anoxemia del tejido del sistema nervioso central, puede prevenirse. En cada realización, la célula del sistema nervioso central puede ser una célula espinal o una célula cerebral.

30 Otro aspecto abarca administrar un compuesto activador de sirtuina a un sujeto para tratar un cuadro isquémico del sistema nervioso central. Puede tratarse un número de cuadros isquémicos del sistema nervioso central con los compuestos activadores de sirtuina descritos en esta memoria. En una realización, el cuadro isquémico es un ictus que da por resultado cualquier tipo de daño isquémico al sistema nervioso central, tal como muerte celular apoptótica o necrótica, edema citotóxico o anoxia del tejido del sistema nervioso central. El ictus puede impactar en cualquier área del cerebro o estar provocado por cualquier causa conocida normalmente por dar por resultado la aparición de un ictus. En una alternativa de esta realización, el ictus es un ictus del tronco encefálico. En otra alternativa de esta realización, el ictus es un ictus cerebelar. En aún otra realización, el ictus es un ictus embólico. En aún otra alternativa, el ictus puede ser un ictus hemorrágico. En una realización adicional, el ictus es un ictus trombótico.

40 En aún otro aspecto, un compuesto activador de sirtuina puede administrarse para reducir el tamaño del infarto del núcleo isquémico después de un cuadro isquémico del sistema nervioso central. Asimismo, el compuesto activador de sirtuina puede también administrarse beneficiosamente para reducir el tamaño de la penumbra isquémica o zona transicional después de un cuadro isquémico del sistema nervioso central.

45 En una realización, un régimen de fármacos de combinación puede incluir fármacos o compuestos para el tratamiento o la prevención de trastornos neurodegenerativos o procesos secundarios asociados con estos cuadros. Por lo tanto, un régimen de fármacos de combinación puede incluir uno o más activadores de sirtuina y uno o más agentes anti-neurodegeneración.

Trastornos de coagulación de la sangre

50 En otros aspectos, los compuestos moduladores de sirtuina que aumentan el nivel y/o la actividad de una proteína sirtuina pueden usarse para tratar o prevenir trastornos de coagulación de la sangre (o trastornos hemostáticos). Como se usan de forma intercambiable en esta memoria, los términos "hemostasis" y "coagulación de la sangre" se refieren al control del sangrado, que incluye las propiedades fisiológicas de vasoconstricción y coagulación. La coagulación de la sangre ayuda a mantener la integridad de la circulación de mamíferos después de lesión, inflamación, enfermedad, defecto congénito, disfunción u otra alteración. Además, la formación de coágulos de sangre no solamente limita el sangrado en caso de una lesión (hemostasis), sino que puede conducir a daño orgánico grave y a muerte en el contexto de enfermedades ateroscleróticas por oclusión de una arteria o vena

importante. La trombosis es por ende la formación de coágulos de sangre en el momento y el lugar equivocados. \

Por consiguiente, se describen tratamientos anticoagulación y antitrombóticos que apuntan a inhibir la formación de coágulos de sangre para prevenir o tratar trastornos de coagulación de la sangre, tales como infarto de miocardio, ictus, pérdida de una extremidad por arteriopatía periférica o embolismo pulmonar.

- 5 Como se usa de forma intercambiable en esta memoria, "modular o modulación de hemostasis" y "regular o regulación de hemostasis" incluyen la inducción (por ejemplo, estimulación o aumento) de hemostasis, además de la inhibición (por ejemplo, reducción o disminución) de hemostasis.

10 En un aspecto, se describe un método para reducir o inhibir la hemostasis en un sujeto administrando un compuesto modulador de sirtuina que aumenta el nivel y/o la actividad de una proteína sirtuina. Las composiciones y métodos descritos en esta memoria son útiles para el tratamiento o la prevención de trastornos trombóticos. Como se usa en esta memoria, el término "trastorno trombótico" incluye cualquier trastorno o proceso caracterizado por coagulación o actividad hemostática excesiva o indeseada, o un estado hipercoagulable. Los trastornos trombóticos incluyen enfermedades o trastornos que implican la adhesión de plaquetas y formación de trombos, y pueden manifestarse como un aumento de propensión a la formación de trombos, por ejemplo, un mayor número de trombos, trombosis a una edad temprana, una tendencia familiar a la trombosis, y trombosis en sitios inusuales.

15 En otra realización, un régimen de fármacos de combinación puede incluir fármacos o compuestos para el tratamiento o la prevención de trastornos de coagulación de la sangre o procesos secundarios asociados con estos cuadros. Por lo tanto, un régimen de fármacos de combinación puede incluir uno o más compuestos moduladores de sirtuina que aumentan el nivel y/o la actividad de una proteína sirtuina y uno o más agentes anticoagulación o antitrombosis.

Control del peso

25 En otro aspecto, los compuestos moduladores de sirtuina que aumentan el nivel y/o la actividad de una proteína sirtuina pueden usarse para tratar o prevenir el aumento de peso u obesidad en un sujeto. Por ejemplo, los compuestos moduladores de sirtuina que aumentan el nivel y/o la actividad de una proteína sirtuina pueden usarse, por ejemplo, para tratar o prevenir la obesidad hereditaria, obesidad por dieta, obesidad relacionada con las hormonas, obesidad relacionada con la administración de medicamentos, para reducir el peso de un sujeto, o para reducir o prevenir el aumento de peso en un sujeto. Un sujeto que necesita dicho tratamiento puede ser un sujeto que es obeso, propenso a convertirse en obeso, con sobrepeso o propenso a tener sobrepeso. Los sujetos que son propensos a convertirse en obesos o a tener sobrepeso pueden identificarse, por ejemplo, en base a los antecedentes familiares, genética, la dieta, el nivel de actividad, la ingesta de medicación o diversas combinaciones de los mismos.

30 En aún otras realizaciones, los compuestos moduladores de sirtuina que aumentan el nivel y/o la actividad de una proteína sirtuina pueden administrarse a sujetos que padecen una variedad de otras enfermedades y procesos que pueden tratarse o prevenirse promoviendo la pérdida de peso en el sujeto. Dichas enfermedades incluyen, por ejemplo, alta presión arterial, hipertensión, colesterol en sangre alto, dislipidemia, diabetes tipo 2, resistencia a insulina, intolerancia a la glucosa, hiperinsulinemia, arteriopatía coronaria, angina de pecho, insuficiencia cardíaca congestiva, ictus, cálculos biliares, colecistitis y colelitiasis, gota, artrosis, apnea obstructiva del sueño y problemas respiratorios, algunos tipos de cáncer (tal como de endometrio, mama, próstata y colon), complicaciones del embarazo, mala salud reproductiva femenina (tal como irregularidades menstruales, esterilidad, ovulación irregular), problemas de control de vejiga (tal como incontinencia urinaria de esfuerzo); nefrolitiasis de ácido úrico; trastornos psicológicos (tal como depresión, trastornos alimenticios, imagen corporal distorsionada y baja autoestima). Finalmente, los pacientes con SIDA pueden desarrollar lipodistrofia o resistencia a insulina en respuesta a las terapias de combinación para el SIDA.

35 En otra realización, los compuestos moduladores de sirtuina que aumentan el nivel y/o la actividad de una proteína sirtuina pueden usarse para inhibir la adipogénesis o la diferenciación de células grasas, o bien in vitro o in vivo. Dichos métodos pueden usarse para tratar o prevenir la obesidad.

40 En otras realizaciones, los compuestos moduladores de sirtuina que aumentan el nivel y/o la actividad de una proteína sirtuina pueden usarse para reducir el apetito y/o aumentar la saciedad, provocando así la pérdida de peso o evitando un aumento de peso. Un sujeto que necesita dicho tratamiento puede ser un sujeto con sobrepeso, obeso, o un sujeto propenso a tener sobrepeso o convertirse en obeso. El método puede comprender administrar diariamente o día por medio, o una vez por semana, una dosis, por ejemplo, en la forma de una píldora, a un sujeto. La dosis puede ser una "dosis reductora del apetito".

45 En una realización ilustrativa, los compuestos moduladores de sirtuina que aumentan el nivel y/o la actividad de una proteína sirtuina puede administrarse como una terapia de combinación para tratar o prevenir el aumento de peso u obesidad. Por ejemplo, uno o más compuestos moduladores de sirtuina que aumentan el nivel y/o la actividad de una proteína sirtuina pueden administrarse en combinación con uno o más agentes antiobesidad.

50 En otra realización, los compuestos moduladores de sirtuina que aumentan el nivel y/o la actividad de una proteína

sirtuina pueden administrarse para reducir el aumento de peso inducido por fármacos. Por ejemplo, un compuesto modulador de sirtuina que aumenta el nivel y/o la actividad de una proteína sirtuina puede administrarse como una terapia de combinación con medicamentos que pueden estimular el apetito o provocar aumento de peso, en particular, aumento de peso debido a factores distintos a la retención de líquido.

5 Trastornos metabólicos/Diabetes

En otro aspecto, los compuestos moduladores de sirtuina que aumentan el nivel y/o la actividad de una proteína sirtuina pueden usarse para tratar o prevenir un trastorno metabólico, tal como resistencia a insulina, un estado prediabético, diabetes de tipo II y/o complicaciones de los mismos. La administración de compuestos moduladores de sirtuina que aumentan el nivel y/o la actividad de una proteína sirtuina puede aumentar la sensibilidad a la insulina y/o reducir los niveles de insulina en un sujeto. Un sujeto que necesita dicho tratamiento puede ser un sujeto que tenga resistencia a la insulina u otro síntoma precursor de diabetes de tipo II, que tenga diabetes de tipo II o que sea propenso a padecer alguna de estos procesos. Por ejemplo, el sujeto puede ser un sujeto que tenga resistencia a insulina, por ejemplo, que tenga altos niveles circulantes de insulina y/o procesos asociados, tal como hiperlipidemia, dislipogénesis, hipercolesterolemia, intolerancia a la glucosa, altos niveles de glucosa en sangre, otras manifestaciones de síndrome X, hipertensión, aterosclerosis y lipodistrofia.

En una realización ilustrativa, un compuesto modulador de sirtuina que aumenta el nivel y/o la actividad de una proteína sirtuina puede administrarse como una terapia de combinación para tratar o prevenir un trastorno metabólico. Por ejemplo, uno o más compuestos moduladores de sirtuina que aumentan el nivel y/o la actividad de una proteína sirtuina pueden administrarse en combinación con uno o más agentes antidiabéticos.

20 Enfermedades inflamatorias

En otros aspectos, los compuestos moduladores de sirtuina que aumentan el nivel y/o la actividad de una proteína sirtuina pueden usarse para tratar o prevenir una enfermedad o trastorno asociado con la inflamación. Los compuestos moduladores de sirtuina que aumentan el nivel y/o la actividad de una proteína sirtuina pueden administrarse antes del inicio, durante o después del comienzo de la inflamación. Cuando se usan de manera profiláctica, los compuestos se proveen preferiblemente con antelación a cualquier respuesta o síntoma inflamatorio. La administración de los compuestos puede prevenir o atenuar las respuestas o síntomas inflamatorios.

En otra realización, los compuestos moduladores de sirtuina que aumentan el nivel y/o la actividad de una proteína sirtuina pueden usarse para tratar o prevenir alergias y procesos respiratorios, que incluyen asma, bronquitis, fibrosis pulmonar, rinitis alérgica, toxicidad por oxígeno, enfisema, bronquitis crónica, síndrome de dificultad respiratoria aguda y cualquier enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC). Los compuestos pueden usarse para tratar la infección de hepatitis crónica, que incluye hepatitis B y hepatitis C.

Además, los compuestos moduladores de sirtuina que aumentan el nivel y/o la actividad de una proteína sirtuina pueden usarse para tratar enfermedades autoinmunes y/o inflamación asociada con enfermedades autoinmunes tales como enfermedades autoinmunitarias de órganos y tejidos (por ejemplo, síndrome de Raynaud), escleroderma, miastenia grave, rechazo de trasplante, choque endotóxico, septicemia, psoriasis, eccema, dermatitis, escleritis múltiple, tiroiditis autoinmune, uveitis, lupus eritematoso sistémico, enfermedad de Addison, enfermedad poliglandular autoinmune (también conocida como síndrome poliglandular autoinmune) y enfermedad de Grave.

En ciertas realizaciones, uno o más compuestos moduladores de sirtuina que aumentan el nivel y/o la actividad de una proteína sirtuina pueden tomarse solos o combinados con otros compuestos útiles para tratar o prevenir la inflamación.

Sofocos

En otro aspecto, los compuestos moduladores de sirtuina que aumentan el nivel y/o la actividad de una proteína sirtuina pueden usarse para reducir la incidencia o gravedad de los sofocos que son síntomas de un trastorno. Por ejemplo, el método en cuestión incluye el uso de compuestos moduladores de sirtuina que aumentan el nivel y/o la actividad de una proteína sirtuina, solos o combinados con otros agentes, para reducir la incidencia o gravedad de los sofocos en pacientes con cáncer. En otras realizaciones, el método proporciona el uso de compuestos moduladores de sirtuina que incrementan el nivel y/o la actividad de una proteína sirtuina para reducir la incidencia o la gravedad de los sofocos en mujeres menopáusicas y post-menopáusicas.

En otro aspecto, los compuestos moduladores de sirtuina que aumentan el nivel y/o la actividad de una proteína sirtuina pueden usarse como una terapia para reducir la incidencia o gravedad de los sofocos que son efectos secundarios de otra terapia con fármacos, por ejemplo, sofocos inducidos por fármacos. En ciertas realizaciones, un método para tratar y/o prevenir los sofocos inducidos por fármacos comprende administrar a un paciente que lo necesita una formulación que comprende al menos un compuesto inductor de sofocos y por lo menos un compuesto modulador de sirtuina que aumenta el nivel y/o la actividad de una proteína sirtuina. En otras realizaciones, un método para tratar los sofocos inducidos por fármacos comprende administrar separadamente uno o más compuestos que inducen los sofocos y uno o más compuestos moduladores de sirtuina, por ejemplo, en donde el compuesto modulador de sirtuina y el agente inductor de sofocos no se han formulado en las mismas

composiciones. Cuando se usan formulaciones separadas, el compuesto modulador de sirtuina puede administrarse (1) al mismo tiempo que la administración del agente inductor de sofocos, (2) intermitentemente con el agente inductor de sofocos, (3) escalonado en relación a la administración del agente inductor de sofocos, (4) antes de la administración del agente inductor de sofocos, (5) posterior a la administración del agente inductor de sofocos, y (6) varias combinaciones de los mismos. Los agentes inductores de sofocos ilustrativas incluyen, por ejemplo, niacina, faloxifeno, antidepresivos, antipsicóticos, agentes quimioterapéuticos, bloqueantes del canal de calcio y antibióticos.

