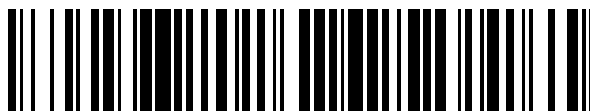


19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 576 484**

51 Int. Cl.:

**C07D 487/04** (2006.01)

**A61K 31/5025** (2006.01)

**A61P 3/00** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **19.10.2012 E 12842012 (2)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **27.04.2016 EP 2768834**

54 Título: **Aza-heterociclos bicíclicos sustituidos y análogos como moduladores de sirtuina**

30 Prioridad:

**20.10.2011 US 201161549736 P**

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

**07.07.2016**

73 Titular/es:

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

72 Inventor/es:

**BLUM, CHARLES, A.;  
SPRINGER, STEPHANIE, K. y  
VU, CHI, B.**

74 Agente/Representante:

**DE ELZABURU MÁRQUEZ, Alberto**

**ES 2 576 484 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

Aza-heterociclos bicíclicos sustituidos y análogos como moduladores de sirtuina

**Antecedentes**

5 La familia de genes Reguladores de Información Silenciosos (SIR) representa un grupo de genes altamente conservados presentes en los genomas de organismos que oscilan entre arqueobacterias a eucariotas. Las proteínas SIR codificadas están implicadas en diversos procesos que van desde regulación de silenciamiento de genes hasta reparación de ADN. Un gen bien caracterizado en esta familia es *S. cerevisiae* SIR2, que está implicado en la silenciación de los locus HM que contienen información que especifica el tipo sexual de la levadura, los efectos de la posición del telómero y el envejecimiento celular. La proteína Sir2 de la levadura pertenece a una familia de

10 histona desacetilasas. Las proteínas codificadas por miembros de la familia de genes SIR exhiben alta conservación de secuencias en un dominio central de 250 aminoácidos. El homólogo de Sir2, CobB, en *Salmonella typhimurium*, funciona como ADP-ribosil transferasa dependiente de NAD (dinucleótido de nicotinamida adenina).

15 La proteína Sir2 es una desacetilasa de clase III que usa NAD como un cosustrato. A diferencia de otras desacetilasas, muchas de las cuales están implicadas en la silenciación de genes, Sir2 es insensible a los inhibidores de histona desacetilasa de clases I y II como tricostatina A (TSA).

La desacetilación de acetil-lisina por Sir2 está firmemente acoplada a la hidrólisis de NAD, produciendo nicotinamida y un nuevo compuesto de acetil-ADP ribosa. La actividad de la desacetilasa dependiente de NAD de Sir2 es esencial para sus funciones, que pueden conectar su papel biológico con el metabolismo celular en levadura. Los homólogos de Sir2 de mamífero tienen actividad histona desacetilasa dependiente de NAD.

20 Los estudios bioquímicos han mostrado que Sir2 puede desacetilar fácilmente los extremos amino terminales de las histonas H3 y H4, dando como resultado la formación de 2'/3'-O-acetil-ADP-ribosa (OAADPR) y nicotinamida. Las cepas con copias adicionales de SIR2 presentan mayor silenciación de ADN<sub>r</sub> y una vida un 30% más larga. Se ha mostrado además que las copias adicionales del homólogo de SIR2 de *C. elegans*, sir-2.1 y el gen *D. melanogaster* dSir2 extienden 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, se cree que los genes Sir2 han evolucionado para mejorar la salud y la resistencia al estrés de un organismo para aumentar sus oportunidades de sobrevivir a la adversidad.

25

30 En seres humanos, hay siete genes tipo Sir2 (SIRT1-SIRT7) que comparten el dominio catalítico conservado de Sir2. SIRT1 es una proteína nuclear con el mayor grado de similitud de secuencia con Sir2. SIRT1 regula múltiples blancos celulares mediante desacetilación que incluyen el supresor tumoral p53, el factor de señalización celular NF- $\kappa$ B, y el factor de transcripción FOXO.

35 SIRT3 es un homólogo de SIRT1 que se conserva en procariotas y eucariotas. La proteína SIRT3 se dirige a las crestas mitocondriales mediante un dominio único situado en el N terminal. SIRT3 posee actividad proteína desacetilasa dependiente de NAD<sup>+</sup> y se expresa de manera ubicua, particularmente en los tejidos metabólicamente activos. Tras la transferencia a la mitocondria, se cree que SIRT3 se escinde en una forma activa más pequeña mediante una peptidasa de procesamiento de matriz mitocondrial. (MPP).

40 Se ha sabido durante más de 70 años que la restricción calórica mejora la salud y amplía la vida de los mamíferos. La vida de la levadura, como la de los metazoarios, se amplía 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 proporciona la evidencia de que los genes SIR2 median los efectos de salud beneficiosos de una dieta de calorías restringidas. Asimismo, las mutaciones que reducen la actividad de la ruta (PKA) dependiente de AMPc (AMPc 3',5'-monofosfato) sensible a glucosa de levadura amplían la vida en células de tipo salvaje aunque no en cepas sir2 mutantes, demostrando que SIR2 probablemente va a ser un componente clave corriente abajo de la ruta de restricción calórica.

**45 Compendio**

Se proporcionan en esta memoria nuevos compuestos moduladores de sirtuina.

En un aspecto, la invención proporciona compuestos moduladores de sirtuina de Fórmula Estructural (I) como se describen en las reivindicaciones.

50 En otro aspecto, la invención proporciona 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 diversidad 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

55

5 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 con el aumento de la actividad mitocondrial, para mejorar el rendimiento muscular, para incrementar los niveles de ATP en los músculos o para tratar o prevenir el daño a los tejidos musculares 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.

10 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.

### Descripción detallada

#### 1. Definiciones

15 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 técnicos y científicos usados en esta memoria tienen el mismo significado que se entiende comúnmente por un experto en la materia.

20 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 porción 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).

El término "biodisponible", cuando se refiere a un compuesto, se reconoce en la técnica y se refiere a una forma de un compuesto que permite al total o a una porción de la cantidad del compuesto administrado absorberse por, incorporarse a o estar fisiológicamente disponible de otra forma para un sujeto o paciente al que se administra.

25 "Porción de una sirtuina biológicamente activa" se refiere a una porción de una proteína sirtuina que tiene una actividad biológica, tal como la capacidad de desacetilar ("catalíticamente activa"). Las porciones catalíticamente activas de una sirtuina pueden comprender el dominio central de sirtuinas. Las porciones catalíticamente activas de SIRT1 que tienen núm. de acceso en GenBank NP\_036370 que abarcan el dominio de unión NAD<sup>+</sup> y el dominio de unión al sustrato, por ejemplo, pueden incluir sin limitación, los aminoácidos 240-664 o 240-505 de núm. de acceso en GenBank NP\_036370, que están codificados por el polinucleótido de núm. de acceso en GenBank NM\_012238. Por lo tanto, esta región algunas veces se denomina como dominio central. Otras porciones catalíticamente activas de SIRT1, también algunas veces denominadas como dominios centrales, incluyen aproximadamente los aminoácidos 261 a 447 de núm. de acceso en GenBank NP\_036370, que están codificados por los nucleótidos 834 a 1394 con núm. de acceso en GenBank NM\_012238; aproximadamente los aminoácidos 242 a 493 con núm. de acceso en GenBank NP\_036370, que están codificados por los nucleótidos 777 a 1532 con núm. de acceso en GenBank NM\_012238; o aproximadamente los aminoácidos 254 a 495 con núm. de acceso en GenBank NP\_036370, que están codificados por los nucleótidos 813 a 1538 con núm. de acceso en GenBank NM\_012238. Otra porción "biológicamente activa" de SIRT1 es los aminoácidos 62-293 o 183-225 de núm. de acceso en GenBank NP\_036370, que comprende un dominio N-terminal al dominio central que es importante para el sitio de unión al compuesto.

40 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*.

45 "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.

55 El término "DE<sub>50</sub>" se refiere a la medida reconocida en la técnica de dosis efectiva. En ciertas realizaciones, DE<sub>50</sub> indica la dosis de un fármaco que produce 50% de su respuesta o efecto máximo, o alternativamente, la dosis que produce una respuesta predeterminada en el 50% de los sujetos o preparados, tales como tejido o células aisladas. El término "DL<sub>50</sub>" se refiere a la medida reconocida en la técnica de dosis letal. En ciertas realizaciones, DL<sub>50</sub> 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 DL<sub>50</sub>/DE<sub>50</sub>.

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

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

Un "trastorno de resistencia a la insulina," como se trata en esta memoria, se refiere a cualquier enfermedad o afección que está provocada 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 arterial, hipertensión, colesterol alto en sangre, dislipidemia, hiperlipidemia, 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 cardíaca 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, pobre salud reproductiva femenina (tal como irregularidades menstruales, esterilidad, ovulación irregular, síndrome del ovario poliquístico (SOP)), lipodistrofia, trastornos relacionados con el colesterol, tal como cálculos biliares, colecistitis y coledocistitis, gota, apnea del sueño obstructiva y problemas respiratorios, artrosis y pérdida ósea, por ejemplo, osteoporosis en particular.

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.

El término "mamífero" se conoce en la técnica, y mamíferos ilustrativos incluyen seres humanos, primates, ganado (incluyendo 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.

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 incluyen 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.

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, diluyente, excipiente, disolvente o material de encapsulado, líquido o sólido, implicado en llevar o transportar cualquier composición o componente del mismo. Cada vehículo debe ser "aceptable" en el sentido de ser compatible con la composición 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 ceras de supositorio; (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 de tamponado, tales como hidróxido de magnesio e hidróxido de aluminio; (15) ácido algínico; (16) agua libre de pirógenos; (17) solución 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 "que previene" se reconoce en la técnica, y cuando se usa en relación a un proceso, tal como una recurrencia local (por ejemplo, dolor), una enfermedad tal como cáncer, un síndrome complejo tal como fallo cardíaco o cualquier otra enfermedad, se entiende bien en la técnica, e incluye la administración de una composición que reduce la frecuencia de, o retrasa el comienzo de, los síntomas de una enfermedad en un sujeto respecto a un sujeto que no recibe la composición. Así, la prevención del cáncer incluye, por ejemplo, reducir el número de crecimientos cancerosos detectables en una población de pacientes que reciben un tratamiento profiláctico respecto a una población de control no tratada, y/o retrasar la aparición de crecimientos cancerosos detectables en una población tratada frente a una población de control no tratada, por ejemplo, mediante una cantidad estadísticamente

y/o clínicamente significativa. La prevención de una infección incluye, por ejemplo, reducir el número de diagnósticos de la infección en una población tratada frente a una población de control no tratada, y/o retrasar el comienzo de los síntomas de la infección en una población tratada frente a una población de control no tratada. La prevención del dolor incluye, por ejemplo, reducir la magnitud de, o alternativamente retrasar, las sensaciones de dolor experimentadas por los sujetos en una población tratada frente a una población de control no tratada.

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 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 llevaría a un efecto adverso (por ejemplo, irritación, fiebre, inflamación, diarrea, insuficiencia respiratoria, choque endotóxico, etc.) en un sujeto al que se ha administrado la composición. Por ejemplo, el término pretende abarcar composiciones que están libres, o sustancialmente 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 para sobrevivir y existir en estado vivo durante más tiempo bajo una condición particular, por ejemplo, estrés (por ejemplo, choque térmico, estrés osmótico, alta radiación de 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 10%, 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 modulador 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 modulador 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.

"Proteína sirtuina" se refiere a un miembro de la familia de proteínas sirtuina desacetilasa, o preferiblemente a la familia sir2, que incluyen las proteínas Sir2 de levadura (Núm. de acceso en GenBank P53685), Sir-2.1 de *C. elegans* (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 que comparten más similitudes con SIRT1, es decir, hSIRT1, y/o Sir2 que con SIRT2, tal como los miembros que tienen por lo menos parte de la secuencia N-terminal presente en SIRT1 y ausente en SIRT2, tal como tiene SIRT3.

"Proteína SIRT1" se refiere a un miembro de la familia sir2 de sirtuina desacetilasas. En ciertas realizaciones, una proteína SIRT1 incluye Sir2 de levadura (núm. de acceso en GenBank P53685), Sir2.1 de *C. elegans* (núm. de acceso en GenBank NP\_501912), SIRT1 humana (núm. de acceso en GenBank NM\_012238 o NP\_036370 (o AF083106)), y equivalentes y fragmentos de los mismos. En otra realización, una proteína SIRT1 incluye un polipéptido que comprende una secuencia que consiste en, o que consiste esencialmente en, la secuencia de aminoácidos expuesta en los núms. de acceso en GenBank NP\_036370, NP\_501912, NP\_085096, NP\_036369 o P53685. Las proteínas SIRT1 incluyen polipéptidos que comprenden toda o una parte de la secuencia de aminoácidos expuesta en los núms. de acceso en GenBank NP\_036370, NP\_501912, NP\_085096, NP\_036369 o P53685; la secuencia de aminoácidos expuesta en los núms. de acceso en GenBank NP\_036370, NP\_501912, 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 núms. 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, NP\_085096, NP\_036369 o P53685.

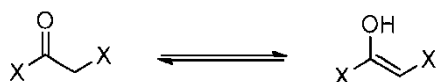
Como se usa en esta memoria "proteína SIRT2", "proteína SIRT3", "proteína SIRT4", "proteína SIRT5", "proteína SIRT6" y "proteína SIRT7" se refiere a otros mamíferos, por ejemplo, proteínas de sirtuina desacetilasa humanas

que son homólogas a la proteína SIRT1, particularmente en el dominio catalítico conservado de aproximadamente 275 aminoácidos. Por ejemplo, "proteína SIRT3" se refiere a un miembro de la familia de proteína sirtuina desacetilasa que es homólogo a la proteína SIRT1. En ciertas realizaciones, 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 comprende una secuencia que consiste en, o que consiste esencialmente en, la secuencia de aminoácidos expuesta en los accesos 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 accesos 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 aproximadamente 2, 3, 5, 7, 10, 15, 20, 30, 50, 75 o más sustituciones de aminoácidos más 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 ciertas realizaciones, una proteína SIRT3 incluye un fragmento de la proteína SIRT3 que se produce por escisión con una peptidasa de procesamiento de matriz mitocondrial (PPMM) y/o una peptidasa intermedia mitocondrial (PIM).