En una realización, los compuestos moduladores de sirtuina que aumentan el nivel y/o la actividad de una proteína sirtuina pueden usarse para reducir los efectos secundarios de sofocos de un vasodilatador o un agente antilipémico (que incluyen agentes anticolesterémicos y agentes lipotrópicos). En una realización ilustrativa, un compuesto modulador de sirtuina que aumenta el nivel y/o la actividad de una proteína sirtuina puede usarse para reducir los sofocos asociados con la administración de niacina.

En otra realización, se describe un método para tratar y/o prevenir la hiperlipidemia con efectos secundarios de sofocos reducidos. En otra realización representativa, el método implica el uso de compuestos moduladores de sirtuina que aumentan el nivel y/o la actividad de una proteína sirtuina para reducir los efectos secundarios de sofocos de raloxifeno. En otra realización representativa, el método implica el uso de compuestos moduladores de sirtuina que aumentan el nivel y/o la actividad de una proteína sirtuina para reducir los efectos secundarios de sofocos por agentes antidepresivos o antipsicóticos. Por ejemplo, los compuestos moduladores de sirtuina que aumentan el nivel y/o la actividad de una proteína sirtuina pueden usarse en conjunto (administrados separadamente o juntos) con un inhibidor de reabsorción de serotonina, o un antagonista de receptor 5HT2.

En ciertas realizaciones, los compuestos moduladores de sirtuina que aumentan el nivel y/o la actividad de una proteína sirtuina pueden usarse como parte de un tratamiento con un inhibidor de reabsorción de serotonina (SRI) para reducir los sofocos. En aún otra realización representativa, los compuestos moduladores de sirtuina que aumentan el nivel y/o la actividad de una proteína sirtuina pueden usarse para reducir los efectos secundarios de los sofocos provocados por agentes quimioterapéuticos, tales como ciclofosfamida y tamoxifeno.

En otra realización, los compuestos moduladores de sirtuina que aumentan el nivel y/o la actividad de una proteína sirtuina pueden usarse para reducir los efectos secundarios de los sofocos provocados por bloqueantes del canal de calcio, tal como amlodipina.

En otra realización, los compuestos moduladores de sirtuina que aumentan el nivel y/o la actividad de una proteína sirtuina pueden usarse para reducir los efectos secundarios de sofocos provocados por antibióticos. Por ejemplo, los compuestos moduladores de sirtuina que aumentan el nivel y/o la actividad de una proteína sirtuina pueden usarse combinados con levofloxacina.

Trastornos oculares

En un aspecto se describe un método para inhibir, reducir o de algún modo tratar el deterioro de la visión administrando a un paciente una dosis terapéutica de un modulador de sirtuina seleccionado entre un compuesto descrito en esta memoria o una sal, profármaco o un derivado metabólico farmacéuticamente aceptable del mismo.

En ciertos aspectos, el deterioro de la visión está provocado por daño al nervio óptico o al sistema nervioso central. En realizaciones particulares, el daño al nervio óptico está provocado por alta presión intraocular, tal como aquella creada por el glaucoma. En otras realizaciones particulares, el daño al nervio óptico está provocado por inflamación del nervio, que con frecuencia se asocia con una infección o una respuesta inmunitaria (por ejemplo, autoinmune) tal como neuritis óptica.

En ciertos aspectos, el deterioro de la visión está provocado por daño retiniano. En realizaciones particulares, el daño retiniano está provocado por alteraciones en el flujo sanguíneo hacia el ojo (por ejemplo, arteriosclerosis, vasculitis). En realizaciones particulares, el daño retiniano está provocado por la ruptura de la mácula (por ejemplo, degeneración macular exudativa o no exudativa).

Las enfermedades retinianas ilustrativas incluyen degeneración macular exudativa relacionada con la edad, degeneración macular no exudativa relacionada con la edad, degeneración macular relacionada con la edad por prótesis retiniana electrónica y trasplante RPE, epitelopatía pigmentaria placoide multifocal aguda, necrosis retiniana aguda, enfermedad de Best, oclusión de la rama arterial de la retina, oclusión de la rama venosa de la retina, retinopatías autoinmunes asociadas y relacionadas con el cáncer, oclusión de la arteria central de la retina, oclusión de la vena central de la retina, coriorretinopatía serosa central, enfermedad de Eales, membrana epimacular, degeneración de la retina, macroaneurisma, edema macular diabético, edema macular Irvine-Gass, orificio macular, membranas neovasculares subretinianas, neurorretinitis difusa subaguda unilateral, edema macular cistoide no pseudofásico, síndrome de presunta histoplasmosis ocular, desprendimiento de retina exudativo, desprendimiento de retina post-operatorio, desprendimiento de retina proliferativo, desprendimiento de retina regmatógeno, desprendimiento de retina traccional, retinitis pigmentosa, retinitis CMV, retinoblastoma, retinopatía prematura, retinopatía en perdigonada, retinopatía diabética de fondo, retinopatía diabética proliferativa, retinopatía por hemoglobinopatías, retinopatía de Purtscher, retinopatía de Valsalva, retinosquiasis juvenil, retinosquiasis senil, síndrome de Terson y síndrome de manchas blancas.

5 Otras enfermedades ilustrativas incluyen infecciones bacterianas oculares (por ejemplo, conjuntivitis, queratitis, tuberculosis, sífilis, gonorrea), infecciones víricas (por ejemplo, virus del herpes simple ocular, virus zoster de la varicela, retinitis por citomegalovirus, virus de inmunodeficiencia humana (VIH)) además de necrosis de la retina externa progresiva secundaria a VIH u otras enfermedades oculares asociadas a VIH y asociada a otras inmunodeficiencias. A su vez, las enfermedades oculares incluyen infecciones fúngicas (por ejemplo, coroiditis por Candida, histoplasmosis), infecciones por protozoos (por ejemplo, toxoplasmosis) y otras tales como toxocariasis ocular y sarcoidosis.

10 En un aspecto se describe un método para inhibir, reducir o tratar el deterioro de la visión en un sujeto que se somete a tratamiento con un fármaco quimioterapéutico (por ejemplo, un fármaco neurotóxico, un fármaco que eleva la presión intraocular tal como un esteroide), administrando al sujeto que necesita dicho tratamiento una dosis terapéutica de un modulador de sirtuina descrito en esta memoria.

15 Otro aspecto es un método para inhibir, reducir o tratar el deterioro de la visión en un sujeto que se somete a cirugía, incluyendo cirugías oculares u otras cirugías realizadas en posición boca abajo, tal como en la cirugía de la médula espinal, administrando al sujeto que necesita dicho tratamiento una dosis terapéutica de un modulador de sirtuina descrito en esta memoria. Las cirugías oculares incluyen cataratas, iridotomía y reemplazo de lentes.

Otro aspecto es el tratamiento, que incluye la inhibición y el tratamiento profiláctico, de enfermedades oculares relacionadas con la edad, que incluyen cataratas, ojo seco, degeneración macular relacionada con la edad (AMD), daño a la retina y similares, administrando al sujeto que necesita dicho tratamiento una dosis terapéutica de un modulador de sirtuina descrito en esta memoria.

20 Otro aspecto es la prevención o el tratamiento de daño al ojo provocado por estrés, agresión química o radiación, administrando al sujeto que necesita dicho tratamiento una dosis terapéutica de un modulador de sirtuina descrito en esta memoria. El daño por radiación o el daño electromagnético al ojo pueden incluir aquel causado por CRT o exposición a la luz solar o UV.

25 En una realización, un régimen de fármacos de combinación puede incluir fármacos o compuestos para el tratamiento o la prevención de trastornos oculares o procesos secundarios asociados con estos cuadros. Por consiguiente, un régimen de fármacos de combinación puede incluir uno o más activadores de sirtuina y uno o más agentes terapéuticos para el tratamiento de un trastorno ocular.

30 En una realización, un modulador de sirtuina puede administrarse junto con una terapia para reducir la presión intraocular. En otra realización, un modulador de sirtuina puede administrarse junto con una terapia para tratar y/o prevenir el glaucoma. En aún otra realización, un modulador de sirtuina puede administrarse junto con una terapia para tratar y/o prevenir la neuritis óptica. En una realización, un modulador de sirtuina puede administrarse junto con una terapia para tratar y/o prevenir la retinopatía CMV. En otra realización, un modulador de sirtuina puede administrarse junto con una terapia para tratar y/o prevenir la esclerosis múltiple.

Enfermedades y trastornos asociados con mitocondrias

35 En ciertas realizaciones, se describen métodos para tratar enfermedades o trastornos que se beneficiarían con una mayor actividad mitocondrial. Los métodos implican administrar a un sujeto que lo necesite una cantidad terapéuticamente efectiva de un compuesto activador de sirtuina. Una actividad mitocondrial aumentada se refiere a aumentar la actividad de la mitocondria mientras se mantienen los números totales de mitocondrias (por ejemplo, masa mitocondrial), aumentar los números de mitocondrias aumentando así la actividad mitocondrial (por ejemplo, estimulando la biogénesis mitocondrial) o combinaciones de los mismos. En ciertas realizaciones, las enfermedades y trastornos que se beneficiarían con la actividad mitocondrial aumentada incluyen enfermedades o trastornos asociados con disfunción mitocondrial.

45 En ciertas realizaciones, los métodos para tratar enfermedades y trastornos que se beneficiarían con la actividad mitocondrial aumentada pueden comprender identificar a un sujeto que padece una disfunción mitocondrial. Métodos para el diagnóstico de una disfunción mitocondrial pueden implicar análisis genéticos moleculares, patológicos y/o bioquímicos. Las enfermedades y trastornos asociados con disfunción mitocondrial incluyen enfermedades y trastornos en los que los déficits en la actividad de la cadena respiratoria mitocondrial contribuyen al desarrollo de patofisiología de dichas enfermedades o trastornos en un mamífero. Las enfermedades o trastornos que se beneficiarían con la actividad mitocondrial aumentada generalmente incluyen, por ejemplo, enfermedades en las que la lesión oxidativa mediada por radicales libres conduce a la degeneración de tejido, enfermedades en las que las células se someten inapropiadamente a apoptosis y enfermedades en las que las células no pueden someterse a apoptosis.

55 En ciertas realizaciones, se describen métodos para tratar una enfermedad o trastorno que se beneficiaría de actividad mitocondrial aumentada que implica administrar a un sujeto que lo necesita uno o más compuestos activadores de sirtuina en combinación con otro agente terapéutico tal como, por ejemplo, un agente útil para tratar la disfunción mitocondrial o un agente útil para reducir un síntoma asociado con una enfermedad o trastorno que implica disfunción mitocondrial.

5 En realizaciones ilustrativas, se describen métodos para tratar enfermedades o trastornos que se beneficiarían con el aumento de la actividad mitocondrial, administrando a un sujeto una cantidad terapéuticamente efectiva de un compuesto activador de sirtuina. Las enfermedad o trastornos ilustrativos incluyen, por ejemplo, trastornos neuromusculares (por ejemplo, ataxia de Friedreich, distrofia muscular, esclerosis múltiple, etc.), trastornos de inestabilidad neuronal (por ejemplo, trastornos de convulsiones, migraña, etc.), retraso del desarrollo, trastornos neurodegenerativos (por ejemplo, enfermedad de Alzheimer, enfermedad de Parkinson, esclerosis lateral amiotrófica, etc.), isquemia, acidosis tubular renal, neurodegeneración relacionada con la edad y deterioro cognitivo, fatiga por quimioterapia, menopausia o irregularidades en el ciclo menstrual o la ovulación relacionadas con la edad o inducidas por quimioterapia, miopatías mitocondriales, daño mitocondrial (por ejemplo, acumulación de calcio, excitotoxicidad, exposición a ácido nítrico, hipoxia, etc.), y desregulación mitocondrial.

10 Distrofia muscular se refiere a una familia de enfermedades que implican el deterioro de la estructura y la función neuromuscular, con frecuencia dando por resultado la atrofia del músculo esquelético y disfunción del miocardio, tal como distrofia muscular de Duchenne. En ciertas realizaciones, los compuestos activadores de sirtuina pueden usarse para reducir el índice de deterioro en las capacidades funcionales musculares y para mejorar el estado funcional muscular en pacientes con distrofia muscular.

15 En ciertas realizaciones, los compuestos activadores de sirtuina pueden ser útiles para el tratamiento de miopatías mitocondriales. Las miopatías mitocondriales oscilan entre debilidad leve, lentamente progresiva de los músculos extraoculares a miopatías infantiles fatales, graves, y encefalomiopatías multisistémicas. Se han definido algunos síndromes, con cierta superposición entre ellos. Los síndromes establecidos que afectan los músculos incluyen oftalmoplejía externa progresiva, síndrome de Kearns-Sayre (con oftalmoplejía, retinopatía pigmentaria, defectos de los conductos cardiacos, ataxia cerebelar y sordera sensorineural), síndrome MELAS (encefalomiopatía mitocondrial, acidosis láctica y episodios de tipo ictus), síndrome MERFF (epilepsia mioclónica y de fibras rojas rasgadas), debilidad de distribución extremidades-cintura y miopatía infantil (benigna o severa y fatal).

20 En ciertas realizaciones, los compuestos activadores de sirtuina pueden ser útiles para tratar a pacientes que sufren de daño tóxico a las mitocondrias, tal como daño tóxico debido a la acumulación de calcio, excitotoxicidad, exposición a ácido nítrico, daño tóxico inducido por fármacos o hipoxia.

25 En ciertas realizaciones, los compuestos activadores de sirtuina pueden ser útiles para tratar enfermedades o trastornos asociados con desregulación mitocondrial.

Rendimiento muscular

30 En otras realizaciones, se describen métodos para mejorar el rendimiento muscular, administrando una cantidad terapéuticamente efectiva de un compuesto activador de sirtuina. Por ejemplo, los compuestos activadores de sirtuina pueden ser útiles para mejorar la resistencia física (por ejemplo, la capacidad para realizar una tarea física tal como ejercicio, trabajo físico, actividades deportivas, etc.), inhibir o retardar las fatigas físicas, mejorar los niveles de oxígeno en sangre, mejorar la energía en personas sanas, mejorar la capacidad de trabajo y la resistencia, reducir la fatiga muscular, reducir el estrés, aumentar la función cardíaca y cardiovascular, mejorar la capacidad sexual, aumentando los niveles de ATP musculares y/o reducir el ácido láctico en sangre. En ciertas realizaciones, los métodos implican administrar una cantidad de un compuesto activador de sirtuina que aumenta la actividad mitocondrial, aumenta la biogénesis mitocondrial y/o aumenta la masa mitocondrial.