El término "estereoisómero" como se usa en esta memoria se reconoce en la técnica y se refiere a cualquiera de dos o más isómeros que tienen la misma constitución molecular y difieren solo en la disposición tridimensional de sus agrupaciones atómicas en el espacio. Cuando se usa en esta memoria para describir unos compuestos o géneros de compuestos, el estereoisómero incluye cualquier parte del compuesto o el compuesto en su totalidad. Por ejemplo, los diastereómeros y enantiómeros son estereoisómeros.

Los términos "administración sistémica" y "administrados sistémicamente", se reconocen en la técnica y se refieren a la administración de una composición, material terapéutico u otro material de forma enteral o parenteral.

El término "tautómero" como se usa en esta memoria se reconoce en la técnica y se refiere a cualquiera de las estructuras alternativas posibles que pueden existir como un resultado de tautomerismo, que se refiere a una forma de isomerismo constitucional en que una estructura puede existir en dos o más disposiciones constitucionales, particularmente con respecto a la posición de hidrógenos unidos a oxígeno. Cuando se usa en esta memoria para describir un compuesto o género de compuestos, se entiende adicionalmente que un "tautómero" es fácilmente interconvertible y existe en equilibrio. Por ejemplo, los tautómeros ceto y enol existen en proporciones determinadas mediante la posición de equilibrio para cualquier condición dada o conjunto de condiciones:



El término "agente terapéutico" se conoce en la técnica y se refiere a cualquier 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 mejora del desarrollo físico o mental deseable y/o de procesos en un animal o ser humano.

El término "efecto terapéutico" se reconoce en la técnica y se refiere a un efecto local o sistémico beneficioso 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 dicha sustancia 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 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 puede determinarse fácilmente por el experto en la técnica. 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.

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

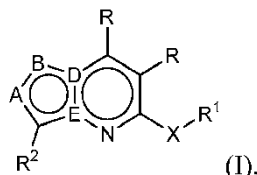
El término "deterioro de la visión" se refiere a disminución de la visión, que con frecuencia es reversible solo parcialmente o es irreversible tras el tratamiento (por ejemplo, cirugía). El deterioro de la visión particularmente severo se denomina "ceguera" o "pérdida de visión", que se refiere a una 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).

## 2. Compuestos

En un aspecto, la invención proporciona nuevos compuestos para tratar y/o prevenir una amplia variedad de enfermedades y trastornos, que incluyen, por ejemplo, enfermedades o trastornos relacionados con el

- 5 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, tales como 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 o isquemia. Los compuestos descritos en esta memoria pueden ser adecuados para usar en composiciones farmacéuticas y/o uno o más métodos descritos en esta memoria.

Se describen compuestos representados por la Fórmula Estructural (I):



- 10 en donde uno de D y E es N y el otro es C; y  
 cuando D es N, uno de A y B es N y el otro es CR; y  
 cuando E es N, B es N y A es N o CR;  
 o una sal de los mismos, en donde:
- 15 cada R se selecciona independientemente de hidrógeno, halo, OH, C≡N, alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>, alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> halo-sustituido, alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> alcoxi C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> sustituido, alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub> hidroxil sustituido, -O-R<sup>3</sup>, -O-(alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)-OR<sup>3</sup>, -S-(alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>), -S-(alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> halo-sustituido), N(alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> hidroxil sustituido)<sub>2</sub>, N(alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> metoxi-sustituido)<sub>2</sub>, N(alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)(alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> hidroxil sustituido), N(alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)(alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> metoxi sustituido), cicloalquilo C<sub>3</sub>-C<sub>7</sub>, y heterociclo no aromático de 4 a 8 miembros;
- 20 R<sup>1</sup> es un heterociclo aromático monocíclico, en donde R<sup>1</sup> está opcionalmente sustituido con uno o más sustituyentes seleccionados independientemente de halo, C≡N, alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>, alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> halo-sustituido, alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> alcoxi C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> sustituido, alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub> hidroxil sustituido, O-R<sup>3</sup>, O-(alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)-OR<sup>3</sup>, =O, cicloalquilo C<sub>3</sub>-C<sub>7</sub>, SO<sub>2</sub>R<sup>3</sup>, S-R<sup>3</sup>, (alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)-N(R<sup>3</sup>)(R<sup>3</sup>), N(R<sup>3</sup>)(R<sup>3</sup>), O-(alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)-N(R<sup>3</sup>)(R<sup>3</sup>), O-(alquilo C<sub>0</sub>-C<sub>4</sub>)-CR<sup>3</sup>R<sup>3</sup>-(alquilo C<sub>0</sub>-C<sub>4</sub>), (alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)-O-(alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)-N(R<sup>3</sup>)(R<sup>3</sup>), C(=O)-N(R<sup>3</sup>)(R<sup>3</sup>), (alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)-C(=O)-N(R<sup>3</sup>)(R<sup>3</sup>), O-(alquilo C<sub>0</sub>-C<sub>4</sub>)-CR<sup>x</sup>R<sup>x</sup>-(alquilo C<sub>0</sub>-C<sub>4</sub>), CR<sup>x</sup>R<sup>x</sup>, fenilo, O-fenilo, segundo heterociclo, O-(segundo heterociclo), 3,4-metilendioxi, 3,4-metilendioxi halo-sustituido, 3,4-etilendioxi y 3,4-etilendioxi halo-sustituido, en donde cualquier sustituyente fenilo, heterociclo saturado o segundo heterociclo de R<sup>1</sup> está opcionalmente sustituido con uno o más sustituyentes independientemente seleccionados de halo, C≡N, alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>, alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> halo-sustituido, O-(alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> halo-sustituido), O-(alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>), S-(alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>), S-(alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> halo-sustituido), y N(R<sup>3</sup>)(R<sup>3</sup>), y cuando E es N o D y A son ambos N, entonces R<sup>1</sup> puede ser adicionalmente un heterociclo aromático bicíclico;
- 25 R<sup>2</sup> es un heterociclo o un carbociclo aromático, en donde R<sup>2</sup> está opcionalmente sustituido con uno o más sustituyentes seleccionados independientemente de flúor, bromo, C≡N, alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>, alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> halo-sustituido, alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> alcoxi C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> sustituido, alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub> hidroxil sustituido, O-R<sup>3</sup>, O-(alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)-OR<sup>3</sup>, =O, cicloalquilo C<sub>3</sub>-C<sub>7</sub>, -SO<sub>2</sub>R<sup>3</sup>, S-R<sup>3</sup>, -(alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)-N(R<sup>3</sup>)(R<sup>3</sup>), -N(R<sup>3</sup>)(R<sup>3</sup>), O-(alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)-N(R<sup>3</sup>)(R<sup>3</sup>), O-(alquilo C<sub>0</sub>-C<sub>4</sub>)-CR<sup>3</sup>R<sup>3</sup>-(alquilo C<sub>0</sub>-C<sub>4</sub>), (alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)-O-(alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)-N(R<sup>3</sup>)(R<sup>3</sup>), C(=O)-N(R<sup>3</sup>)(R<sup>3</sup>), (alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)-C(=O)-N(R<sup>3</sup>)(R<sup>3</sup>), fenilo, O-fenilo, segundo heterociclo, O-(segundo heterociclo), 3,4-metilendioxi, 3,4-metilendioxi halo-sustituido, 3,4-etilendioxi o 3,4-etilendioxi halo-sustituido, en donde cualquier sustituyente fenilo, heterociclo saturado o segundo heterociclo de R<sup>2</sup> está opcionalmente sustituido con uno o más sustituyentes seleccionados independientemente de halo, C≡N, alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>, alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> halo-sustituido, O-(alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> halo-sustituido), O-(alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>), S-(alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>), S-(alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> halo-sustituido), y NR<sup>3</sup>R<sup>3</sup>, y cuando D es N, entonces R<sup>2</sup> puede ser adicionalmente un carbociclo no aromático opcionalmente sustituido y cuando E es N o tanto D como A son N, entonces los sustituyentes R<sup>2</sup> pueden seleccionarse adicionalmente de cloro;
- 30 cada R<sup>3</sup> se selecciona independientemente de hidrógeno y alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> opcionalmente sustituido con uno o más de OH, O-(alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>), halo, NH<sub>2</sub>, NH(alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>), N(alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)<sub>2</sub>, NH(alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> metoxi-sustituido), NH(alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> hidroxil sustituido), N(alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> metoxi-sustituido) (alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> hidroxil sustituido), N(alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> hidroxil sustituido)<sub>2</sub> o N(alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> metoxi-sustituido)<sub>2</sub>; o
- 35 dos R<sup>3</sup> se toman junto con el átomo de nitrógeno o carbono al que están unidos para formar un heterociclo saturado de 4 a 8 miembros que comprende opcionalmente un heteroátomo adicional seleccionado independientemente de N, S, S(=O), S(=O)<sub>2</sub>, y O, en donde el heterociclo formado por dos R<sup>3</sup> está opcionalmente sustituido en cualquier átomo de carbono con uno o más de -OH, -alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>, alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> halo-sustituido, halo, -NH<sub>2</sub>, -NH(alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>), -N(alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)<sub>2</sub>, -O(alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>), -NH(alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> hidroxil sustituido), -N(alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> hidroxil sustituido)<sub>2</sub>, -
- 50

N(alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> metoxi-sustituido) (alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> hidroxio-sustituido), -NH(alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> metoxi-sustituido) o -N(alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> metoxi-sustituido)<sub>2</sub>, y opcionalmente sustituido por cualquier átomo de nitrógeno sustituible con alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> o alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> halo-sustituido;

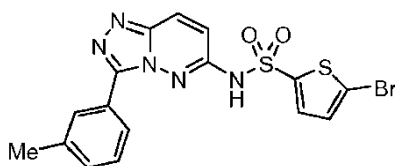
5 dos R<sup>x</sup> tomados junto con el átomo de carbono al que están unidos forman un carbociclo o heterociclo de 4 a 8 miembros que comprende opcionalmente uno o dos heteroátomos independientemente seleccionados de N, S, S(=O), S(=O)<sub>2</sub>, y O, en donde el carbociclo o heterociclo está opcionalmente sustituido en cualquier átomo de carbono con uno o más de OH, alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>, alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> halo-sustituido, halo, NH<sub>2</sub>, y N(R<sup>3</sup>)(R<sup>3</sup>), y opcionalmente sustituido en cualquier átomo de nitrógeno sustituible con alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> o alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> halo-sustituido; y cuando tanto D como B son N o E es N, entonces X se selecciona de C(=O)-NH-†, NH-C(=O)-†, C(=O)-NH-CR<sup>4</sup>R<sup>5</sup>-†, S(=O)-NH-†, S(=O)<sub>2</sub>-NH-†, NH-C(=S)-†, C(=S)-NH-†, NH-S(=O)-†, NH-S(=O)<sub>2</sub>-†, NH-S(=O)<sub>2</sub>-NR<sup>4</sup>-†, NR<sup>4</sup>-S(=O)<sub>2</sub>-NH-†, NH-C(=O)-O-†, O-C(=O)-NH-†, NH-C(=O)NH-†, NH-C(=O)NR<sup>4</sup>-†, NR<sup>4</sup>-C(=O)NH-†, CR<sup>4</sup>R<sup>5</sup>-NH-C(=O)-†, NH-C(=S)-CR<sup>4</sup>R<sup>5</sup>-†, CR<sup>4</sup>R<sup>5</sup>-C(=S)-NH-†, NH-S(=O)-CR<sup>4</sup>R<sup>5</sup>-†, CR<sup>4</sup>R<sup>5</sup>-S(=O)-NH-†, NH-S(=O)<sub>2</sub>-CR<sup>4</sup>R<sup>5</sup>-†, CR<sup>4</sup>R<sup>5</sup>-S(=O)<sub>2</sub>-NH-†, CR<sup>4</sup>R<sup>5</sup>-O-C(=O)-NH-†, NH-C(=O)-CR<sup>4</sup>R<sup>5</sup>-†, NH-C(=O)-CR<sup>4</sup>R<sup>5</sup>-NH-† y CR<sup>4</sup>R<sup>5</sup>-NH-C(=O)-O-†; y

15 cuando tanto A como D son N, entonces X se selecciona de C(=O)-NH-†, NH-C(=O)-†, NH-CR<sup>4</sup>R<sup>5</sup>-†, C(=O)-NH-CR<sup>4</sup>R<sup>5</sup>-†, S(=O)-NH-†, S(=O)<sub>2</sub>-NH-†, CR<sup>4</sup>R<sup>5</sup>-NH-†, NH-C(=O)-O-CR<sup>4</sup>R<sup>5</sup>-†, NH-†, NH-C(=S)-†, C(=S)-NH-†, NH-S(=O)-†, NH-S(=O)<sub>2</sub>-†, NH-S(=O)<sub>2</sub>-NR<sup>4</sup>-†, NR<sup>4</sup>-S(=O)<sub>2</sub>-NH-†, NH-C(=O)O-†, -O-C(=O)-NH-†, NH-C(=O)NH-†, NH-C(=O)NR<sup>4</sup>-†, NR<sup>4</sup>-C(=O)NH-†, CR<sup>4</sup>R<sup>5</sup>-NH-C(=O)-†, NH-C(=S)-CR<sup>4</sup>R<sup>5</sup>-†, CR<sup>4</sup>R<sup>5</sup>-C(=S)-NH-†, NH-S(=O)-CR<sup>4</sup>R<sup>5</sup>-†, CR<sup>4</sup>R<sup>5</sup>-S(=O)-NH-†, NH-S(=O)<sub>2</sub>-CR<sup>4</sup>R<sup>5</sup>-†, CR<sup>4</sup>R<sup>5</sup>-S(=O)<sub>2</sub>-NH-†, CR<sup>4</sup>R<sup>5</sup>-O-C(=O)-NH-†, NH-C(=O)-CR<sup>4</sup>R<sup>5</sup>-†, NH-C(=O)-CR<sup>4</sup>R<sup>5</sup>-NH-† y CR<sup>4</sup>R<sup>5</sup>-NH-C(=O)-O-†, en donde:

20 C(=O)-O-CR<sup>4</sup>R<sup>5</sup>-†, NH-†, NH-C(=S)-†, C(=S)-NH-†, NH-S(=O)-†, NH-S(=O)<sub>2</sub>-†, NH-S(=O)<sub>2</sub>-NR<sup>4</sup>-†, NR<sup>4</sup>-S(=O)<sub>2</sub>-NH-†, NH-C(=O)O-†, O-C(=O)-NH-†, NH-C(=O)NH-†, NH-C(=O)NR<sup>4</sup>-†, NR<sup>4</sup>-C(=O)NH-†, CR<sup>4</sup>R<sup>5</sup>-NH-C(=O)-†, NH-C(=S)-CR<sup>4</sup>R<sup>5</sup>-†, CR<sup>4</sup>R<sup>5</sup>-C(=S)-NH-†, NH-S(=O)-CR<sup>4</sup>R<sup>5</sup>-†, CR<sup>4</sup>R<sup>5</sup>-S(=O)-NH-†, NH-S(=O)<sub>2</sub>-CR<sup>4</sup>R<sup>5</sup>-†, CR<sup>4</sup>R<sup>5</sup>-S(=O)<sub>2</sub>-NH-†, CR<sup>4</sup>R<sup>5</sup>-O-C(=O)-NH-†, NH-C(=O)-CR<sup>4</sup>R<sup>5</sup>-†, NH-C(=O)-CR<sup>4</sup>R<sup>5</sup>-NH-† y CR<sup>4</sup>R<sup>5</sup>-NH-C(=O)-O-†, en donde:

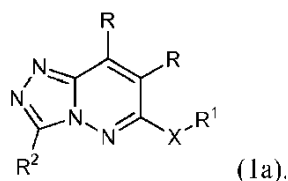
† representa donde X está unido a R<sup>1</sup>; y

25 cada R<sup>4</sup> y R<sup>5</sup> es independientemente hidrógeno, alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>, CF<sub>3</sub> o (alquil C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>)-CF<sub>3</sub>, con la condición de que el compuesto no sea:

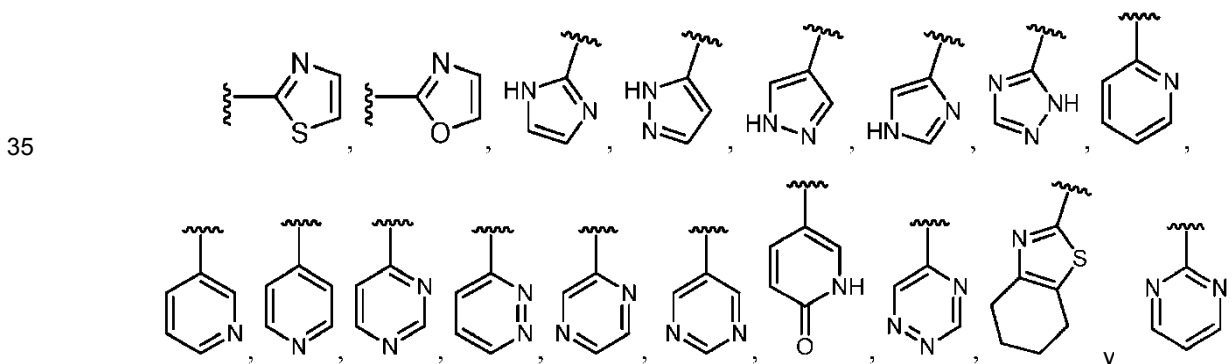


Los compuestos según la invención son los compuestos de fórmula (I) como se define en la reivindicación 1.

30 En realizaciones particulares, E, B y A son N. En dichas realizaciones, el compuesto de Fórmula Estructural (I) se representa por la Fórmula Estructural (Ia):

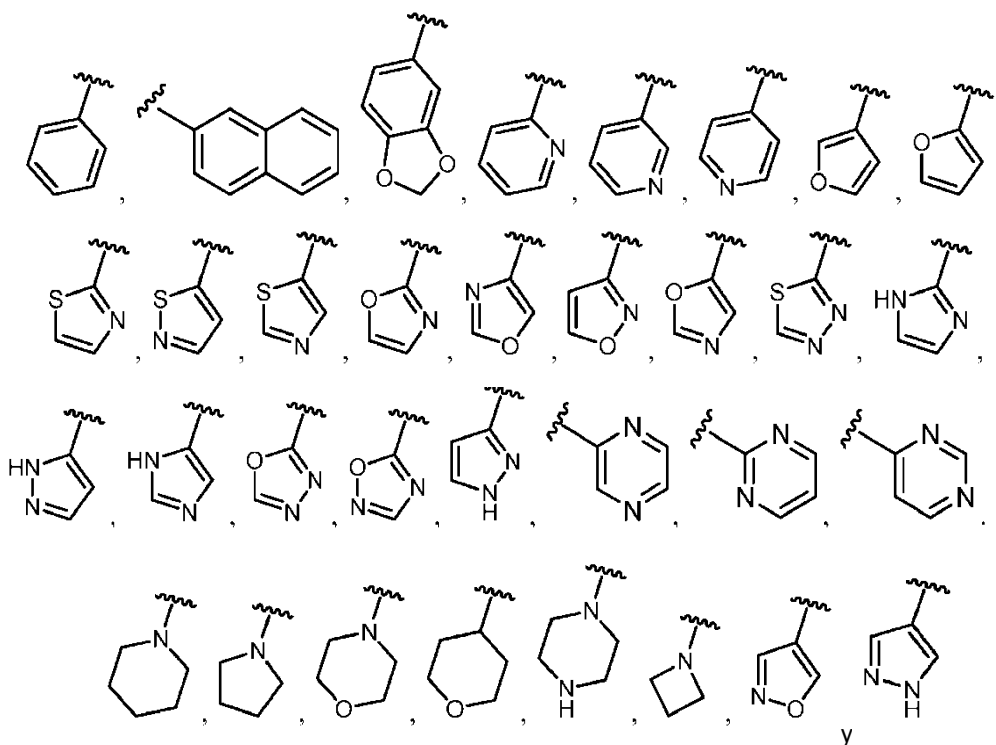


Cuando E, B y A son N, R<sup>1</sup> puede seleccionarse de heterociclo aromático opcionalmente sustituido, que incluye un heterociclo aromático monocíclico o bicíclico. En realizaciones preferidas, R<sup>1</sup> se selecciona del opcionalmente sustituido:





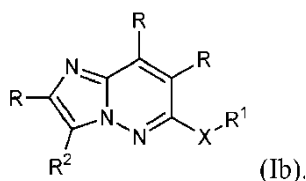
Quando E, B y A son N, R<sup>2</sup> puede seleccionarse de heterociclo o un carbociclo aromático. En realizaciones preferidas, cuando E, B y A son N, R<sup>2</sup> se selecciona de heterociclo no aromático, tal como un heterociclo unido al resto de la molécula a través de un nitrógeno de R<sup>2</sup>. En realizaciones preferidas, R<sup>2</sup> se selecciona de:



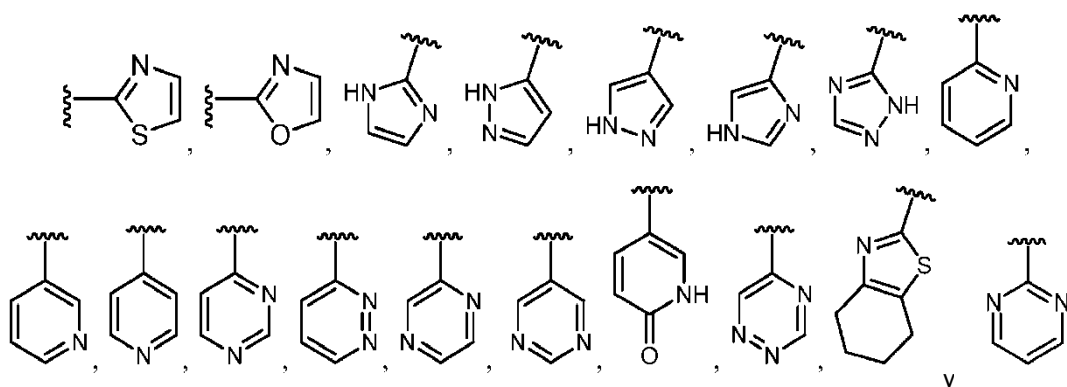
opcionalmente sustituido por uno o más sustituyentes seleccionados independientemente de flúor, bromo, cloro, C≡N, alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>, alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> halo-sustituido, alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> alcoxi C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> sustituido, alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub> hidroxi-sustituido, O-R<sup>3</sup>, O-(alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)-OR<sup>3</sup>, =O, cicloalquilo C<sub>3</sub>-C<sub>7</sub>, SO<sub>2</sub>R<sup>3</sup>, S-R<sup>3</sup>, -(alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)-N(R<sup>3</sup>)(R<sup>3</sup>), N(R<sup>3</sup>)(R<sup>3</sup>), O-(alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)-N(R<sup>3</sup>)(R<sup>3</sup>), O-(alquilo C<sub>0</sub>-C<sub>4</sub>)-CR<sup>3</sup>R<sup>3</sup>-(alquilo C<sub>0</sub>-C<sub>4</sub>), (alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)-O-(alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)-N(R<sup>3</sup>)(R<sup>3</sup>), C(=O)-N(R<sup>3</sup>)(R<sup>3</sup>), (alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)-C(=O)-N(R<sup>3</sup>)(R<sup>3</sup>), fenilo, O-fenilo, segundo heterociclo, O-(segundo heterociclo), 3,4-metilenodioxo, 3,4-metilenodioxo halo-sustituido, 3,4-etilendioxo o 3,4-etilendioxo halo-sustituido, en donde cualquier sustituyente fenilo, heterociclo saturado o segundo heterociclo de R<sup>2</sup> está opcionalmente sustituido con uno o más sustituyentes seleccionados independientemente de halo, C≡N, alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>, alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> halo-sustituido, O-(alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> halo-sustituido), O-(alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>), S-(alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>), S-(alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> halo sustituido) y NR<sup>3</sup>R<sup>3</sup>. Cuando E, B y A son N, R<sup>2</sup> puede estar opcionalmente sustituido con uno o más sustituyentes independientemente seleccionados de bromo, flúor, cloro, alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>, O-R<sup>3</sup> y N(R<sup>3</sup>)(R<sup>3</sup>).

Se describen compuestos, en donde E, B y A son N y X se selecciona de C(=O)-NH-†, NH-C(=O)-†, C(=O)-NH-CR<sup>4</sup>R<sup>5</sup>-†, S(=O)-NH-†, S(=O)<sub>2</sub>-NH-†, NH-C(=S)-†, C(=S)-NH-†, NH-S(=O)-†, NH-S(=O)<sub>2</sub>-NR<sup>4</sup>-†, NR<sup>4</sup>-S(=O)<sub>2</sub>-NH-†, NH-C(=O)O-†, O-C(=O)-NH-†, NH-C(=O)NH-†, NH-C(=O)NR<sup>4</sup>-†, NR<sup>4</sup>-C(=O)NH-†, CR<sup>4</sup>R<sup>5</sup>-NH-C(=O)-†, NH-C(=S)-CR<sup>4</sup>R<sup>5</sup>-†, CR<sup>4</sup>R<sup>5</sup>-C(=S)-NH-†, NH-S(=O)-CR<sup>4</sup>R<sup>5</sup>-†, CR<sup>4</sup>R<sup>5</sup>-S(=O)-NH-†, NH-S(=O)<sub>2</sub>-CR<sup>4</sup>R<sup>5</sup>-†, CR<sup>4</sup>R<sup>5</sup>-S(=O)<sub>2</sub>-NH-†, CR<sup>4</sup>R<sup>5</sup>-O-C(=O)-NH-†, NH-C(=O)-CR<sup>4</sup>R<sup>5</sup>-†, NH-C(=O)-CR<sup>4</sup>R<sup>5</sup>-NH-† y CR<sup>4</sup>R<sup>5</sup>-NH-C(=O)-O-†. En X preferido puede ser C(=O)-NH-† o NH-C(=O)-†. Cuando E, B y A son N, R puede seleccionarse de hidrógeno, halo, alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>, O-R<sup>3</sup> y heterociclo no aromático de 4 a 8 miembros.