35 El desempeño deportivo se refiere a la capacidad de los músculos del atleta para rendir cuando participa en actividades deportivas. Un mayor rendimiento deportivo, fuerza, velocidad y resistencia se miden con un aumento en la fuerza de la contracción muscular, un aumento en la amplitud de la contracción muscular, un acortamiento en el tiempo de reacción del músculo entre la estimulación y la contracción. Atleta se refiere a un individuo que participa en deportes a cualquier nivel y que busca alcanzar un nivel de fortaleza, velocidad y resistencia aumentados en su rendimiento, tal como, por ejemplo, culturistas, ciclistas, corredores de larga distancia, corredores de corta distancia, etc. El rendimiento en deportes mejorado se manifiesta por la capacidad de superar la fatiga muscular, capacidad para mantener la actividad durante periodos de tiempo más largos, y tener un entrenamiento más efectivo.

40 En el campo del desempeño muscular de un atleta, es deseable crear condiciones que permitan la competición o el entrenamiento a niveles superiores de resistencia por un periodo de tiempo prolongado.

45 Se contempla que los métodos serán también efectivos en el tratamiento de procesos patológicos relacionados con los músculos, incluyendo sarcopenia agua, por ejemplo, atrofia muscular y/o cachexia asociada con quemaduras, reposo en cama, inmovilización de extremidades, o cirugía torácica, abdominal y/u ortopédica mayor.

50 En ciertas realizaciones, la invención proporciona nuevas composiciones dietarias que comprenden moduladores de sirtuina, un método para su preparación y un método para usar las composiciones para mejorar el desempeño deportivo. Por consiguiente, se proporcionan composiciones, alimentos y bebidas terapéuticas que tienen acciones que mejoran la resistencia física y/o inhiben las fatigas físicas de aquellas personas involucradas en ejercicios ampliamente definidos, incluyendo deportes que exigen resistencia y trabajos físicos que exigen esfuerzo muscular repetido. Dichas composiciones dietarias pueden comprender adicionalmente electrolitos, cafeína, vitaminas, carbohidratos, etc.

Otros usos

5 Los compuestos moduladores de sirtuina que aumentan el nivel y/o la actividad de una proteína sirtuina pueden usarse para tratar o prevenir infecciones víricas (tales como infecciones por gripe, herpes o virus del papiloma) o como agentes antifúngicos. En ciertas realizaciones, los compuestos moduladores de sirtuina que aumentan el nivel y/o la actividad de una proteína sirtuina pueden administrarse como parte de una terapia de fármacos de combinación con otro agente terapéutico para el tratamiento de enfermedades víricas. En otra realización, los compuestos moduladores de sirtuina que aumentan el nivel y/o la actividad de una proteína sirtuina pueden administrarse como parte de una terapia de fármacos de combinación con otro agente anti-fúngico.

10 Los sujetos que pueden tratarse como se describe en esta memoria incluyen eucariotas, tales como mamíferos, por ejemplo, seres humanos, ovinos, bovinos, equinos, porcinos, caninos, felinos, primates no humanos, ratones y ratas. Las células que pueden tratarse incluyen células eucarióticas, por ejemplo, de un sujeto descrito anteriormente, o células vegetales, células de levadura y células procarióticas, por ejemplo, células bacterianas. Por ejemplo, los compuestos moduladores pueden administrarse a animales de granja para mejorar su capacidad de tolerar las condiciones de la granja por más tiempo.

15 Los compuestos moduladores de sirtuina que aumentan el nivel y/o la actividad de una proteína sirtuina pueden también usarse para aumentar la vida, la resistencia al estrés y la resistencia a la apoptosis en plantas. En una realización, un compuesto se aplica a plantas, por ejemplo, en una base periódica, o a hongos. En otra realización, las plantas se modifican genéticamente para producir un compuesto. En otra realización, las plantas y las frutas se tratan con un compuesto antes de cosecharse y enviarse para aumentar la resistencia al daño durante el envío. Las semillas de las plantas pueden también ponerse en contacto con los compuestos descritos en esta memoria, por ejemplo, para conservarlas.

20 En otras realizaciones, los compuestos moduladores de sirtuina que aumentan el nivel y/o la actividad de una proteína sirtuina pueden usarse para modular la vida en células de levadura. Las situaciones en las que puede ser deseable extender la vida de las células de levadura incluyen cualquier proceso en el que se usa levadura, por ejemplo, la elaboración de cerveza, yogur y artículos de panadería, por ejemplo, pan. El uso de levadura que tiene una vida extendida puede dar por resultado el menor uso de levadura o puede hacer que la levadura sea más activa por periodos de tiempo más largos. La levadura u otras células de mamífero usadas para producir de forma recombinante proteínas pueden también tratarse como se describe en esta memoria.

25 Los compuestos moduladores de sirtuina que aumentan el nivel y/o la actividad de una proteína sirtuina pueden también usarse para aumentar la vida, la resistencia al estrés y la resistencia a la apoptosis en insectos. En esta realización, los compuestos se aplicarían a insectos útiles, por ejemplo, abejas y otros insectos que están implicados en la polinización de las plantas. En una realización específica, un compuesto se aplicaría a abejas implicadas en la producción de miel. En general, los métodos descritos en esta memoria pueden aplicarse a cualquier organismo, por ejemplo, eucariota, que puede tener importancia comercial. Por ejemplo, pueden aplicarse a peces (acuicultura) y pájaros (por ejemplo, pollo y aves).

30 Dosis más altas de los compuestos moduladores de sirtuina que aumentan el nivel y/o la actividad de una proteína sirtuina pueden también usarse como un pesticida interfiriendo con la regulación de genes silenciados y con la regulación de apoptosis durante el desarrollo. En esta realización, un compuesto puede aplicarse a plantas usando un método conocido en la técnica que asegura que el compuesto está biodisponible para larvas de insectos y no para plantas.

35 Al menos en vista de la conexión entre la reproducción y la longevidad, los compuestos moduladores de sirtuina que aumentan el nivel y/o la actividad de una proteína sirtuina pueden aplicarse para afectar la reproducción de organismos tales como insectos, animales y microorganismos.

4. Ensayos

45 Se han descrito varios tipos de ensayos para determinar la actividad sirtuina. Por ejemplo, la actividad sirtuina puede determinarse usando un ensayo basado en fluorescencia tal como el ensayo disponible comercialmente de Biomol, por ejemplo el Equipo de Descubrimiento de Fármacos Fluorimétrico de SIRT1 (AK-555), el Equipo de Descubrimiento de Fármacos Fluorimétrico de SIRT2 (AK-556), o el Equipo de Descubrimiento de Fármacos Fluorimétrico SIRT3 (AK-557) (Biomol International, Plymouth Meeting, PA). Otros ensayos de sirtuina adecuados incluyen un ensayo de liberación de nicotinamida (Kaeberlein et al., J. Biol. Chem. 280(17): 17038 (2005)), un ensayo FRET (Marcotte et al., Anal. Biochem. 332: 90 (2004)), y un ensayo de unión a resina de C¹⁴ NAD boro (McDonagh et al., Methods 36: 346 (2005)). Aún otros ensayos de sirtuina adecuados incluyen radioinmunoensayos (RIA), ensayos de proximidad de centelleo, ensayos basados en HPLC y ensayos de gen reportero (por ejemplo, para dianas del factor de transcripción).

55 Un ensayo ilustrativa para determinar la actividad sirtuina es un ensayo de polarización de fluorescencia. Los ensayos de polarización de fluorescencia se describen en esta memoria y se describen también en la Publicación PCT núm. WO 2006/094239. En otras realizaciones, la actividad sirtuina puede determinarse usando unos ensayos basados en espectrometría de masas. Ejemplos de ensayos basados en espectrometría de masas se describen en

esta memoria y se describen también en la Publicación PCT núm. WO 2007/064902. También pueden usarse ensayos basados en células para determinar la actividad sirtuina. Ejemplos de ensayos basados en células para determinar la actividad sirtuina se describen en las Publicaciones PCT núms. WO 2007/064902 y WO 2008/060400.

5 Aún otros métodos contemplados en esta memoria incluyen métodos de cribado para identificar compuestos o agentes que modulan las sirtuinas. Un agente puede ser un ácido nucleico, tal como un aptámero. Los ensayos pueden realizarse en un formato basado en células o libre de células. Por ejemplo, un ensayo puede comprender incubarse (o poner en contacto) una sirtuina con un agente de ensayo bajo condiciones en las que una sirtuina puede modularse por un agente conocido por modular la sirtuina, y monitorizar o determinar el nivel de modulación de la sirtuina en presencia del agente de ensayo en relación con la ausencia del agente de ensayo. El nivel de modulación de una sirtuina puede determinarse determinando su capacidad de desacetilar un sustrato. Los sustratos ilustrativos son péptidos acetilados que pueden obtenerse de BIOMOL (Plymouth Meeting, PA). Los sustratos preferidos incluyen péptidos de p53, tales como aquellos que comprenden un K382 acetilado. Un sustrato particularmente preferido es el Fluor de Lys-SIRT1 (BIOMOL), es decir, el péptido acetilado Arg-His-Lys-Lys. Otros sustratos son péptidos de las histonas humanas H3 y H4 o un aminoácido acetilado. Los sustratos pueden ser fluorogénicos. La sirtuina puede ser SIRT1, Sir2, SIRT3 o partes de las mismas. Por ejemplo, SIRT1 recombinante puede obtenerse de BIOMOL. La reacción puede llevarse a cabo durante aproximadamente 30 minutos y detenerse, por ejemplo, con nicotinamida. El equipo de descubrimiento de ensayos/fármacos de actividad fluorescente HDAC (AK-500, BIOMOL Research Laboratories) puede usarse para determinar el nivel de acetilación. Se describen ensayos similares en Bitterman et al. (2002) J. Biol. Chem. 277:45099. El nivel de modulación de la sirtuina en un ensayo puede compararse con el nivel de modulación de la sirtuina en presencia de uno o más compuestos (separada o simultáneamente) descritos en esta memoria, que pueden servir como controles positivos o negativos. Las sirtuinas para uso en los ensayos pueden ser proteínas sirtuina de longitud total o partes de las mismas. Dado que se ha mostrado en esta memoria que los compuestos activadores parecen interactuar con el extremo N de SIRT1, las proteínas para uso en los ensayos incluyen partes N-terminal de sirtuinas, por ejemplo, aproximadamente 1-176 o 1-255 aminoácidos de SIRT1; aproximadamente 1-174 o 1-252 aminoácidos de Sir2.

En una realización, un ensayo de cribado comprende (i) poner en contacto una sirtuina con un agente de ensayo y un sustrato acetilado bajo condiciones apropiadas para que la sirtuina desacetile el sustrato en ausencia del agente de ensayo ; y (ii) determinar el nivel de acetilación del sustrato, en donde un nivel inferior de acetilación del sustrato en presencia del agente de ensayo en relación con la ausencia del agente de ensayo indica que el agente de ensayo estimula la desacetilación mediante la sirtuina, mientras que un nivel mayor de acetilación del sustrato en presencia del agente de ensayo en relación con la ausencia del agente de ensayo indica que el agente de ensayo inhibe la desacetilación mediante la sirtuina.

Los métodos para identificar un agente que modula, por ejemplo, estimula, las sirtuinas *in vivo* puede comprender (i) poner en contacto una célula con un agente de ensayo y un sustrato que es capaz de entrar en una célula en presencia de un inhibidor de HDACs de clase I y de clase II bajo condiciones apropiadas para que la sirtuina desacetile el sustrato en ausencia del agente de ensayo; y (ii) determinar el nivel de acetilación del sustrato, donde un nivel inferior de acetilación del sustrato en presencia del agente de ensayo en relación con la ausencia del agente de ensayo indica que el agente de ensayo estimula la desacetilación mediante la sirtuina, mientras que un nivel mayor de acetilación del sustrato en presencia del agente de ensayo en relación con la ausencia del agente de ensayo indica que el agente de ensayo inhibe la desacetilación mediante la sirtuina. Un sustrato preferido es un péptido acetilado, que es también preferiblemente fluorogénico, como se describe en más detalle en esta memoria. El método puede comprender además lisar las células para determinar el nivel de acetilación del sustrato. Los sustratos pueden añadirse a las células en una concentración que oscila de aproximadamente 1 μ M a aproximadamente 10 mM, preferiblemente de aproximadamente 10 μ M a 1 mM, incluso más preferiblemente de aproximadamente 100 μ M a 1 mM, tal como aproximadamente 200 μ M. Un sustrato preferido es una lisina acetilada, por ejemplo, ϵ -acetil-lisina (Fluor de Lys, FdL) o Fluor de Lys-SIRT1. Un inhibidor preferido de HDACs de clase I y clase II es tricostatina A (TSA), que puede usarse a concentraciones que oscilan de aproximadamente 0,01 a 100 μ M, preferiblemente de aproximadamente 0,1 a 10 μ M, tal como 1 μ M. La incubación de células con el compuesto de ensayo y el sustrato puede realizarse durante aproximadamente 10 minutos hasta 5 horas, preferiblemente durante aproximadamente 1-3 horas. Ya que TSA inhibe todos los HDAC de clase I y clase II, y que ciertos sustratos, por ejemplo, Fluor de Lys, es un sustrato pobre para SIRT2 e incluso menos un sustrato para SIRT3-7, dicho ensayo puede usarse para identificar moduladores de SIRT1 *in vivo*.

5. Composiciones farmacéuticas

Los compuestos moduladores de sirtuina descritos en esta memoria pueden formularse en un modo convencional usando uno o más vehículos o excipientes fisiológicamente aceptables. Por ejemplo, los compuestos moduladores de sirtuina y sus sales y solvatos fisiológicamente aceptables pueden formularse para administración, por ejemplo, por inyección (por ejemplo, SubQ, IM, IP), inhalación o insuflación (bien por boca o nariz) o administración oral, bucal, sublingual, transdérmica, nasal, parenteral o rectal. En una realización, un compuesto modulador de sirtuina puede administrarse localmente, en el sitio donde están presentes las células diana, es decir, en un tejido, órgano o fluido específico (por ejemplo, sangre, líquido cerebrospinal, etc.).

Los compuestos moduladores de sirtuina pueden formularse para una diversidad de modos de administración, que

incluyen la administración sistémica y tópica o localizada. Las técnicas y formulaciones generalmente pueden encontrarse en Remington's Pharmaceutical Sciences, Meade Publishing Co., Easton, PA. Para la administración parenteral, se prefiere la inyección, que incluye intramuscular, intravenosa, intraperitoneal y subcutánea. Para la inyección, los compuestos pueden formularse en disoluciones líquidas, preferiblemente en tampones fisiológicamente compatibles tales como disolución de Hank o disolución de Ringer. Además, los compuestos pueden formularse en forma sólida y redisolverse o suspenderse inmediatamente antes del uso. También se incluyen las formas liofilizadas.