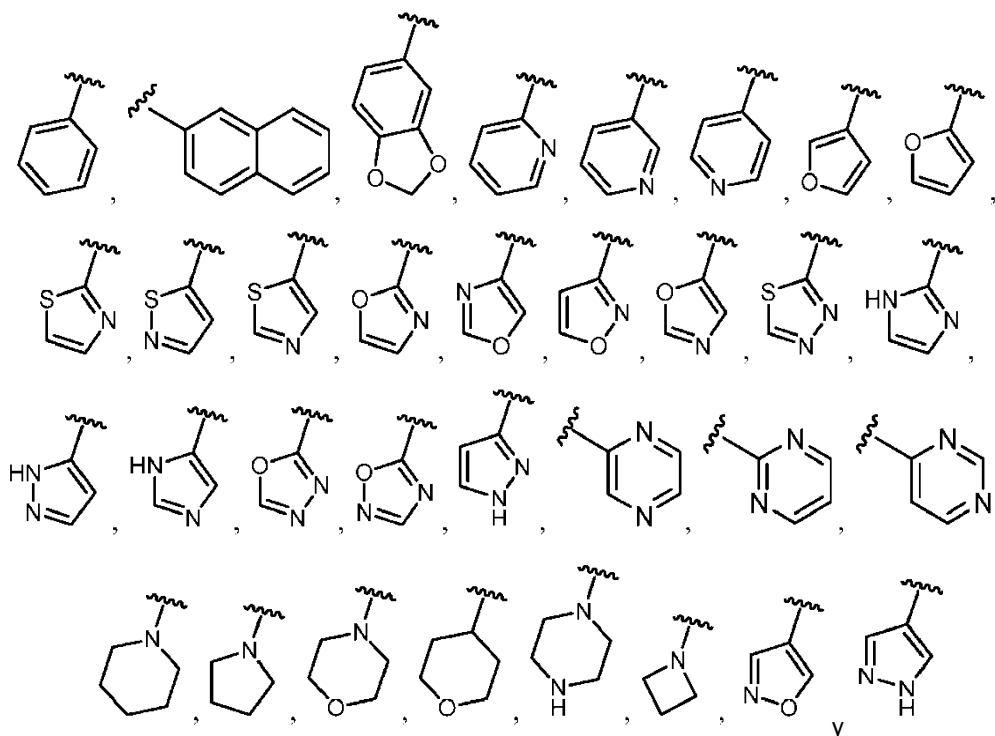
En ciertas realizaciones, tanto E como B son N y A es CR. En dichas realizaciones, el compuesto de Fórmula Estructural (I) se representa por la Fórmula Estructural (Ib):



Por ejemplo, cuando E y B son N, A puede ser CH, C-CH<sub>3</sub> o C-CF<sub>3</sub>. Cuando E y B son N y A es CR, R<sup>1</sup> puede seleccionarse de heterociclo aromático opcionalmente sustituido, que incluye un heterociclo aromático monocíclico o bicíclico. En realizaciones preferidas, R<sup>1</sup> se selecciona del opcionalmente sustituido:



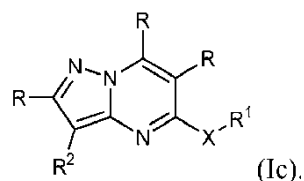
5 Cuando E y B son N y A es CR, R<sup>2</sup> puede seleccionarse de heterociclo o un carbociclo aromático. En realizaciones preferidas, cuando E y B son N y A es CR, R<sup>2</sup> se selecciona de heterociclo no aromático, tal como un heterociclo unido al resto de la molécula a través de un nitrógeno de R<sup>2</sup>. En realizaciones preferidas, R<sup>2</sup> se selecciona de:



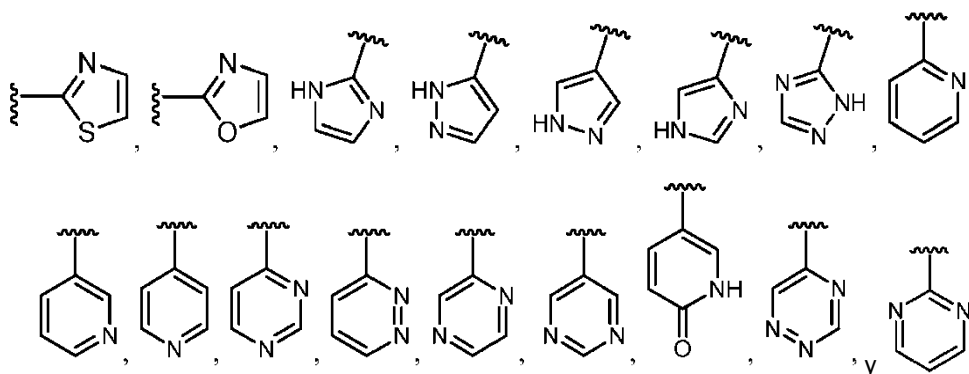
10 opcionalmente sustituido por uno o más sustituyentes seleccionados independientemente de flúor, bromo, cloro, C≡N, alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>, alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> halo-sustituido, alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> alcoxi C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> sustituido, alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub> hidroxí-sustituido, O-R<sup>3</sup>, O-(alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)-OR<sup>3</sup>, =O, cicloalquilo C<sub>3</sub>-C<sub>7</sub>, SO<sub>2</sub>R<sup>3</sup>, S-R<sup>3</sup>, -(alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)-N(R<sup>3</sup>)(R<sup>3</sup>), N(R<sup>3</sup>)(R<sup>3</sup>), O-(alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)-N(R<sup>3</sup>)(R<sup>3</sup>), O-(alquilo C<sub>0</sub>-C<sub>4</sub>)-CR<sup>3</sup>R<sup>3</sup>-(alquilo C<sub>0</sub>-C<sub>4</sub>), (alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)-O-(alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)-N(R<sup>3</sup>)(R<sup>3</sup>), C(=O)-N(R<sup>3</sup>)(R<sup>3</sup>), (alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)-C(=O)-N(R<sup>3</sup>)(R<sup>3</sup>), fenilo, O-fenilo, segundo heterociclo, O-(segundo heterociclo), 3,4-metilenodioxí, 3,4-metilenodioxí halo-sustituido, 3,4-etilendioxí o 3,4-etilendioxí halo-sustituido, en donde cualquier sustituyente fenilo, heterociclo saturado o segundo heterociclo de R<sup>2</sup> está opcionalmente sustituido con uno o más sustituyentes seleccionados independientemente de halo, C≡N, alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>, alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> halo-sustituido, O-(alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> halo-sustituido), O-(alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>), S-(alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>), S-(alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> halo sustituido) y NR<sup>3</sup>R<sup>3</sup>. Cuando E y B son N y A es CR, R<sup>2</sup> puede estar opcionalmente sustituido con uno o más sustituyentes independientemente seleccionados de bromo, flúor, cloro, alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>, O-R<sup>3</sup> y N(R<sup>3</sup>)(R<sup>3</sup>).

25 En realizaciones preferidas, E y B son N y A es CR y X se selecciona de C(=O)-NH-†, NH-C(=O)-†, C(=O)-NH-CR<sup>4</sup>R<sup>5</sup>-†, S(=O)-NH-†, S(=O)<sub>2</sub>-NH-†, NH-C(=S)-†, C(=S)-NH-†, NH-S(=O)-†, NH-S(=O)<sub>2</sub>-†, NH-S(=O)<sub>2</sub>-NR<sup>4</sup>-†, NR<sup>4</sup>-S(=O)<sub>2</sub>-NH-†, NH-C(=O)O-†, O-C(=O)-NH-†, NH-C(=O)NH-†, NH-C(=O)NR<sup>4</sup>-†, NR<sup>4</sup>-C(=O)NH-†, CR<sup>4</sup>R<sup>5</sup>-NH-C(=O)-†, NH-C(=S)-CR<sup>4</sup>R<sup>5</sup>-†, CR<sup>4</sup>R<sup>5</sup>-C(=S)-NH-†, NH-S(=O)-CR<sup>4</sup>R<sup>5</sup>-†, CR<sup>4</sup>R<sup>5</sup>-S(=O)-NH-†, NH-S(=O)<sub>2</sub>-CR<sup>4</sup>R<sup>5</sup>-†, CR<sup>4</sup>R<sup>5</sup>-S(=O)<sub>2</sub>-NH-†, CR<sup>4</sup>R<sup>5</sup>-O-C(=O)-NH-†, NH-C(=O)-CR<sup>4</sup>R<sup>5</sup>-†, NH-C(=O)-CR<sup>4</sup>R<sup>5</sup>-NH-† y CR<sup>4</sup>R<sup>5</sup>-NH-C(=O)-O-†. Por ejemplo, cuando E y B son N y A es CR, X puede seleccionarse de C(=O)-NH-† y NH-C(=O)-†. Cuando E y B son N y A es CR, R puede seleccionarse en cada caso a partir de hidrógeno, halo, alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>, O-R<sup>3</sup> y heterociclo no aromático de 4 a 8 miembros.

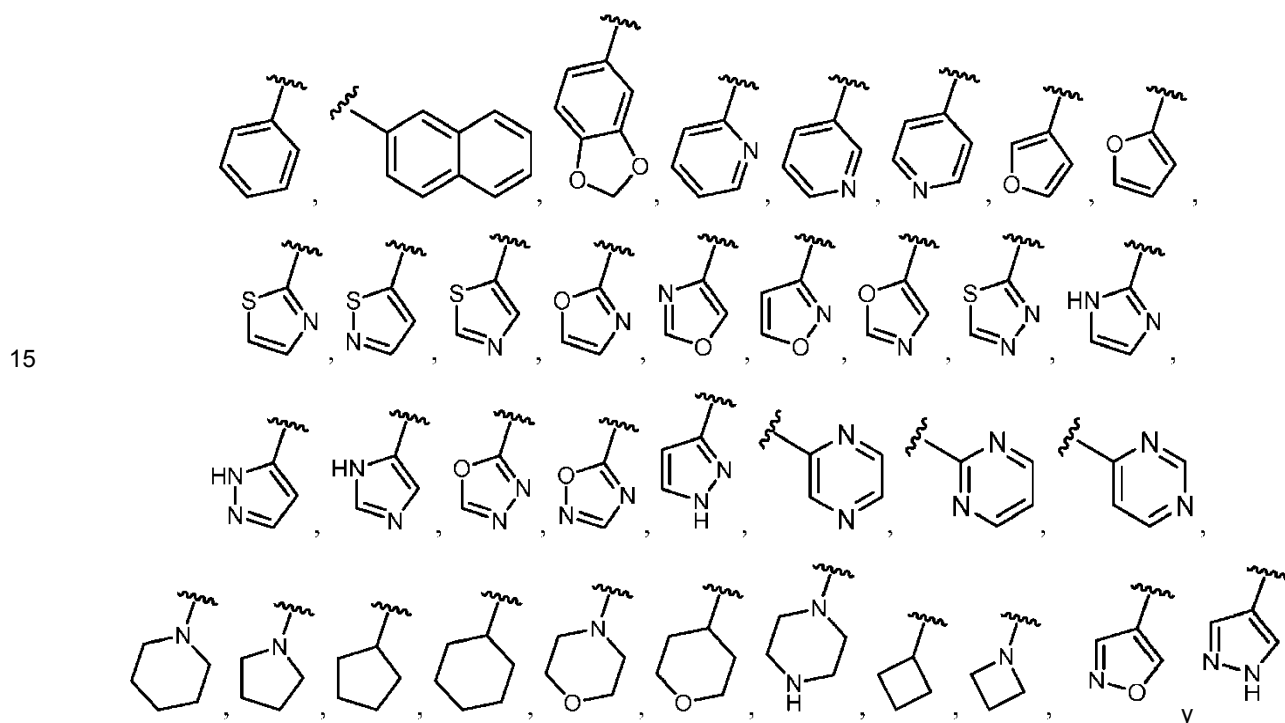
En ciertas realizaciones, tanto D como B son N y A es CR. En dichas realizaciones, el compuesto de Fórmula Estructural (I) se representa por la Fórmula Estructural (Ic):



- 5 En ciertas realizaciones, cuando D y B son N, A puede ser CH, C-CH<sub>3</sub> o C-CF<sub>3</sub>. Cuando D y B son N y A es CR, R<sup>1</sup> puede seleccionarse de heterociclo aromático opcionalmente sustituido. Por ejemplo, cuando D y B son N y A es CR, R<sup>1</sup> se selecciona del opcionalmente sustituido:



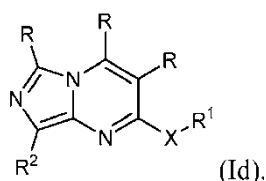
- 10 Cuando D y B son N y A es CR, R<sup>2</sup> se selecciona de heterociclo o carbociclo. En realizaciones preferidas, cuando D y B son N y A es CR, R<sup>2</sup> se selecciona de heterociclo tal como heterociclo no aromático. Por ejemplo, R<sup>2</sup> puede seleccionarse de heterociclo no aromático unido al resto de la molécula a través de un nitrógeno de R<sup>2</sup>. En realizaciones preferidas, cuando D y B son N y A es CR, R<sup>2</sup> se selecciona de carbociclo tal como carbociclo no aromático. Cuando D y B son N y A es CR, R<sup>2</sup> puede seleccionarse de:



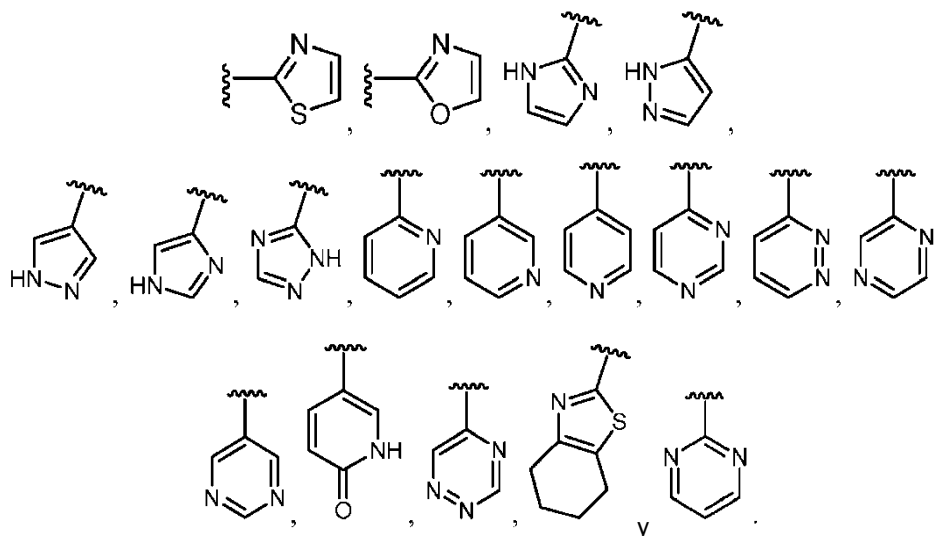
opcionalmente sustituido con uno o más sustituyentes seleccionados independientemente de flúor, bromo, C≡N, alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>, alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> halo-sustituido, alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> alcoxi C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> sustituido, alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub> hidroxi-sustituido, O-R<sup>3</sup>, O-(alquil C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)-OR<sup>3</sup>, =O, cicloalquilo C<sub>3</sub>-C<sub>7</sub>, SO<sub>2</sub>R<sup>3</sup>, S-R<sup>3</sup>, -(alquil C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)-N(R<sup>3</sup>)(R<sup>3</sup>), N(R<sup>3</sup>)(R<sup>3</sup>), O-(alquil C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)-N(R<sup>3</sup>)(R<sup>3</sup>), O-(alquil C<sub>0</sub>-C<sub>4</sub>)-CR<sup>3</sup>R<sup>3</sup>-(alquilo C<sub>0</sub>-C<sub>4</sub>), (alquil C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)-O-(alquil C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)-N(R<sup>3</sup>)(R<sup>3</sup>), C(=O)-N(R<sup>3</sup>)(R<sup>3</sup>), (alquil C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)-C(=O)-N(R<sup>3</sup>)(R<sup>3</sup>), fenilo, O-fenilo, segundo heterociclo, O-(segundo heterociclo), 3,4-metilenodioxo, 3,4-

metilendioxi halo-sustituido, 3,4-etilendioxi o 3,4-etilendioxi halo-sustituido, en donde cualquier sustituyente fenilo, heterociclo saturado o segundo heterociclo de R<sup>2</sup> está opcionalmente sustituido con uno o más sustituyentes seleccionados independientemente de halo, C≡N, alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>, alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> halo-sustituido, O-(alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> halo-sustituido), O-(alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>), S-(alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>), S-(alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> halo-sustituido) y NR<sup>3</sup>R<sup>3</sup>. En realizaciones preferidas, cuando D y B son N y A es CR, R<sup>2</sup> está opcionalmente sustituido con uno o más sustituyentes independientemente seleccionados de bromo, flúor, alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>, O-R<sup>3</sup> y N(R<sup>3</sup>)(R<sup>3</sup>). Cuando D y B son N y A es CR, X puede seleccionarse de C(=O)-NH-†, NH-C(=O)-†, C(=O)-NH-CR<sup>4</sup>R<sup>5</sup>-†, S(=O)-NH-†, S(=O)<sub>2</sub>-NH-†, NH-C(=S)-†, C(=S)-NH-†, NH-S(=O)-†, NH-S(=O)<sub>2</sub>-†, NH-S(=O)<sub>2</sub>-NR<sup>4</sup>-†, NR<sup>4</sup>-S(=O)<sub>2</sub>-NH-†, NH-C(=O)O-†, O-C(=O)-NH-†, NH-C(=O)NH-†, NH-C(=O)NR<sup>4</sup>-†, NR<sup>4</sup>-C(=O)NH-†, CR<sup>4</sup>R<sup>5</sup>-NH-C(=O)-†, NH-C(=S)-CR<sup>4</sup>R<sup>5</sup>-†, CR<sup>4</sup>R<sup>5</sup>-C(=S)-NH-†, NH-S(=O)-CR<sup>4</sup>R<sup>5</sup>-†, CR<sup>4</sup>R<sup>5</sup>-S(=O)-NH-†, NH-S(=O)<sub>2</sub>-CR<sup>4</sup>R<sup>5</sup>-†, CR<sup>4</sup>R<sup>5</sup>-S(=O)<sub>2</sub>-NH-†, CR<sup>4</sup>R<sup>5</sup>-O-C(=O)-NH-†, NH-C(=O)-CR<sup>4</sup>R<sup>5</sup>-†, NH-C(=O)-CR<sup>4</sup>R<sup>5</sup>-NH-† y CR<sup>4</sup>R<sup>5</sup>-NH-C(=O)-O-†. Por ejemplo, cuando D y B son N y A es CR, X puede seleccionarse de C(=O)-NH-† y NH-C(=O)-†. Cuando D y B son N y A es CR, R puede seleccionarse en cada caso de hidrógeno, halo, alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>, O-R<sup>3</sup> y heterociclo no aromático de 4 a 8 miembros.

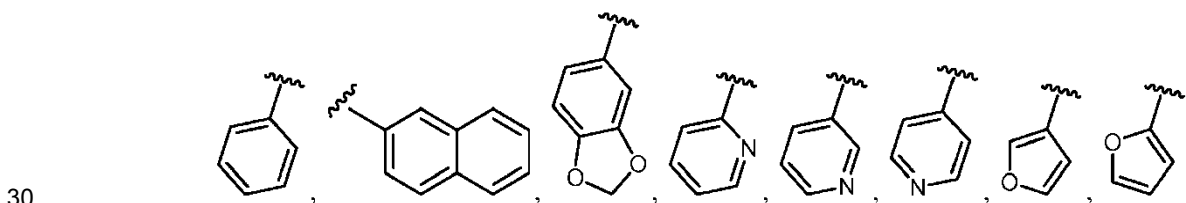
En ciertas realizaciones, tanto D como A son N y B es CR. En dichas realizaciones, el compuesto de Fórmula Estructural (I) se representa por la Fórmula Estructural (Id):

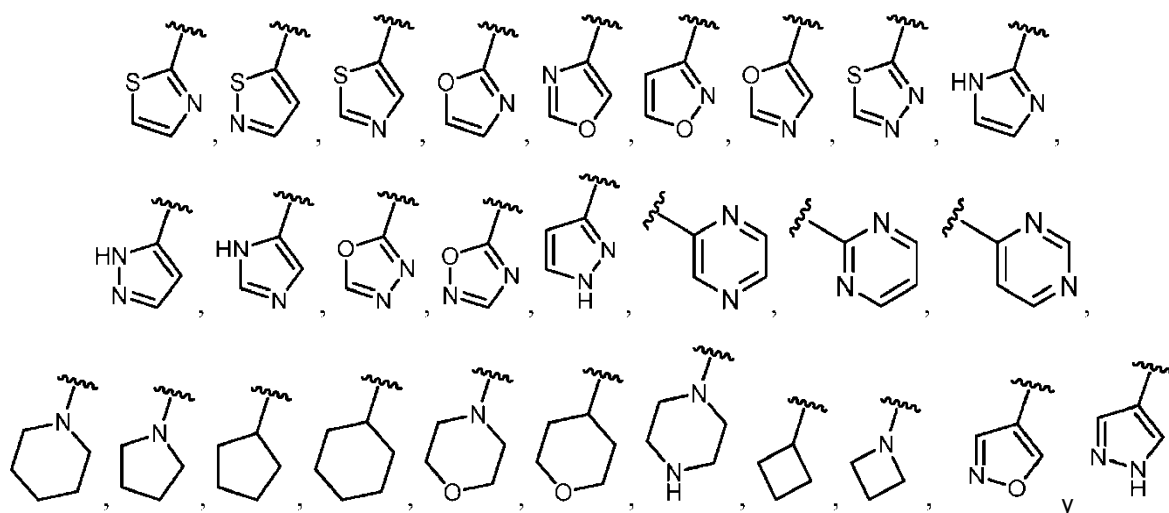


Por ejemplo, cuando D y A son N, B puede ser CH, C-CH<sub>3</sub> o C-CF<sub>3</sub>. Cuando D y A son N y B es CR, R<sup>1</sup> puede seleccionarse de heterociclo aromático opcionalmente sustituido tal como heterociclo aromático monocíclico o bicíclico opcionalmente sustituido. En realizaciones preferidas, cuando D y A son N y B es CR, R<sup>1</sup> puede seleccionarse de los opcionalmente sustituidos:



En ciertas realizaciones, cuando D y A son N y B es CR, R<sup>2</sup> se selecciona de heterociclo o carbociclo opcionalmente sustituido. Cuando D y A son N y B es CR, R<sup>2</sup> puede seleccionarse de heterociclo opcionalmente sustituido tal como heterociclo no aromático. En una realización ilustrativa, cuando D y A son N y B es CR, R<sup>2</sup> es un heterociclo no aromático unido al resto de la molécula a través de un nitrógeno de R<sup>2</sup>. Cuando D y A son N y B es CR, R<sup>2</sup> puede seleccionarse de carbociclo opcionalmente sustituido tal como carbociclo no aromático. Cuando D y A son N y B es CR, R<sup>2</sup> puede seleccionarse de:



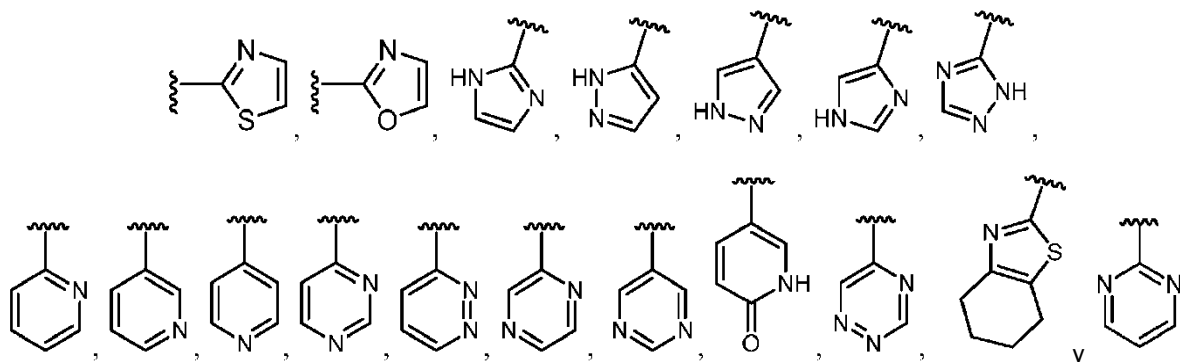


5 opcionalmente sustituido con uno o más sustituyentes seleccionados independientemente de flúor, bromo, cloro, C≡N, alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>, alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> halo-sustituido, alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> alcoxi C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> sustituido, alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub> hidroxilo-sustituido, O-R<sup>3</sup>, O-(alquil C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)-OR<sup>3</sup>, =O, cicloalquilo C<sub>3</sub>-C<sub>7</sub>, SO<sub>2</sub>R<sup>3</sup>, S-R<sup>3</sup>, -(alquil C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)-N(R<sup>3</sup>)(R<sup>3</sup>), N(R<sup>3</sup>)(R<sup>3</sup>), O-(alquil C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)-N(R<sup>3</sup>)(R<sup>3</sup>), O-(alquil C<sub>0</sub>-C<sub>4</sub>)-CR<sup>3</sup>R<sup>3</sup>-(alquilo C<sub>0</sub>-C<sub>4</sub>), (alquil C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)-O-(alquil C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)-N(R<sup>3</sup>)(R<sup>3</sup>), C(=O)-N(R<sup>3</sup>)(R<sup>3</sup>), (alquil C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)-C(=O)-N(R<sup>3</sup>)(R<sup>3</sup>), fenilo, O-fenilo, segundo heterociclo, O-(segundo heterociclo), 3,4-metilenodioxi, 3,4-metilenodioxi halo-sustituido, 3,4-etilendioxi o 3,4-etilendioxi halo-sustituido, en donde cualquier sustituyente fenilo, heterociclo saturado o segundo heterociclo de R<sup>2</sup> está opcionalmente sustituido con uno o más sustituyentes seleccionados independientemente de halo, C≡N, alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>, alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> halo-sustituido, O-(alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> halo-sustituido), O-(alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>), S-(alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>), S-(alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> halo sustituido) y NR<sup>3</sup>R<sup>3</sup>. Cuando D y A son N y B es CR, R<sup>2</sup> puede estar opcionalmente sustituido con uno o más sustituyentes independientemente seleccionados de bromo, flúor, cloro, alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>, O-R<sup>3</sup> y N(R<sup>3</sup>)(R<sup>3</sup>).