Para la administración oral, las composiciones farmacéuticas pueden tomar la forma de, por ejemplo, comprimidos, grageas o cápsulas preparados por medios convencionales con excipientes farmacéuticamente aceptables, tales como agentes aglutinantes (por ejemplo, almidón de maíz pregelatinizado, polivinilpirrolidona o hidroxipropilmetilcelulosa); agentes de carga (por ejemplo, lactosa, celulosa microcristalina o hidrógenofosfato de calcio); lubricantes (por ejemplo, estearato de magnesio, talco o sílice); disgregantes (por ejemplo, almidón de patata o glicolato de almidón sódico); o agentes humectantes (por ejemplo, laurilsulfato sódico). Los comprimidos pueden recubrirse por métodos bien conocidos en la técnica. Los preparados líquidos para administración oral pueden tomar la forma de, por ejemplo, disoluciones, jarabes o suspensiones, o pueden presentarse como un producto seco para la reconstitución con agua u otro vehículo adecuado antes del uso. Dichos preparados líquidos pueden prepararse por medios convencionales con aditivos aceptables farmacéuticamente, tales como agentes de suspensión (por ejemplo, jarabe de sorbitol, derivados de celulosa o grasas comestibles hidrogenadas); agentes emulsionantes (por ejemplo, lecitina o goma arábica); vehículos no acuosos (por ejemplo, aceite de almendras, ésteres oleosos, alcohol etílico o aceites vegetales fraccionados); y conservantes (por ejemplo, metil o propil-p-hidroxibenzoatos o ácido sórbico). Los preparados también pueden contener sales de tamponamiento, agentes aromatizantes, colorantes y edulcorantes según sea apropiado. Los preparados para administración oral pueden formularse adecuadamente para dar una liberación controlada del compuesto activo.

Para la administración por inhalación (por ejemplo, reparto pulmonar), los compuestos moduladores de sirtuina pueden repartirse convenientemente en forma de una presentación de pulverización de aerosol desde envases presurizados o un nebulizador, con el uso de un propulsor adecuado, por ejemplo diclorodifluorometano, triclorofluorometano, diclorotetrafluoroetano, dióxido de carbono u otro gas adecuado. En el caso de un aerosol presurizado, la unidad de dosificación puede determinarse proporcionando una válvula para repartir una cantidad medida. Las cápsulas y los cartuchos de, por ejemplo, gelatina para uso en un inhalador o insuflador pueden formularse conteniendo una mezcla en polvo del compuesto y una base en polvo adecuada tal como lactosa o almidón.

Los compuestos moduladores de sirtuina pueden formularse para administración parenteral por inyección, por ejemplo, mediante inyección intravenosa rápida o infusión continua.

Las formulaciones para inyección pueden presentarse en forma de dosificación unitaria, por ejemplo, en ampollas, o en recipientes multidosis con un conservante añadido. Las composiciones pueden tomar formas tales como suspensiones, disoluciones, o emulsiones en vehículos oleosos o acuosos, y pueden contener agentes de formulación tales como agentes de suspensión, estabilizantes y/o dispersantes. Alternativamente, el ingrediente activo puede estar en forma de polvo para la reconstitución con un vehículo adecuado, por ejemplo, agua estéril libre de pirógenos, antes de su uso.

Los compuestos moduladores de sirtuina también pueden formularse en composiciones rectales tales como supositorios o enemas de retención, que contienen por ejemplo bases de supositorio convencionales tales como manteca de cacao u otros glicéridos.

Además de las formulaciones previamente descritas, los compuestos moduladores de sirtuina también pueden formularse como un preparado de depósito. Dichas formulaciones de actuación prolongada pueden administrarse por implantación (por ejemplo, por vía subcutánea o por vía intramuscular) o por inyección intramuscular. Así, por ejemplo, los compuestos moduladores de sirtuina pueden formularse con materiales poliméricos o hidrófobos adecuados (por ejemplo como una emulsión en un aceite aceptable) o con resinas de intercambio iónico, o como derivados muy poco solubles, por ejemplo, como una sal muy poco soluble. La fórmula de liberación controlada también incluye parches.

En ciertas realizaciones, los compuestos descritos en esta memoria pueden formularse para el reparto al sistema nervioso central (SNC) (revisado en Begley, Pharmacology & Therapeutics 104: 29-45 (2004)). Los planteamientos convencionales para la administración de fármacos al SNC incluyen: estrategias neuroquirúrgicas (por ejemplo, inyección intracerebral o infusión intracerebroventricular); manipulación molecular del agente (por ejemplo, producción de una proteína de fusión quimérica que comprende un péptido de transporte que tiene una afinidad por una molécula de superficie de células endoteliales en combinación con un agente que es por sí mismo incapaz de cruzar el BBB) en un intento de explotar una de las rutas de transporte endógeno del BBB; las estrategias farmacológicas diseñadas para aumentar la solubilidad de los lípidos de un agente (por ejemplo, conjugación de agentes solubles en agua a vehículos de colesterol o lípido); y la ruptura transitoria de la integridad del BBB por ruptura hiperosmótica (que resulta de la infusión de una disolución de manitol en la arteria carótida o el uso de un agente biológicamente activo tal como un péptido de angiotensina).

5 Los liposomas son otro sistema de reparto de fármacos que es fácilmente inyectable. Por consiguiente, los compuestos activos pueden administrarse también en forma de un sistema de reparto de liposomas. Los liposomas se conocen bien por un experto en la técnica. Los liposomas pueden formarse a partir de una diversidad de fosfolípidos tales como colesterol, estearilamina o fosfatidilcolinas. Los liposomas que son utilizables abarcan todos los tipos de liposomas, incluyendo, aunque no limitados a, vesículas unilamelares pequeñas, vesículas unilamelares grandes y vesículas multilamelares.

10 Otro modo de producir una formulación, particularmente una disolución, de un modulador de sirtuina tal como resveratrol o un derivado del mismo, es a través del uso de ciclodextrina. Por ciclodextrina se entiende α -, β - o γ -ciclodextrina. Las ciclodextrinas se describen en detalle en Pitha et al., patente de EE.UU. núm. 4.727.064, que se incorpora en esta memoria por referencia. Las ciclodextrinas son oligómeros cíclicos de glucosa; estos compuestos forman complejos de inclusión con cualquier fármaco cuya molécula puede caber en las cavidades en búsqueda de lipófilos de la molécula de ciclodextrina.

15 Las formas de dosificación de rápida desintegración o disolución son útiles para la absorción rápida, particularmente la absorción bucal y sublingual de agentes farmacéuticamente activos. Las formas de dosificación de fusión rápida son beneficiosas para los pacientes, como pacientes de edad avanzada o pacientes pediátricos, que tienen dificultad para deglutir las típicas formas de dosificación sólidas, como comprimidos y comprimidos oblongos. Además, las formas de dosificación de fusión rápida superan desventajas asociadas con, por ejemplo, las formas de dosificación masticables, en donde la longitud de tiempo en que un agente activo permanece en la boca del paciente cumple una papel importante en determinar la cantidad de enmascaramiento del sabor y el grado al cual el paciente puede objetar aspereza en la garganta del agente activo.

20 Las composiciones farmacéuticas (incluyendo preparaciones cosméticas) pueden comprender de aproximadamente 0,00001 a 100%, tal como de 0,001 a 10% o de 0,1% a 5% en peso de uno o más de los compuestos moduladores de sirtuina descritos en esta memoria.

25 En una realización, un compuesto modulador de sirtuina descrito en esta memoria se incorpora a una formulación tópica que contiene un vehículo tópico que se ajusta en general a la administración tópica de un fármaco y que comprende cualquiera de dichos materiales conocidos en la técnica. El vehículo tópico puede seleccionarse para así proporcionar la composición en la forma deseada, por ejemplo, como un ungüento, loción, crema, microemulsión, gel, aceite, disolución o similar, y puede estar comprendido por un material de origen o bien que se da de forma natural o sintético. Es preferible que el vehículo seleccionado no afecte adversamente al agente activo u otros componentes de la formulación tópica. Los ejemplos de vehículos tópicos adecuados para usar en esta memoria incluyen agua, alcoholes y otros disolventes orgánicos no tóxicos, glicerina, aceite mineral, silicona, petrolato, lanolina, ácidos grasos, aceites vegetales, parabenos, ceras y similares.

30 Las formulaciones pueden ser ungüentos, lociones, cremas, microemulsiones y geles incoloros e inoloros.

35 Los compuestos moduladores de sirtuina pueden incorporarse en ungüentos, que generalmente son preparados semisólidos que están típicamente basadas en petrolato o otros derivados de petróleo. La base del ungüento específica para usar, como apreciarán los expertos en la técnica, es una que proporcionará óptimo reparto del fármaco y, preferiblemente, proporcionará otras características deseadas también, por ejemplo, emoliencia o similares. Al igual que con otros transportes o vehículos, una base de ungüento sería inerte, estable, no irritante y no sensibilizante.

40 Los compuestos moduladores de sirtuina pueden incorporarse en lociones, que generalmente son preparados para aplicar a la superficie de la piel sin fricción, y son preparados típicamente líquidos o semilíquidos en cuyas partículas sólidas, incluyendo el agente activo, están presentes en una base de agua o alcohol. Las lociones son normalmente suspensiones de sólidos, y pueden comprender una emulsión oleosa líquida del tipo aceite en agua.

45 Los compuestos moduladores de sirtuina pueden incorporarse en cremas, que en general son emulsiones líquidas o semisólidas viscosas, o bien aceite en agua o agua en aceite. Las bases en crema son lavables en agua y contienen una fase oleosa, un emulsionante y una fase acuosa. La fase oleosa en general está comprendida por petrolato y un alcohol graso tal como alcohol cetílico o estearílico; la fase acuosa normalmente, aunque no necesariamente, excede a la fase oleosa en volumen, y en general contiene un humectante. El emulsionante en una formulación en crema, como se explica en Remington 's, *supra*, en general es un tensioactivo no iónico, aniónico, catiónico o anfótero.

50 Los compuestos moduladores de sirtuina pueden incorporarse en microemulsiones, que en general son dispersiones termodinámicamente estables, isotrópicamente transparentes de dos líquidos inmiscibles, tal como aceite y agua, estabilizados por una película interfacial de moléculas tensioactivas (Encyclopedia of Pharmaceutical Technology (Nueva York: Marcel Dekker, 1992), volumen 9).

55 Los compuestos moduladores de sirtuina pueden incorporarse en formulaciones en gel, que en general son sistemas semisólidos que consisten en o bien suspensiones compuestas por pequeñas partículas inorgánicas (sistemas bifásicos) o grandes moléculas orgánicas distribuidas sustancialmente de manera uniforme a lo largo de un vehículo líquido (geles monofásicos). Aunque los geles comúnmente emplean vehículos acuosos líquidos, también pueden

usarse alcoholes y aceites como el vehículo líquido.

Otros agentes activos pueden también incluirse en las formulaciones, por ejemplo, otros agentes anti-inflamatorios, analgésicos, agentes antimicrobianos, agentes antifúngicos, antibióticos, vitaminas, antioxidantes y agentes bloqueadores solares encontrados comúnmente en formulaciones de pantallas solares, que incluyen, aunque no están limitados a, antranilatos, benzofenonas (particularmente benzofenona-3), derivados de alcanfor, cinamatos (por ejemplo, metoxicinamato de octilo), dibenzoilmetanos (por ejemplo, butil-metoxidibenzoil-metano), ácido p-aminobenzoico (PABA) y derivados de los mismos, y salicilatos (por ejemplo, salicilato de octilo).

En ciertas formulaciones tópicas, el agente activo está presente en una cantidad en el intervalo de aproximadamente 0,25% en peso a 75% en peso de la formulación, preferiblemente en el intervalo de aproximadamente 0,25% en peso a 30% en peso de la formulación, más preferiblemente en el intervalo de aproximadamente 0,5% en peso a 15% en peso de la formulación, y lo más preferiblemente en el intervalo de aproximadamente 1,0% en peso a 10% en peso de la formulación.

Las afecciones del ojo pueden tratarse o prevenirse, por ejemplo, con inyección sistémica, tópica, intraocular de un compuesto modulador de sirtuina, o por inserción de un dispositivo de liberación sostenida que libere un compuesto modulador de sirtuina. Un compuesto modulador de sirtuina que aumenta el nivel y/o la actividad de una proteína sirtuina puede repartirse en un vehículo oftálmico farmacéuticamente aceptable, de modo que el compuesto se mantenga en contacto con la superficie ocular durante un periodo de tiempo suficiente para permitir que el compuesto penetre en las regiones de la cornea e internas del ojo, como por ejemplo la cámara anterior, cámara posterior, cuerpo vítreo, humor acuoso, humor vítreo, cornea, iris/surco ciliar, lente, coroides/retina y esclerótica. El vehículo oftálmico farmacéuticamente aceptable puede ser, por ejemplo, un ungüento, aceite vegetal o un material encapsulante. Alternativamente, los compuestos de la invención pueden inyectarse directamente en el humor acuoso o vítreo. En otra alternativa, los compuestos pueden administrarse sistémicamente, tal como por inyección o infusión intravenosa, para tratamiento del ojo.

Los compuestos moduladores de sirtuina descritos en esta memoria pueden almacenarse en medio libre de oxígeno. Por ejemplo, puede prepararse resveratrol o un análogo del mismo en una cápsula hermética para administración oral, tal como Capsugel de Pfizer, Inc.

Las células, por ejemplo, tratadas *ex vivo* con un compuesto modulador de sirtuina, pueden administrarse según los métodos para la administración de un injerto a un sujeto, que pueden acompañarse, por ejemplo, por la administración de un fármaco inmunosupresor, por ejemplo, ciclosporina A. Para principios generales en la formulación medicinal, el lector puede consultar *Cell Therapy: Stem Cell Transplantation, Gene Therapy, and Cellular Immunotherapy*, de G. Morstyn & W. Sheridan eds, Cambridge University Press, 1996; y *Hematopoietic Stem Cell Therapy*, E. D. Ball, J. Lister & P. Law, Churchill Livingstone, 2000.

La toxicidad y la eficacia terapéutica de los compuestos moduladores de sirtuina pueden determinarse por procedimientos farmacéuticos convencionales en cultivos celulares o animales experimentales. La LD₅₀ es la dosis mortal para el 50% de la población. La ED₅₀ es la dosis terapéuticamente efectiva en el 50% de la población. La relación de dosis entre efectos tóxicos y terapéuticos (LD₅₀/ED₅₀) es el índice terapéutico. Se prefieren los compuestos moduladores de sirtuina que exhiben grandes índices terapéuticos. Si bien pueden usarse compuestos moduladores de sirtuina que exhiban efectos secundarios tóxicos, se deberán tomar precauciones para diseñar un sistema de reparto que dirija dichos compuestos hacia el sitio de tejido afectado para minimizar el daño potencial a células no infectadas y reducir así los efectos secundarios.

Los datos obtenidos de los ensayos de cultivos celulares y estudios animales pueden usarse para formular un intervalo de dosificación para uso en seres humanos. La dosis de dichos compuestos puede caer en un intervalo de concentraciones circulantes que incluyan la ED₅₀ con poca o ninguna toxicidad. La dosis puede variar en este intervalo dependiendo de la forma de dosificación empleada y de la ruta de administración utilizada. Para cualquier compuesto, la dosis terapéuticamente efectiva puede estimarse inicialmente a partir de ensayos de cultivo celular. Puede formularse una dosis en modelos animales para lograr un intervalo de concentración en plasma circulante que incluya la IC₅₀ (es decir, la concentración del compuesto de ensayo que logra una inhibición media máxima de los síntomas) como se determina en el cultivo celular. Dicha información puede usarse para determinar más precisamente las dosis útiles en seres humanos. Los niveles en plasma pueden medirse, por ejemplo, por cromatografía líquida de alto rendimiento.

6. Equipos

También se proporcionan en esta memoria equipos, por ejemplo, equipos con propósitos terapéuticos o equipos para modular la vida de las células o modular la apoptosis. Un equipo puede comprender uno o más compuestos moduladores de sirtuina, por ejemplo, en dosis pre-medidas. Un equipo puede opcionalmente comprender dispositivos para poner en contacto las células con los compuestos e instrucciones de uso. Los dispositivos incluyen jeringas, stents y otros dispositivos para introducir un compuesto modulador de sirtuina en un sujeto (por ejemplo, el vaso sanguíneo de un sujeto) o para aplicarlo a la piel de un sujeto.

En aún otra realización, la invención proporciona una composición de materia que comprende un modulador de

sirtuina de esta invención y otro agente terapéutico (los mismos usados en terapias de combinación y composiciones de combinación) en formas de dosificación separada, pero asociados entre sí. El término "asociados entre sí", como se usa en esta memoria, significa que las formas de dosificación separadas se envasan juntas o están de alguna forma unidas entre sí de modo tal que sea fácilmente evidente que las formas de dosificación separadas están previstas para comercializarse y administrarse como parte del mismo régimen. El agente y el modulador de sirtuina preferiblemente se envasan juntos en un envase de tipo blíster u otro envase de múltiples cámaras, o como recipientes sellados por separado, conectados, (como bolsas de aluminio o similares) que pueden separarse por el usuario (por ejemplo, desgarrando por líneas de corte entre los dos envases).

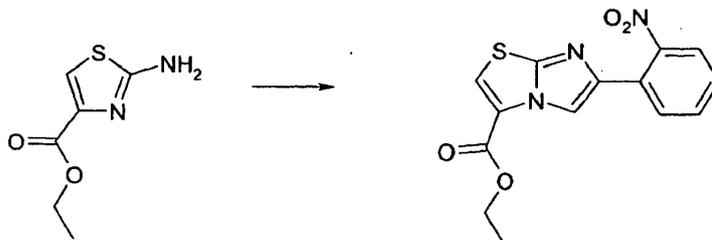
En aún otra realización, la invención proporciona un equipo que comprende, en recipientes separados, a) un modulador de sirtuina de esta invención; y b) otro agente terapéutico tal como los descritos en alguna parte de la memoria.

La práctica de los presentes métodos empleará, a menos que se indique lo contrario, técnicas convencionales de biología celular, cultivo celular, biología molecular, biología transgénica, microbiología, ADN recombinante e inmunología, que están dentro de la materia. Dichas técnicas se explican en detalle en la bibliografía. Véase, por ejemplo, *Molecular Cloning A Laboratory Manual*, 2ª Ed., ed. por Sambrook, Fritsch y Maniatis (Cold Spring Harbor Laboratory Press: 1989); *DNA Cloning*, Volúmenes I y II (D. N. Glover ed., 1985); *Oligonucleotide Synthesis* (M. J. Gait ed., 1984); Mullis et al. patente de EE.UU. núm.: 4.683.195; *Nucleic Acid Hybridization* (B. D. Hames & S. J. Higgins eds. 1984); *Transcription And Translation* (B. D. Hames & S. J. Higgins eds. 1984); *Culture Of Animal Cells* (R. I. Freshney, Alan R. Liss, Inc., 1987); *Immobilized Cells And Enzymes* (IRL Press, 1986); B. Perbal, *A Practical Guide To Molecular Cloning* (1984); el tratado, *Methods In Enzymology* (Academic Press, Inc., N.Y.); *Gene Transfer Vectors For Mammalian Cells* (J. H. Miller y M. P. Calos eds., 1987, Cold Spring Harbor Laboratory); *Methods In Enzymology*, Vols. 154 y 155 (Wu et al. eds.), *Immunochemical Methods In Cell And Molecular Biology* (Mayer y Walker, eds., Academic Press, Londres, 1987); *Handbook Of Experimental Immunology*, Volúmenes I-IV (D. M. Weir y C. C. Blackwell, eds., 1986); *Manipulating the Mouse Embryo*, (Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N.Y., 1986).

Ejemplos

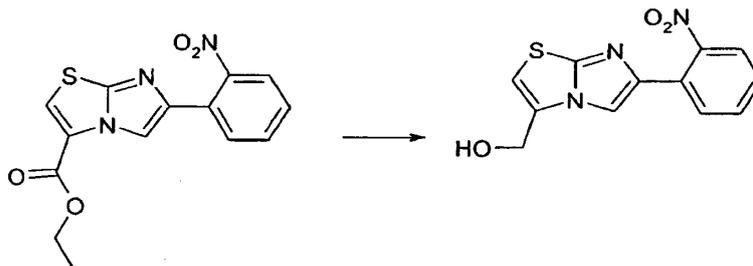
La invención que se describe ahora en general, se entenderá más fácilmente con referencia a los siguientes ejemplos que se incluyen exclusivamente con fines ilustrativos de ciertos aspectos y realizaciones de la presente invención, y no pretenden limitar la invención en modo alguno.

Ejemplo 1: Preparación de 4-metil-N-(2-(3-(morfolinometil)imidazo[2,1-b]tiazol-6-il)fenil)-2-(piridin-3-il)tiazol-5-carboxamida (Compuesto 1). Preparación de éster de ácido 6-(2-nitro-fenil)-imidazo[2,1-b]tiazol-3-carboxílico



En una marcha típica, se mezcló 2,1 g de 2-amintiazol-4-carboxilato de etilo (Combi-Blocks, 0,0123 moles) con 25 mL de metil etil cetona, junto con 2-bromo-2'-nitroacetofenona (3,0 g, 0,0123 moles). La mezcla de reacción se agitó a reflujo durante 18 horas. Luego se enfrió a temperatura ambiente y se filtró para eliminar parte de los sólidos. El filtrado se concentró para proporcionar 3,10 g de éster etílico de ácido 6-(2-nitro-fenil)-imidazo[2,1-b]tiazol-3-carboxílico (MS, $M^+ + H = 318$).

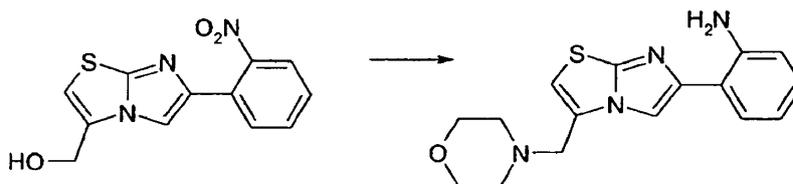
Preparación de [6-(2-nitro-fenil)-imidazo[2,1-b]tiazol-3-il]-metanol:



Se mezcló éster etílico de ácido 6-(2-nitro-fenil)-imidazo[2,1-b]tiazol-3-carboxílico (14,50 g, 0,0458 moles) con 100 mL de THF y 100 mL de agua que contenía 7,3 g de NaOH (4 eq). La mezcla de reacción se agitó a temperatura

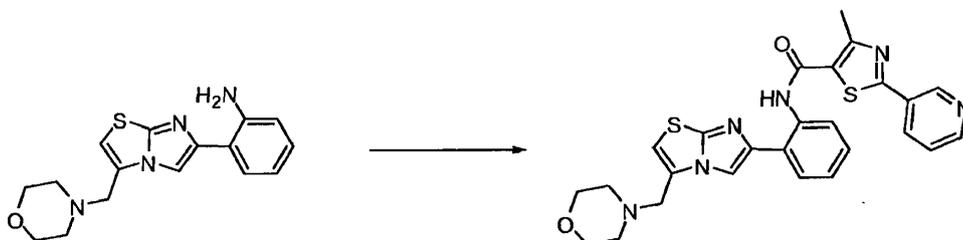
ambiente durante 18 horas. Luego se concentró. La capa acuosa se lavó una vez con CH_2Cl_2 y luego se aciduló con HCl 6 N. Los sólidos se recogieron por filtración y se secaron para proporcionar 7,4 g del intermedio ácido. Este material (7,4 g, 0,0256 moles) se mezcló con 200 mL de THF anhidro junto con N-metilmorfolina NMM (2,8 mL, 0,0256 moles) y se enfrió a 0°C . Se añadió cloroformiato de isobutilo (3,35 mL, 0,0256 moles) y la mezcla de reacción se agitó en un baño de hielo durante 3 horas. Se añadió NaBH_4 (0,97 g, 0,0256 moles) como una disolución en 30 mL de agua. La mezcla de reacción se agitó a 0°C durante 45 min. Después se calentó a temperatura ambiente y se concentró. La fase acuosa se extrajo con CH_2Cl_2 . Las fases orgánicas combinadas se secaron con Na_2SO_4 y se concentraron para proporcionar el producto en bruto. La purificación por cromatografía (Isco, usando una mezcla de pentano/acetato de etilo) proporcionó 5,20 g de [6-(2-nitro-fenil)-imidazo[2,1-b]tiazol-3-il]-metanol (74% de rendimiento).

Preparación de 2-(3-morfolin-4-ilmetil-imidazo[2,1-b]tiazol-6-il)-fenilamina:



Se disolvió [6-(2-nitro-fenil)-imidazo[2,1-b]tiazol-3-il]-metanol (435 mg, 1,58 mmoles) en 25 mL de CH_2Cl_2 junto con 1 eq de trietilamina (0,330 mL). Se añadió cloruro de metanosulfonilo (1 eq, 0,12 mL) y la mezcla de reacción se calentó a temperatura ambiente y se agitó durante 15 min. Después se inactivó con salmuera y se extrajo con CH_2Cl_2 . Las fases orgánicas combinadas se secaron con Na_2SO_4 y se concentraron para proporcionar el intermedio mesilato. Este material se mezcló con 6 mL de CH_3CN junto con 0,33 mL de trietilamina y 0,14 mL de morfolina. La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 18 horas. Al día siguiente, se concentró y el residuo resultante se repartió entre CH_2Cl_2 y agua. La fase orgánica se secó (Na_2SO_4) y concentró para proporcionar un rendimiento esencialmente cuantitativo del producto. Este material se mezcló con 6 mL de metanol y 1 mL de agua junto con 200 mg de hidrato de hidrosulfuro sódico. La mezcla de reacción resultante se agitó a reflujo durante 6 horas. Luego se enfrió a temperatura ambiente, se diluyó con 100 mL de etanol absoluto y se concentró. El residuo resultante se mezcló con 20 mL de 9:1 de CH_2Cl_2 /metanol y se filtró. El filtrado se concentró para proporcionar 2-(3-morfolin-4-ilmetil-imidazo[2,1-b]tiazol-6-il)-fenilamina.

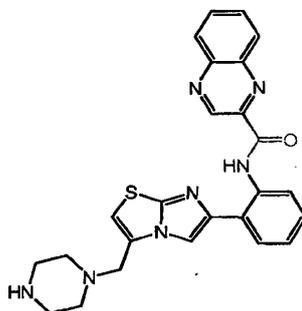
Preparación del Compuesto 1:



Ácido 2-(3-Piridil)-4-metiltiazol-5-carboxílico (0,61 g, 2,8 mmoles) se disolvió en cloruro de tionilo (2 mL) y la mezcla se agitó con calentamiento (82°C , 3 horas). Bajo enfriamiento, el disolvente se eliminó y el residuo se secó a alto vacío. El cloruro de ácido se suspendió entonces en 5 mL de piridina y se añadió a un vial de microondas cargado con 2-(3-morfolinometil)imidazo[2,1-b]tiazol-6-il)anilina (0,87 g, 2,8 mmoles). La reacción se sometió a irradiación de microondas (160°C , 15 min). La disolución se trituró con metanol, y el sólido resultante se filtró y se lavó con metanol adicional. El sólido se secó para proporcionar 0,97 g (68%) de 4-metil-N-(2-(3-morfolinometil)imidazo[2,1-b]tiazol-6-il)fenil)-2-(piridin-3-il)tiazol-5-carboxamida.

La forma salina de HCl de 4-metil-N-(2-(3-morfolinometil)imidazo[2,1-b]tiazol-6-il)fenil)-2-(piridin-3-il)tiazol-5-carboxamida se preparó disolviendo el producto (0,16 g) en HCl al 10%/ CH_3CN (4 mL). La disolución se secó por congelación entonces para proporcionar la sal (0,17 g) como un sólido amarillo-naranja. Otras sales (ácido sulfúrico, ácido metanosulfónico, ácido maleico, ácido fosfórico, ácido L-tartárico, ácido cítrico y ácido málico) se prepararon de una manera análoga.

Ejemplo 2: N-(2-(3-(piperazin-1-ilmetil)imidazo[2,1-b]tiazol-6-il)fenil)quinoxalin-2-carboxamida (Compuesto 2) - compuesto 441 del documento WO2007/019344



5 Ejemplo 3: Preparación de [2-(3-[1,2,4]triazol-1-ilmetil-imidazo[2,1-b]tiazol-6-il)-fenil]-amida de ácido 4-metil-2-piridin-3-il-tiazol-5-carboxílico

Preparación de 3-clorometil-6-(2-nitro-fenil)-imidazo[2,1-b]tiazol:



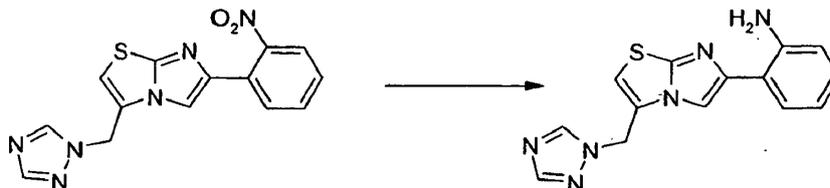
10 A una disolución de [6-(2-nitro-fenil)-imidazo[2,1-b]tiazol-3-il]-metanol (165 g, 0,6 moles) en diclorometano (1,65 L) se añadió SOCl_2 (400 mL, 5,5 moles) a temperatura ambiente. Se añadió DMF (0,3 mL) y la mezcla de reacción se agitó a 30°C (2 h). La mezcla de reacción se enfrió a 0°C , y el precipitado se recogió por filtración y se secó al vacío para dar 3-clorometil-6-(2-nitro-fenil)-imidazo[2,1-b]tiazol como un sólido blanco (174 g, 99% de rendimiento).