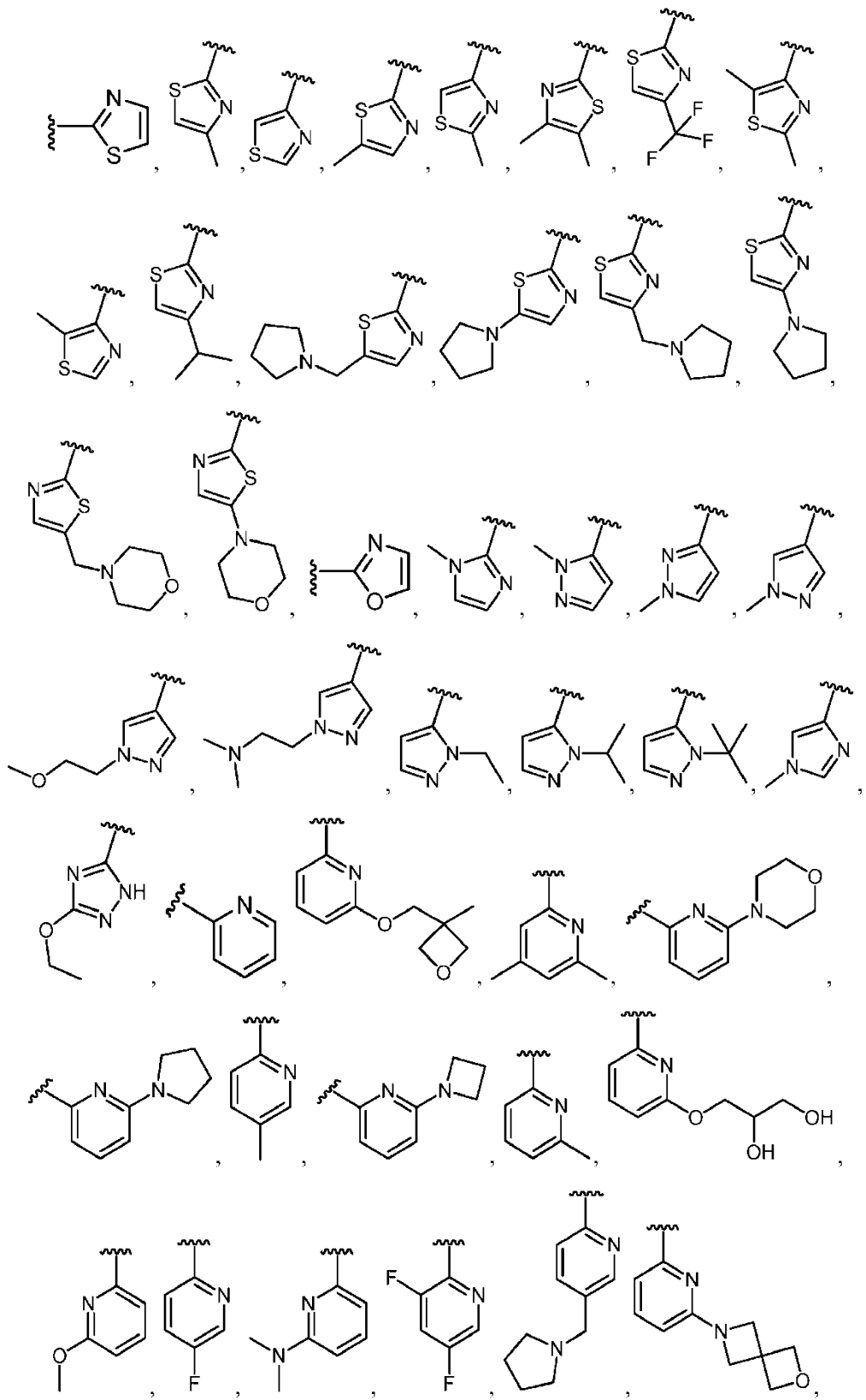
15 En ciertas realizaciones, cuando D y A son N y B es CR, X se selecciona de C(=O)-NH-†, NH-C(=O)-†, NH-CR<sup>4</sup>R<sup>5</sup>-†, C(=O)-NH-CR<sup>4</sup>R<sup>5</sup>-†, S(=O)-NH-†, S(=O)<sub>2</sub>-NH-†, CR<sup>4</sup>R<sup>5</sup>-NH-†, NH-C(=O)-O-CR<sup>4</sup>R<sup>5</sup>-†, NH-†, NH-C(=S)-†, C(=S)-NH-†, NH-S(=O)-†, NH-S(=O)<sub>2</sub>-†, NH-S(=O)<sub>2</sub>-NR<sup>4</sup>-†, NR<sup>4</sup>-S(=O)<sub>2</sub>-NH-†, NH-C(=O)O-†, O-C(=O)-NH-†, NH-C(=O)NH-†, NH-C(=O)NR<sup>4</sup>-†, NR<sup>4</sup>-C(=O)NH-†, CR<sup>4</sup>R<sup>5</sup>-NH-C(=O)-†, NH-C(=S)-CR<sup>4</sup>R<sup>5</sup>-†, CR<sup>4</sup>R<sup>5</sup>-C(=S)-NH-†, NH-S(=O)-CR<sup>4</sup>R<sup>5</sup>-†, CR<sup>4</sup>R<sup>5</sup>-S(=O)-NH-†, NH-S(=O)<sub>2</sub>-CR<sup>4</sup>R<sup>5</sup>-†, CR<sup>4</sup>R<sup>5</sup>-S(=O)<sub>2</sub>-NH-†, CR<sup>4</sup>R<sup>5</sup>-O-C(=O)-NH-†, NH-C(=O)-CR<sup>4</sup>R<sup>5</sup>-†, NH-C(=O)-CR<sup>4</sup>R<sup>5</sup>-NH† y CR<sup>4</sup>R<sup>5</sup>-NH-C(=O)-O-†. Por ejemplo, cuando D y A son N y B es CR, X se selecciona de C(=O)-NH-† y NH-C(=O)-†. Cuando D y A son N y B es CR, R puede seleccionarse en cada caso de hidrógeno, halo, alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>, O-R<sup>3</sup> y heterociclo no aromático de 4 a 8 miembros.

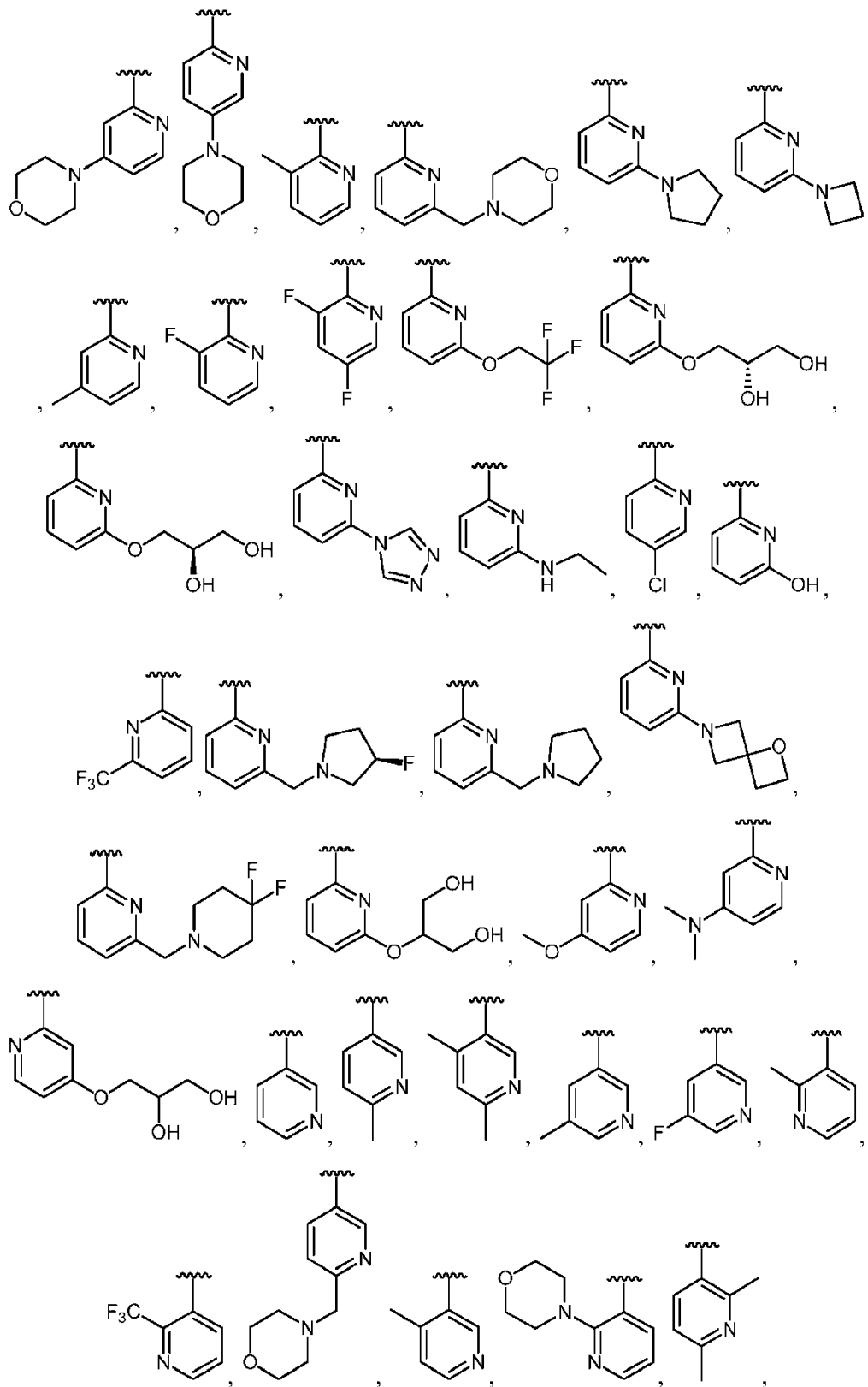
25 En cualquiera de las realizaciones anteriores, R en cada caso puede seleccionarse de hidrógeno, halo, OH, C≡N, alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>, alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> halo-sustituido, alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> alcoxi C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> sustituido, alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub> hidroxilo sustituido, -O-R<sup>3</sup>, -O-(alquil C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)-OR<sup>3</sup>, -S-(alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>), -S-(alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> halo-sustituido), N(alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> hidroxilo-sustituido)<sub>2</sub>, N(alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> metoxi-sustituido)<sub>2</sub>, N(alquil C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)(alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> hidroxilo-sustituido), N(alquil C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)(alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> metoxi sustituido), cicloalquilo C<sub>3</sub>-C<sub>7</sub>, y heterociclo no aromático de 4 a 8 miembros.

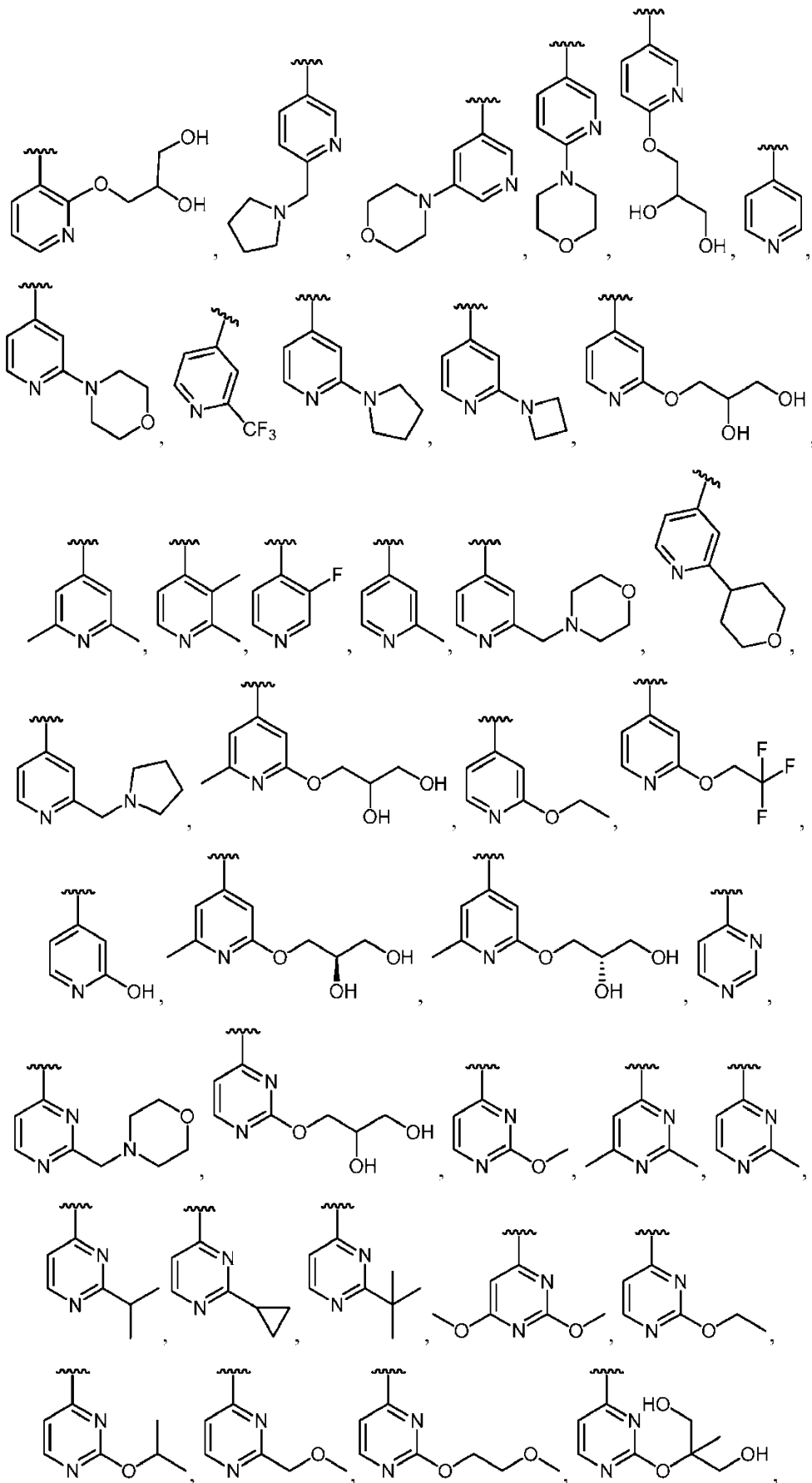
En cualquiera de las realizaciones anteriores, R<sup>1</sup> puede seleccionarse de los opcionalmente sustituidos



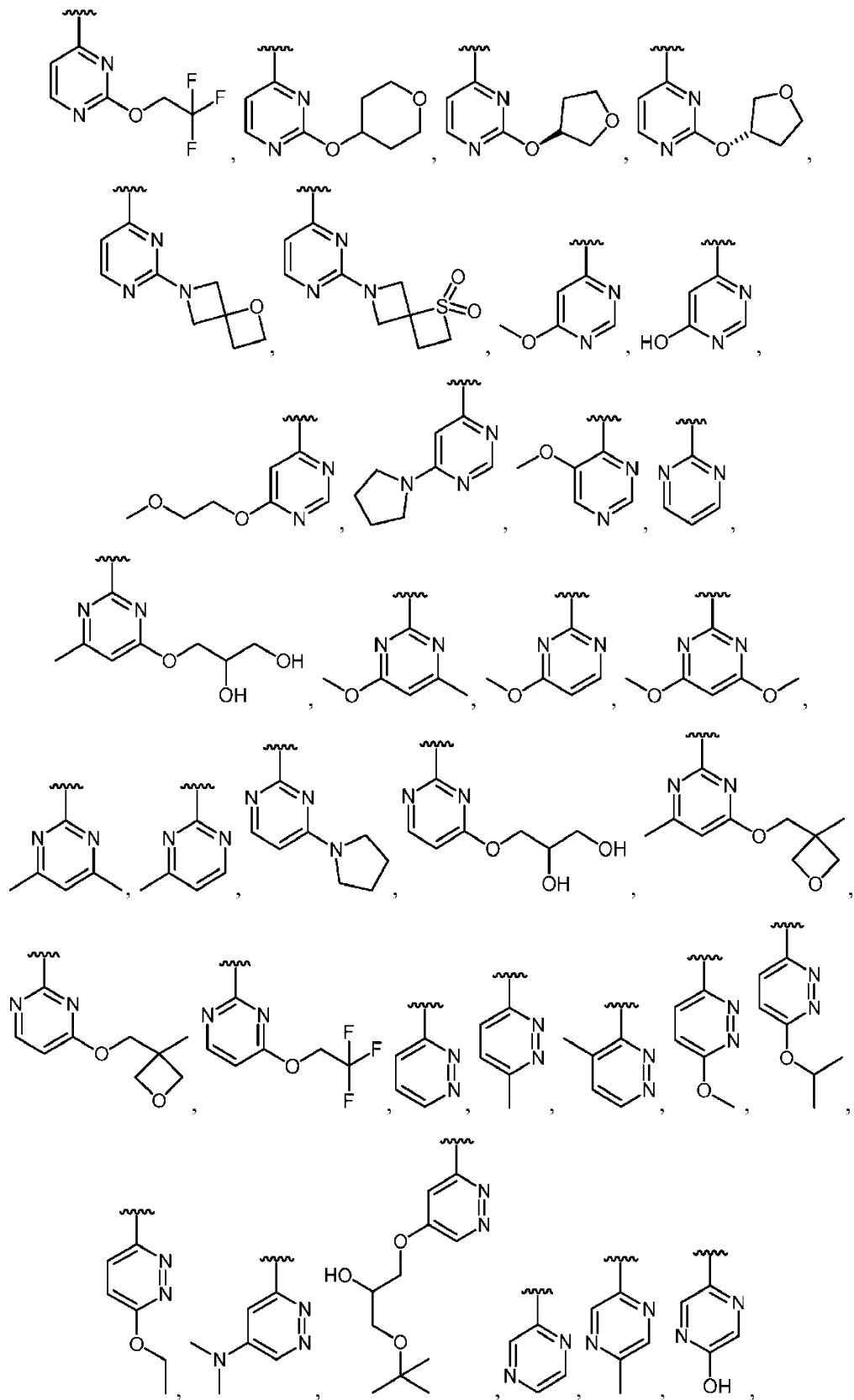
30 En particular, R<sup>1</sup> puede seleccionarse de:

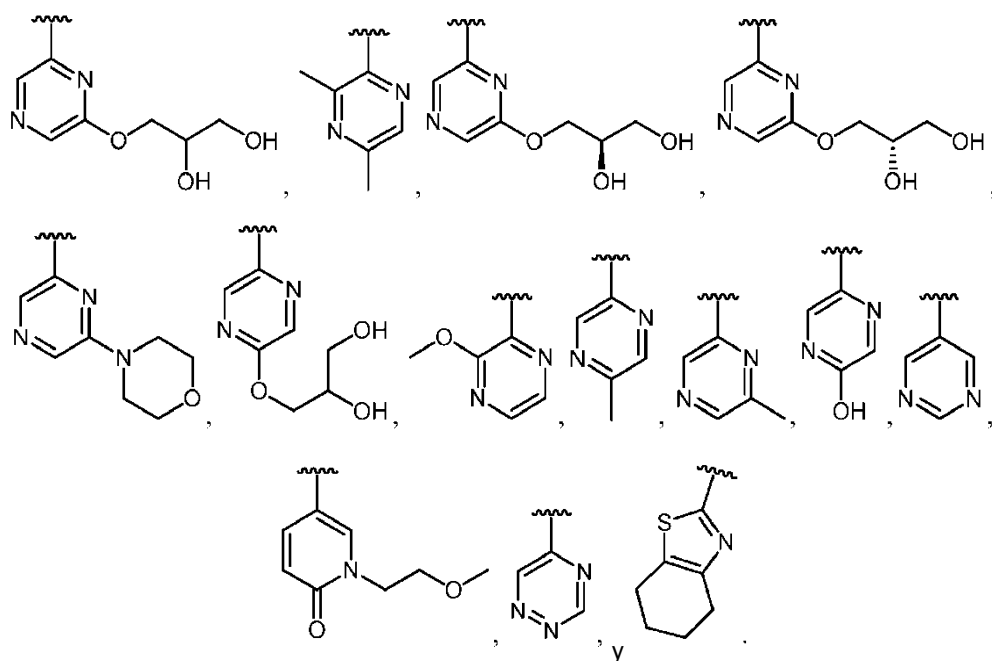




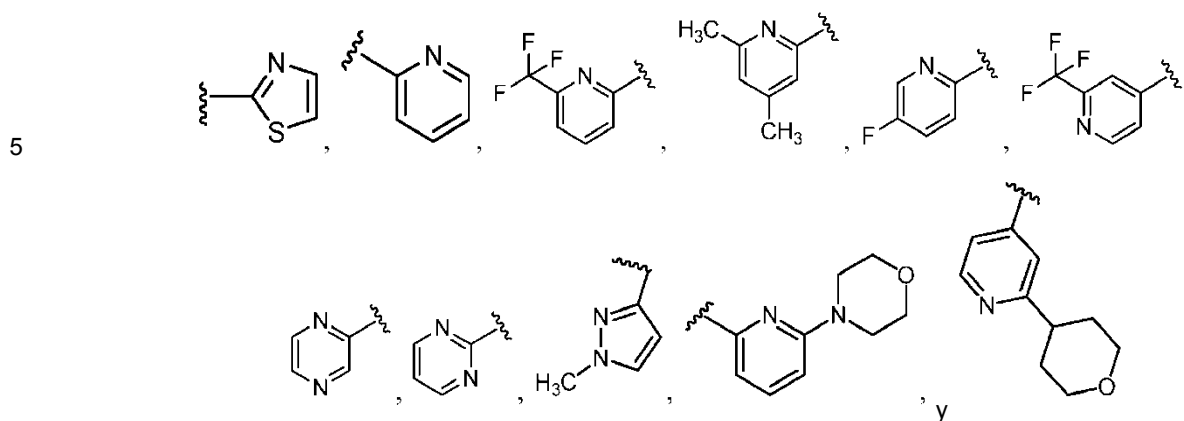




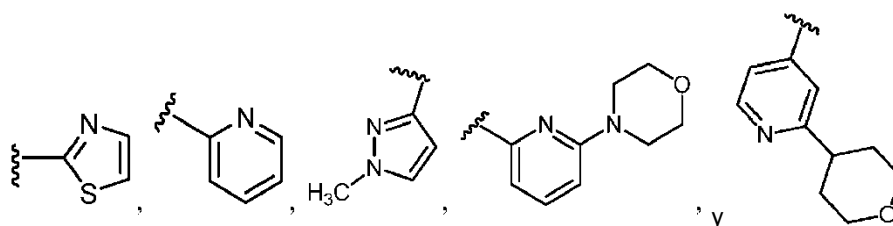




Por ejemplo, R<sup>1</sup> puede seleccionarse de



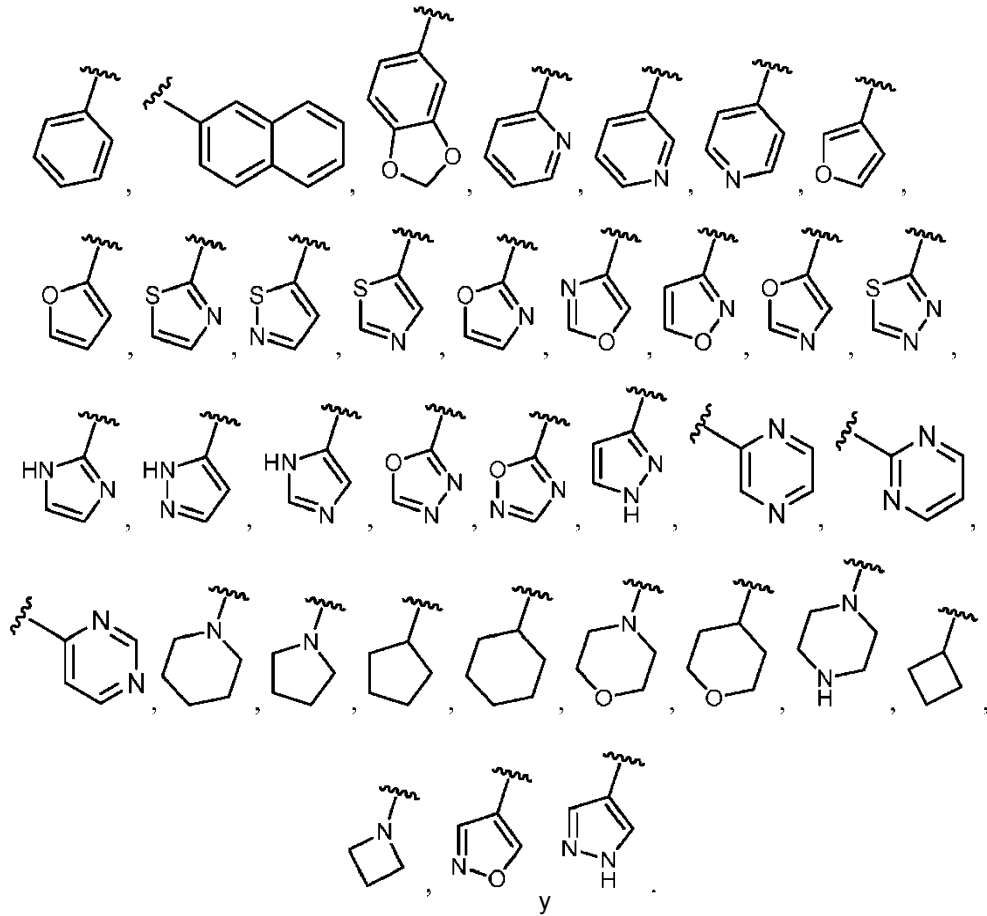
tal como seleccionarse de



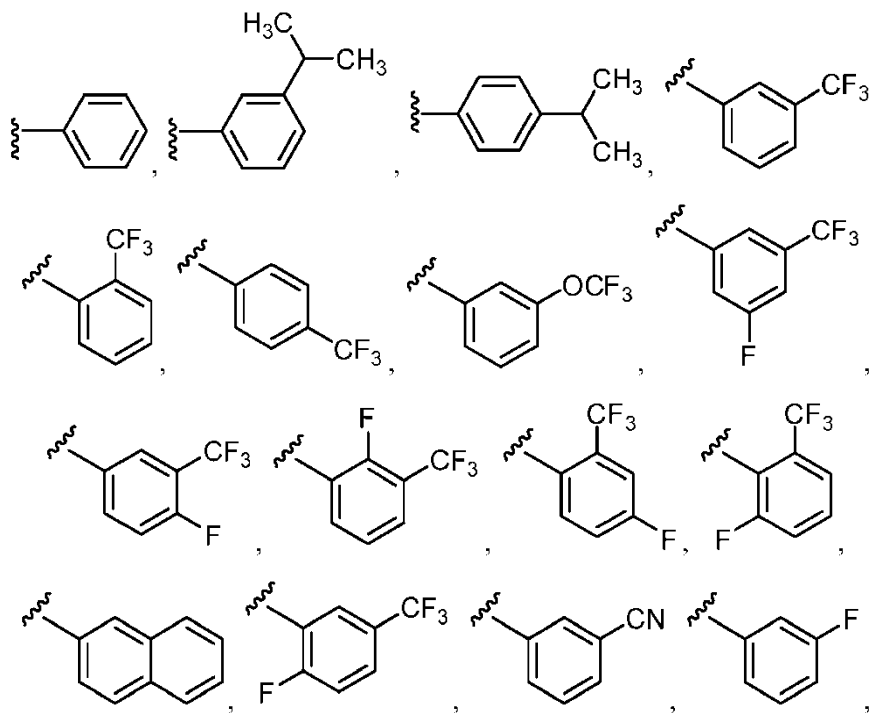
10 En cualquiera de las realizaciones anteriores, R<sup>2</sup> puede seleccionarse de carbociclo opcionalmente sustituido y heterociclo no aromático opcionalmente sustituido. En particular, R<sup>2</sup> puede seleccionarse se carbociclo aromático opcionalmente sustituido y heterociclo no aromático opcionalmente sustituido. R<sup>2</sup> puede seleccionarse de carbociclo no aromático opcionalmente sustituido y heterociclo no aromático opcionalmente sustituido. Por ejemplo, R<sup>2</sup> puede seleccionarse de un heterociclo no aromático opcionalmente sustituido y R<sup>2</sup> puede unirse al resto del compuesto mediante un átomo de nitrógeno de R<sup>2</sup>.