Preparación de 6-(2-nitro-fenil)-3-[1,2,4]triazol-1-ilmetil-imidazo[2,1-b]tiazol:



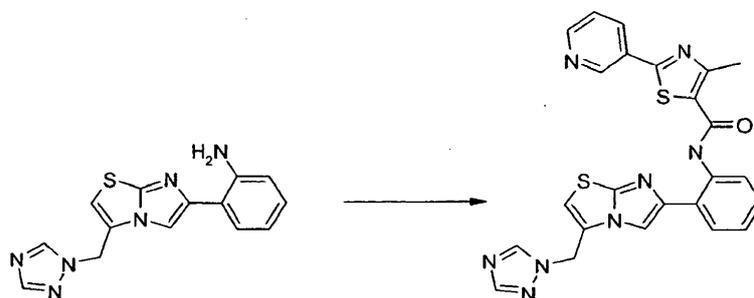
15 3-Clorometil-6-(2-nitro-fenil)-imidazo[2,1-b]tiazol (64,0 g, 0,22 moles) se disolvió en DMF (600 mL), seguido por la adición de 1H-[1,2,4]triazol (30,4 g, 0,44 moles), K_2CO_3 (91,0 g, 0,66 moles) y NaI (20 mg). Se agitó la mezcla a temperatura ambiente durante toda la noche, y después a 35°C (8 h). La mezcla se pasó a través de una almohadilla de gel de sílice, y el filtrado se concentró al vacío para dar un sólido amarillo. El sólido se lavó con acetato de etilo para dar 6-(2-nitro-fenil)-3-[1,2,4]triazol-1-ilmetil-imidazo[2,1-b]tiazol como un sólido amarillo (54 g, 75% de rendimiento). $^1\text{H-RMN}$ (DMSO- d_6 , 400 MHz): δ 5,75 (s, 2H), 7,40 (s, 1H), 7,52 (m, 1H), 7,68 (m, 1H), 7,79 (m, 2H), 8,05 (s, 1H), 8,19 (s, 1H), 8,83 (s, 1H).

Preparación de 2-(3-[1,2,4]Triazol-1-ilmetil-imidazo[2,1-b]tiazol-6-il)-fenilamina:



25 Se disolvió 6-(2-nitro-fenil)-3-[1,2,4]triazol-1-ilmetil-imidazo[2,1-b]tiazol (54 g, 165 mmoles) en etanol (2,0 L). Se añadió Pd/C (10%, 20 g), y el matraz se evacuó y se volvió a llenar con H_2 . La mezcla de reacción se agitó bajo H_2 a temperatura ambiente (2 días). La mezcla de reacción se pasó entonces a través de una almohadilla de gel de sílice, y el filtrado se concentró al vacío para dar un sólido amarillo. El sólido se lavó con etanol para dar 2-(3-[1,2,4]triazol-1-ilmetil-imidazo[2,1-b]tiazol-6-il)-fenilamina como un sólido amarillo (46 g, 94% de rendimiento).

Preparación de [2-(3-[1,2,4]triazol-1-ilmetil-imidazo[2,1-b]tiazol-6-il)-fenil]-amida de ácido 4-metil-2-piridin-3-il-tiazol-5-carboxílico:



Una mezcla de 2-(3-[1,2,4]triazol-1-ilmetil-imidazo[2,1-b]tiazol-6-il)-fenilamina (60 g, 202 mmoles), ácido 4-metil-2-piridin-3-il-tiazol-5-carboxílico (54 g, 245 mmoles), HATU (154 g, 405 mmoles) y DIEA (132 mL, 800 moles) en DMF (850 mL) se agitó a temperatura ambiente toda la noche. La TLC indicó que la reacción estaba completa. El precipitado se recogió por filtración, se lavó con una gran cantidad de agua, acetona, metanol y DCM para dar un sólido blanco (79 g, 79% de rendimiento). El sólido se recrystalizó a partir de ácido acético, se lavó con una disolución saturada de Na_2CO_3 (1,0 L x 2), agua (2 L) y etanol (1,0 L), y se secó en un horno de vacío a 45°C toda la noche para dar [2-(3-[1,2,4]triazol-1-ilmetil-imidazo[2,1-b]tiazol-6-il)-fenil]-amida de ácido 4-metil-2-piridin-3-il-tiazol-5-carboxílico como un sólido blanco (62 g, 62% de rendimiento). $^1\text{HRMN}$ (DMSO- d_6 , 400 MHz): δ 2,79 (s, 3H), 5,78 (s, 2H), 7,22 (m, 1H), 7,36 (m, 1H), 7,51 (s, 1H), 7,60 (m, 1H), 7,79 (d, $J=6,4$ Hz, 1H), 8,04 (s, 1H), 8,38 (m, 1H), 8,41 (s, 1H), 8,54 (d, $J=8,0$ Hz, 1H), 8,75 (m, 1 H), 8,86 (s, 1H), 9,19 (s, 1H), 12,78 (s, 1H). ESI-MS: 499,3(M+1), 521,4(M+23(Na)).

La sal de HCl de [2-(3-[1,2,4]triazol-1-ilmetil-imidazo[2,1-b]tiazol-6-il)-fenil]-amida de ácido 4-metil-2-piridin-3-il-tiazol-5-carboxílico se preparó suspendiendo 5,20 g de la base libre en metanol (350 mL). A esto se añadió HCL 4N (35 mL), y la mezcla se calentó hasta la disolución. La disolución se enfrió a -78°C y se secó por medio de liofilización para proporcionar la sal de HCl de [2-(3-[1,2,4]triazol-1-ilmetil-imidazo[2,1-b]tiazol-6-il)-fenil]-amida de ácido 4-metil-2-piridin-3-il-tiazol-5-carboxílico (7,49 g) como un sólido amarillo.

Ejemplo 4: Formación, Cribado y Caracterización de la sal

Se hicieron ocho sales aceptables (Regulatoria y pKa) de Compuesto 1, a saber con ácido clorhídrico, ácido sulfúrico, ácido metanosulfónico, ácido maleico, ácido fosfórico, ácido L-tartárico, ácido cítrico y ácido málico. Las sales resultantes o la base libre se cribaron entonces por:

- 1) Procesado, morfología, polimorfos;
- 2) Forma cristalina, polimorfo estable único;
- 3) Estabilidad física;
- 4) Estabilidad acelerada en plato abierto (40°C/75% de HR); y
- 5) Disolución biorrelevante.

La Figura 1 representa los resultados de Calorimetría por barrido diferencial (DSC) en la forma salina de HCl del Compuesto 1, que muestra pequeñas transiciones endotérmicas alrededor de 111°C y 192°C. Los resultados del Análisis termogravimétrico (TGA) indican una pérdida general de peso en el calentamiento, asociado potencialmente con pérdida de disolventes (más preferiblemente debido a pérdida de agua en base a la naturaleza higroscópica de esta sal de HCl), pero ningún suceso de pérdida de peso corresponde a las temperaturas de transición de DSC identificadas a 111°C y 192°C. Por lo tanto, estos dos sucesos térmicos de DSC parecen estar asociados con cambios de fase a nivel molecular, y sugerirían transiciones entre formas polimórficas de la sal del Compuesto 1 en el calentamiento. Por encima de 200°C, los resultados de DSC indican la descomposición de la sal del Compuesto 1.

La Figura 2 demuestra que la forma de base libre del Compuesto 1 tiene un único suceso endotérmico a 236°C que se asocia con un único punto de fusión cristalina. Como no se observan otras transiciones térmicas en los resultados de DSC o TGA, parece que el Compuesto 1 existe solo como una única fase (es decir, sin polimorfos) durante el intervalo térmico evaluado.

Los cambios de fase polimórfica potenciales sobre el intervalo térmico de 0 - 125°C, como se ve en la Figura 1 anterior para la sal de HCl, podría llevar a cambios en la sustancia del fármaco bajo condiciones normales de almacenaje y procesado. Como las transiciones polimórficas pueden tener efectos significativos en la disolución y biodisponibilidad de la sustancia de fármaco, es práctico seleccionar formas de la sustancia de fármaco que minimicen o eliminen el potencial para transiciones de fase. Por lo tanto, los resultados de las Figuras 1 y 2 tomadas juntas indican que la forma de base libre del fármaco es superior que una sustancia de fármaco en base a su forma

cristalina única evidente del Compuesto 1.

Ejemplo 5: Ensayos in vivo

5 El propósito de este ejemplo era comparar la eficacia del Compuesto 1 en formulaciones de sal y base libre en dos modelos de ratón diferentes de diabetes, un modelo de obesidad inducido por la dieta (DIO) y el ratón Ob/ob. La glucosa en sangre fue el determinante principal a través del experimento de eficacia.

10 Para el modelo de obesidad inducido por la dieta, se alimentaron ratones macho C57BL/6 de seis semanas de edad (Charles River Labs) con una dieta alta en grasas (60% de calorías procedentes de grasa; Research Diets) durante aproximadamente 6 semanas hasta que su peso corporal alcanzó aproximadamente 40 g. Los compuestos de ensayo se administraron diariamente por medio de alimentación forzada oral a las dosis indicadas. El vehículo usado fue HPMC al 2% y DOSS al 0,2%. Los pesos corporales de ratones individuales se midieron dos veces a la semana. Cada 2 semanas a lo largo del estudio, los ratones de cada grupo se sangraron por medio de la vena de la cola para la determinación de glucosa en sangre. El análisis estadístico se completó usando el programa JMP (Versión 6). Los datos se analizaron por ANOVA de una vía con comparación con el control usando un Ensayo de Dunnett. Un valor $p < 0,05$ indicó una diferencia significativa entre grupos.

15 Los ratones Ob/ob son ratones genéticamente deficientes manipulados genéticamente que carecen de leptina, una importante proteína saciante que señala neurológicamente el final del hambre. La mutación de leptina es homocigótica y una cepa heterocigótica está incluida como un control (Ob/+); este grupo no mostraría peso o glucosa en sangre aumentados, aparte de los efectos normales de seguir una dieta alta en grasas.

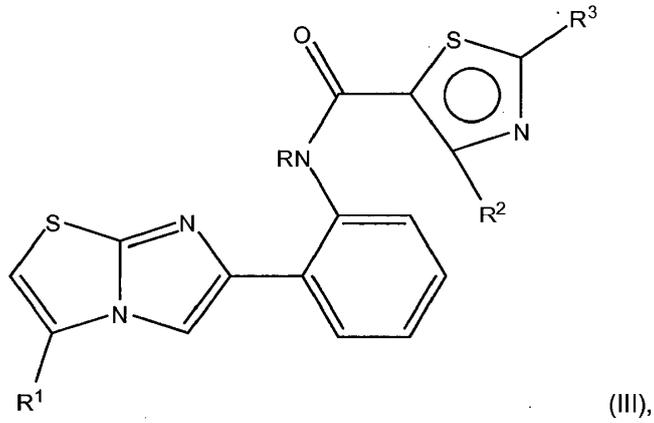
20 El Compuesto 1 en la forma de base libre se ensayó entonces en el modelo DIO. Los resultados del ensayo de glucosa en sangre para la base libre del Compuesto 1 a 100 mg/kg/día fue similar al de resveratrol a 1000 mg/kg/día, metformina a 400 mg/kg/día y Compuesto 2 a 100 mg/kg/día, todos los cuales mostraron reducciones significativas en glucosa en sangre de la semana 2 en adelante (Figuras 3-5). Los resultados del ensayo de glucosa en sangre para el Compuesto 1 fueron similares a los de resveratrol, metformina y Compuesto 2, todos los cuales mostraron reducciones significativas en glucosa en sangre desde la semana 2 en adelante (Figuras 3-5). Para el grupo de Compuesto 1 a las semanas 2 y 3, el valor p fue menor que ,01, una disminución significativa del grupo de vehículo. Mientras la glucosa en sangre permaneció más baja que el vehículo durante el ensayo de glucosa alimentada en la semana 4, la importancia se perdió para el compuesto 2 y resveratrol.

30 El compuesto 1 dosificado a 100 mg/kg mientras la base libre mostró potencia mejorada en el modelo ob/ob, como se evidencia en las Figuras 7-8. El resultado de la glucosa en ayunas en la semana 2 (Figura 7) para el grupo del Compuesto 1 fue 158,3 mg/dL de glucosa en comparación a 285,3 mg/dL de glucosa en el grupo de vehículo. Según los ensayos ANOVA, el valor p fue menor que ,0001, lo que demostró una reducción altamente significativa respecto al grupo de vehículo. Aunque los valores de glucosa en sangre aumentaron en la semana 3, hay una disminución significativa ($p < ,01$) respecto a los grupos de vehículo.

35 Se realizó un segundo experimento ob/ob que compara directamente el Compuesto 1 como la base libre frente a HCl además del Compuesto 2 todos a 100 mg/kg. Los datos de glucosa en sangre en ayunas en la semana uno y la semana dos se muestran en las Figuras 9 y 10 respectivamente.

REIVINDICACIONES

1. Un compuesto representado por la Fórmula Estructural (III):



o una sal del mismo, en donde:

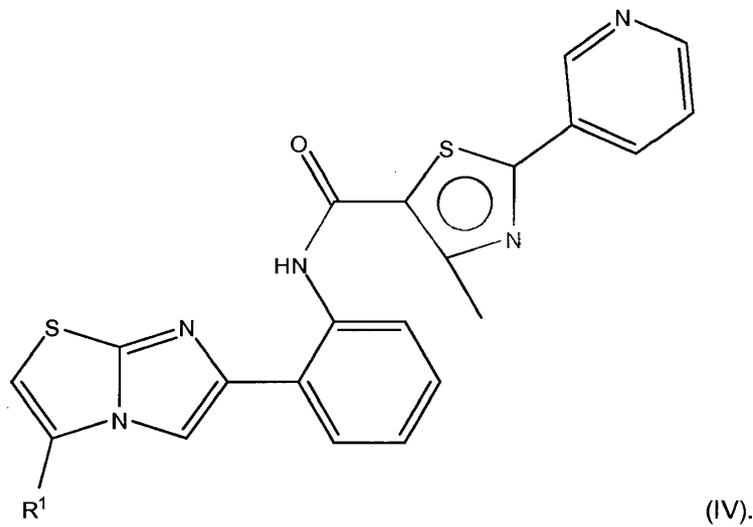
5 R es -H o -CH₃;

R¹ es un grupo (morfolino sustituido o no sustituido)metilo o un grupo 1,2,4-triazolilmetilo sustituido o no sustituido;

R² es -H o -CH₃; y

R³ es un grupo piridilo no sustituido.

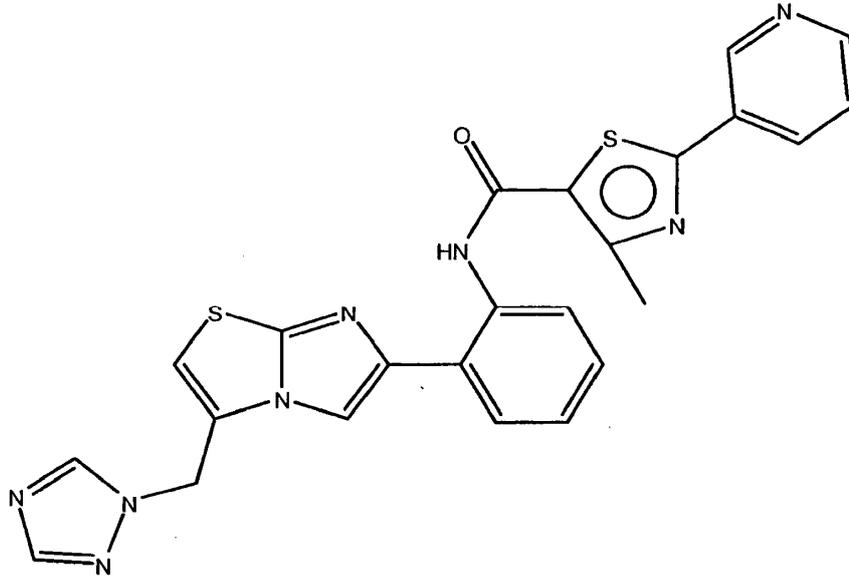
2. El compuesto según la reivindicación 1, en donde el compuesto se representa por la Fórmula Estructural (IV):



10

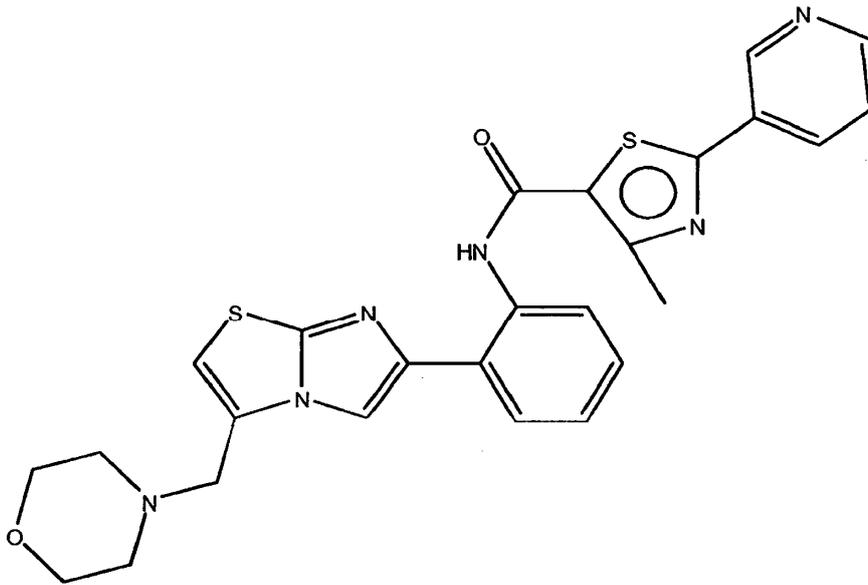
en donde R¹ es como se define en la reivindicación 1.

3. El compuesto según la reivindicación 1, en donde el compuesto se representa por la Fórmula Estructural (VI):



(VI).

4. El compuesto según la reivindicación 1, que se representa por la Fórmula Estructural (V):



(V).

- 5 5. El compuesto según la reivindicación 3 o 4, en donde el compuesto es una base libre.
6. El compuesto según la reivindicación 3 o 4, en donde el compuesto es una sal.
7. El compuesto según la reivindicación 6, donde la sal es una sal farmacéuticamente aceptable.
8. Un compuesto según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, para usar como un compuesto farmacéutico.
9. Una composición farmacéutica que comprende un compuesto o una sal farmacéuticamente aceptable de un
- 10 compuesto según una cualquiera de las reivindicaciones anteriores y un vehículo farmacéuticamente aceptable.
10. La composición según la reivindicación 9, en donde la composición farmacéutica está libre de pirógeno.
11. La composición según la reivindicación 9, que comprende además un agente activo adicional.
12. Un compuesto según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, para usar en un método para tratar o prevenir

la resistencia a la insulina, un síndrome metabólico, diabetes o complicaciones de los mismos, o para aumentar la sensibilidad a la insulina en un sujeto.

13. El compuesto para usar en el método según la reivindicación 12, en donde el sujeto es un ser humano.

14. El compuesto para usar en el método según la reivindicación 12, en donde dicho compuesto aumenta al menos uno del nivel o actividad de una proteína sirtuina, en donde opcionalmente:

(i) el compuesto aumenta la actividad desacetilasa de la proteína sirtuina;

(ii) la proteína sirtuina es una proteína de mamífero;

(iii) la proteína sirtuina es SIRT1 humano; o

(iv) el compuesto no tiene esencialmente una o más de las siguientes actividades: inhibición de PI3-quinasa, inhibición de aldorreductasa, inhibición de tirosina quinasa, transactivación de EGFR tirosina quinasa, dilatación coronaria o actividad espasmolítica, a concentraciones del compuesto que son eficaces para aumentar la actividad de desacetilación de una proteína SIRT1 y/o SIRT3.

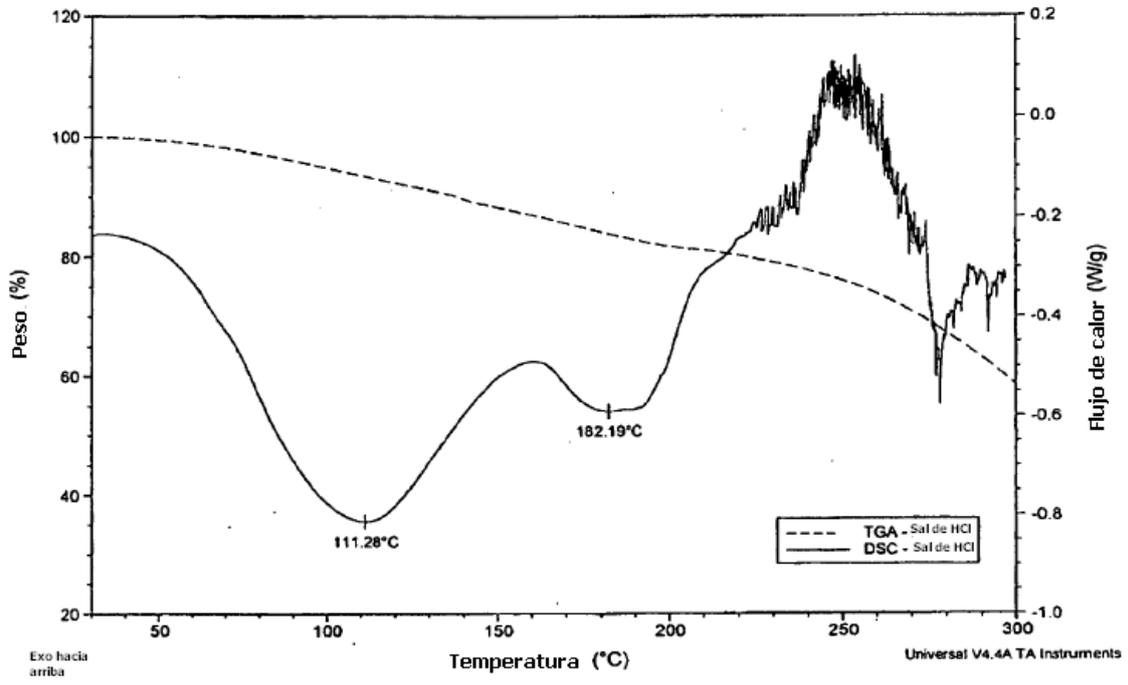


Figura 1

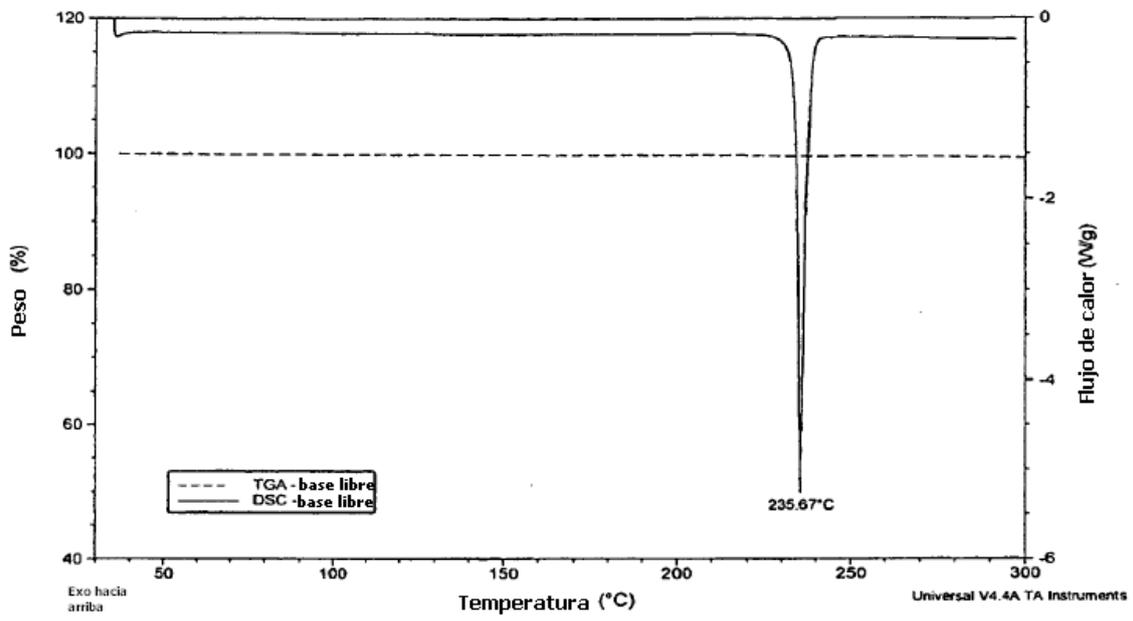


Figura 2

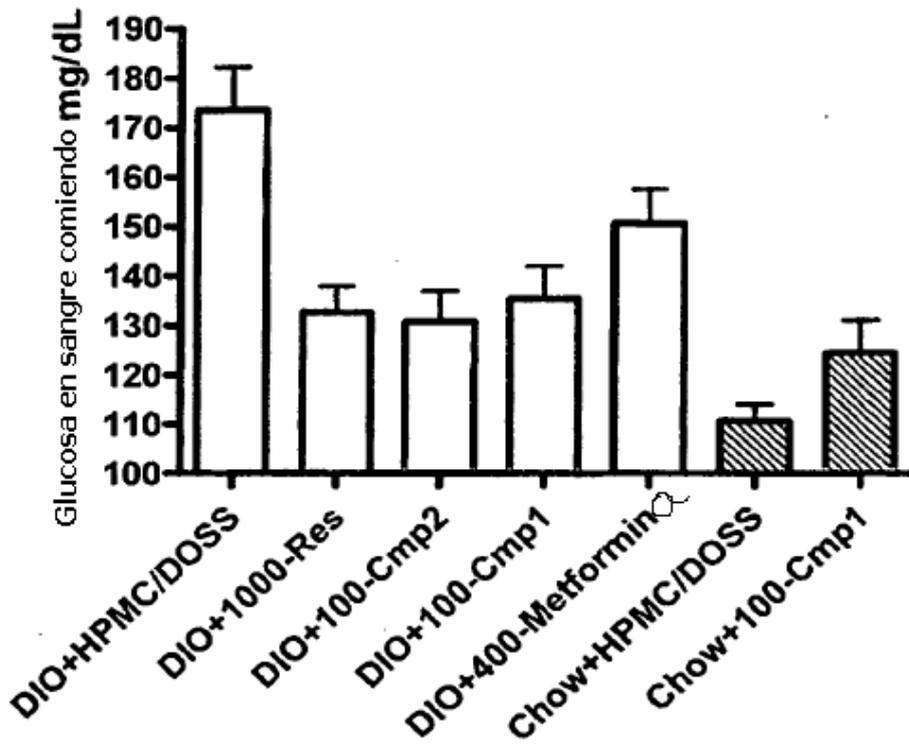


Figura 3

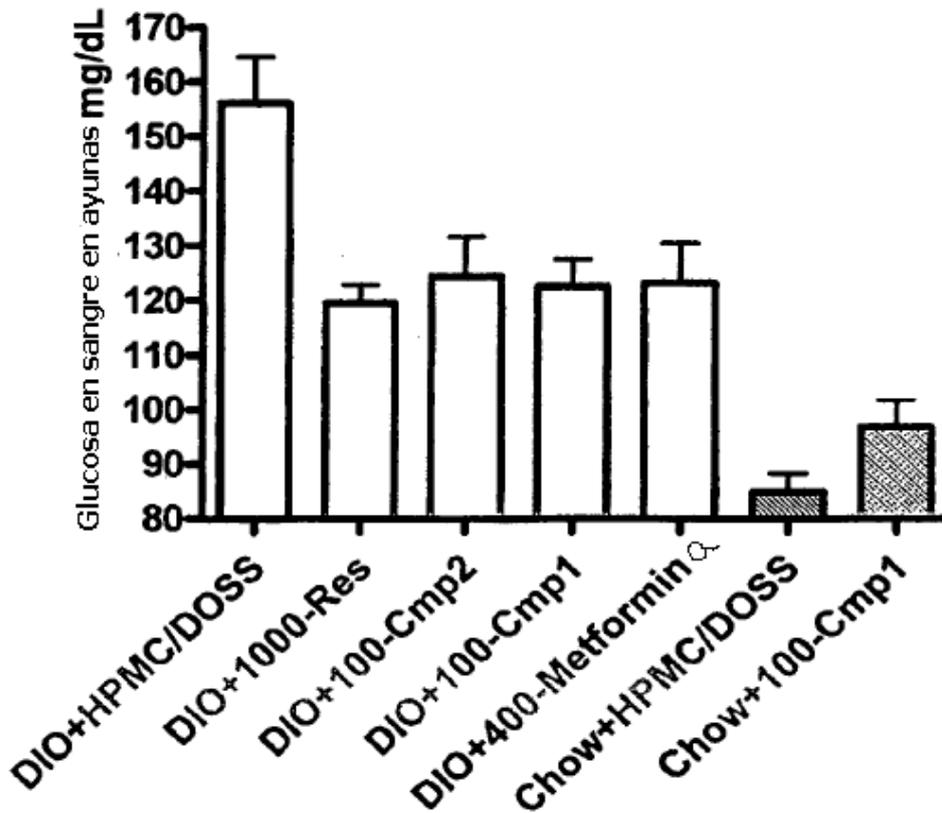


Figura 4

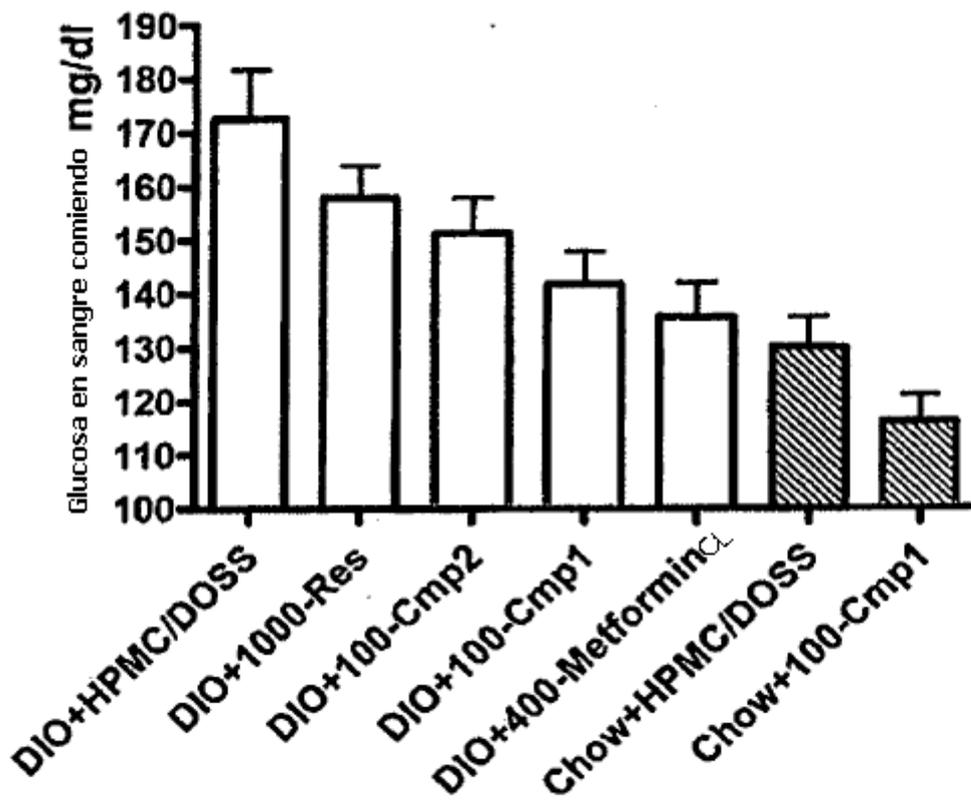


Figura 5

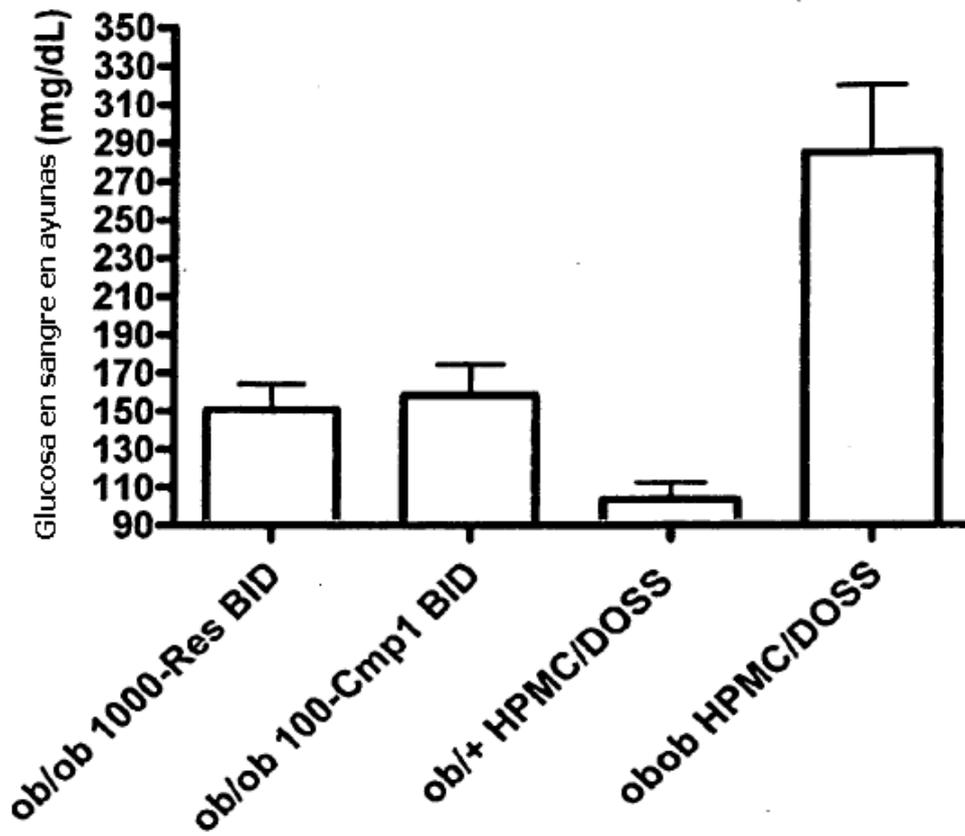


Figura 7

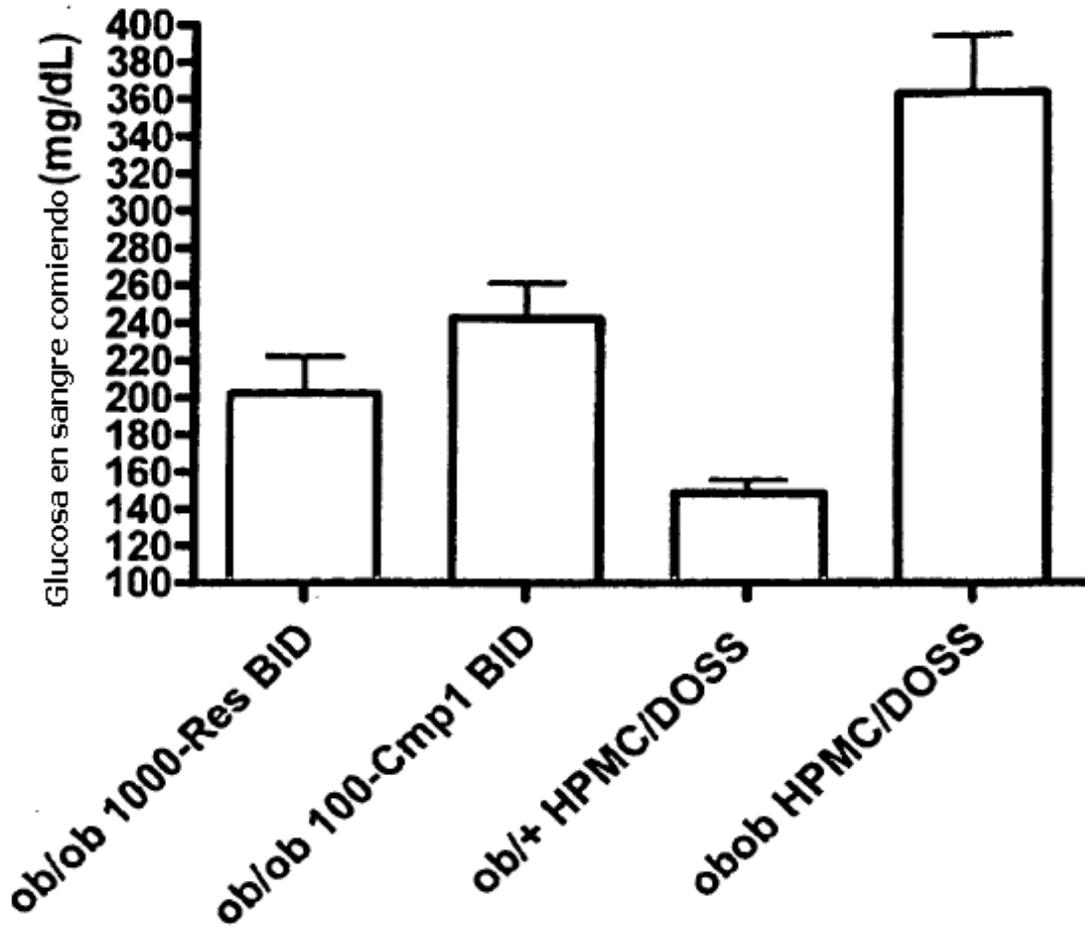


Figura 8

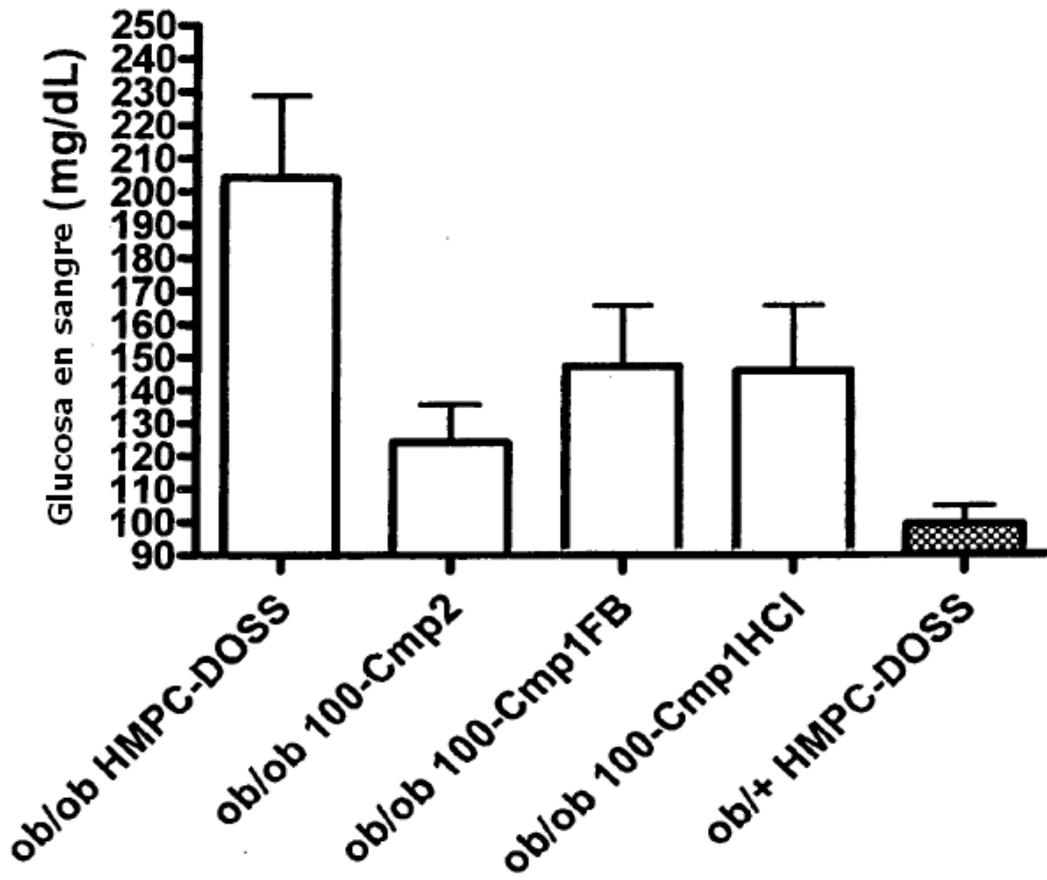


Figura 9

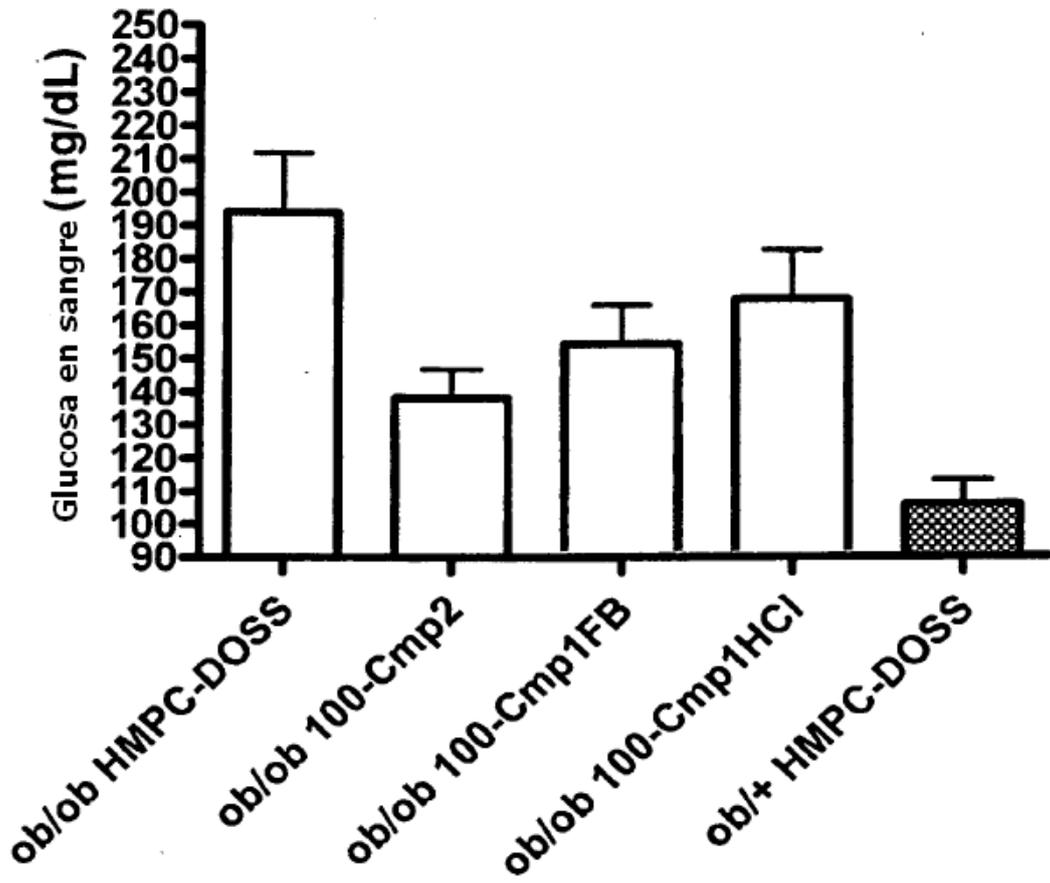


Figura 10