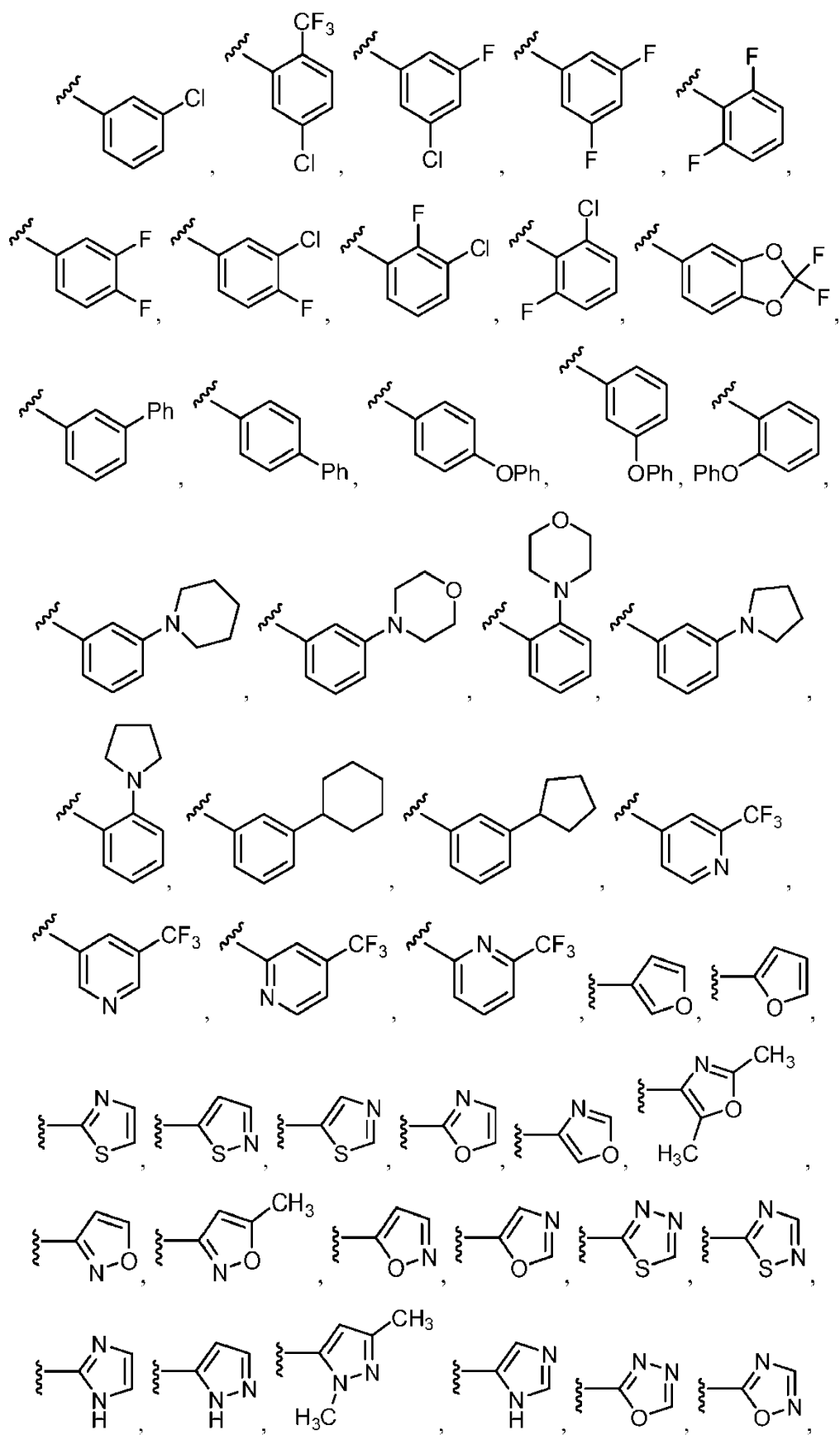
15

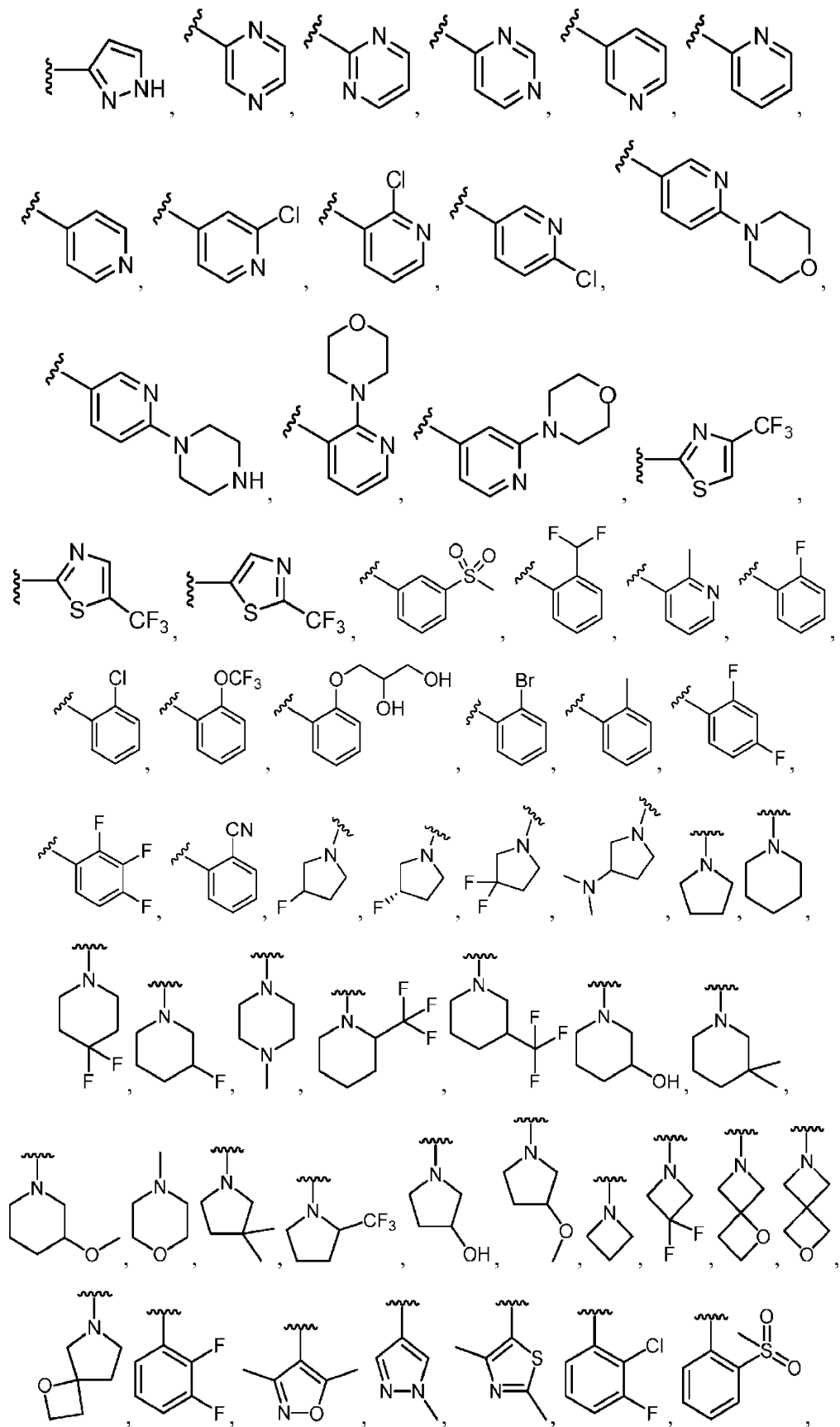
En cualquiera de las realizaciones anteriores, R<sup>2</sup> puede seleccionarse de los opcionalmente sustituidos

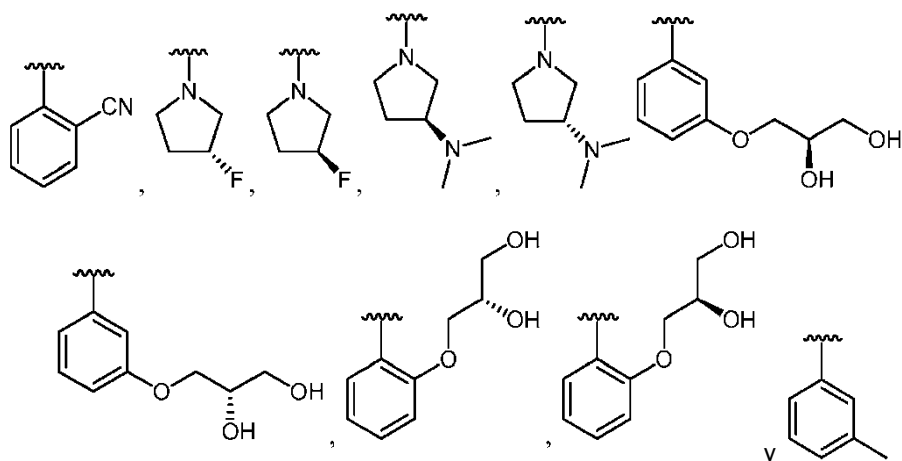


En cualquiera de las realizaciones anteriores, R<sup>2</sup> puede seleccionarse de:

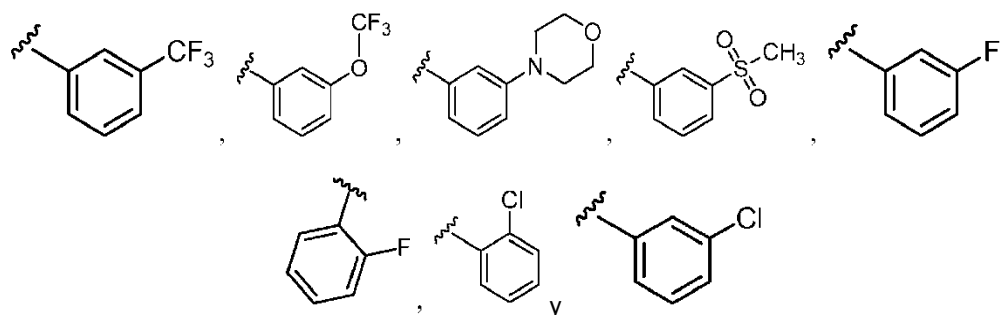






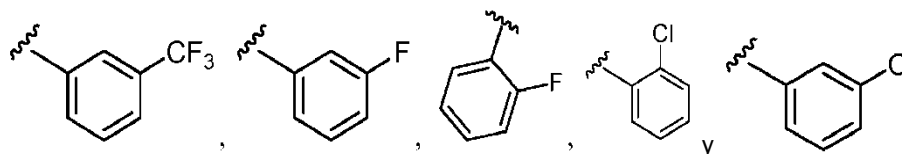


En realizaciones más particulares, R<sup>2</sup> se selecciona de:



5

tal como seleccionarse de



En cualquiera de las realizaciones anteriores, X puede ser C(=O)-NH-†. En cualquiera de las realizaciones anteriores, X puede ser NH-C(=O)-†.

- 10 En cualquiera de las realizaciones anteriores, un grupo alcoxi C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> sustituido puede incluir uno o más sustituyentes alcoxi tal como uno, dos o tres grupos metoxi, o un grupo metoxi y un grupo etoxi, por ejemplo. Sustituyentes alcoxi C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> ilustrativos incluyen metoxi, etoxi, isopropoxi y *tert*-butoxi.

En cualquiera de las realizaciones anteriores, un grupo sustituido con hidroxilo puede incluir uno o más sustituyentes hidroxilo, tal como dos o tres grupos hidroxilo.

- 15 En cualquiera de las realizaciones anteriores, un grupo "halo-sustituido" incluye desde un sustituyente halo hasta sustitución perhalo. El alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> halo-sustituido ilustrativo incluye CFH<sub>2</sub>, CClH<sub>2</sub>, CBrH<sub>2</sub>, CF<sub>2</sub>H, CCl<sub>2</sub>H, CBr<sub>2</sub>H, CF<sub>3</sub>, CCl<sub>3</sub>, CBr<sub>3</sub>, CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>F, CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>Cl, CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>Br, CH<sub>2</sub>CHF<sub>2</sub>, CHFCH<sub>3</sub>, CHClCH<sub>3</sub>, CHBrCH<sub>3</sub>, CF<sub>2</sub>CHF<sub>2</sub>, CF<sub>2</sub>CHCl<sub>2</sub>, CF<sub>2</sub>CHBr<sub>2</sub>, CH(CF<sub>3</sub>)<sub>2</sub>, y C(CF<sub>3</sub>)<sub>3</sub>. El alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> perhalo-sustituido, por ejemplo, incluye CF<sub>3</sub>, CCl<sub>3</sub>, CBr<sub>3</sub>, CF<sub>2</sub>CF<sub>3</sub>, CCl<sub>2</sub>CF<sub>3</sub> y CBr<sub>2</sub>CF<sub>3</sub>.

- 20 En cualquiera de las realizaciones anteriores, un grupo "carbociclo" puede referirse a una realización de carbociclo monocíclico y/o una realización de carbociclo policíclico, tal como una realización de carbociclo condensado, en puente o bicíclico. Los grupos "carbociclo" de la invención pueden referirse además a una realización de carbociclo aromático y/o una realización de carbociclo no aromático, o, en el caso de realizaciones policíclicas, un carbociclo que tiene uno o más anillos aromáticos y/o uno o más anillos no aromáticos. Las realizaciones de carbociclo policíclico pueden ser un anillo bicíclico, un anillo condensado o un biciclo con puente. Carbociclos ilustrativos no limitantes incluyen fenilo, ciclohexano, ciclopentano o ciclohexeno, amantadina, ciclopentano, ciclohexano, biciclo[2.2.1]heptano, 1,5-ciclooctadieno, 1,2,3,4-tetrahidronaftaleno, biciclo[4.2.0]oct-3-eno, naftaleno, adamantano, decalina, naftaleno, 1,2,3,4-tetrahidronaftaleno, norbornano, decalina, espiropentano, memantina, biperideno, rimantadina, alcanfor, colesterol, 4-fenilciclohexanol, biciclo[4.2.0]octano, memantina y 4,5,6,7-tetrahidro-1H-indeno y biciclo[4.1.0]hept-3-eno.

30

- En cualquiera de las realizaciones anteriores, un grupo "heterociclo" puede referirse a una realización de heterociclo monocíclico y/o una realización de heterociclo policíclico, tal como una realización de heterociclo condensado, en puente o bicíclico. Los grupos "heterociclo" de la invención pueden referirse además a una realización de heterociclo aromático y/o una realización de heterociclo no aromático, o, en el caso de realizaciones policíclicas, un heterociclo que tiene uno o más anillos aromáticos y/o uno o más anillos no aromáticos. Las realizaciones de heterociclo policíclico pueden ser un anillo bicíclico, un anillo condensado o un biciclo en puente. Los heterociclos ilustrativos no limitantes incluyen piridilo, pirrolidina, piperidina, piperazina, pirrolidina, morfolina, pirimidina, benzofurano, indol, quinolina, lactonas, lactamas, benzodiazepina, indol, quinolina, purina, adenina, guanina, 4,5,6,7-tetrahidrobenzo[d]tiazol, hexamina y metenamina.
- Ciertos compuestos de la presente invención pueden existir en formas geométricas o estereoisoméricas particulares. La presente invención contempla todos de dichos compuestos, que incluyen isómeros *cis* y *trans*, enantiómeros (*R*) y (*S*), diastereómeros, (D)-isómeros, (L)-isómeros, las mezclas racémicas de los mismos, y otras mezclas de los mismos, como se incluye en el alcance de la invención. Átomos de carbono asimétricos adicionales pueden estar presentes en un sustituyente tal como un grupo alquilo. Todos los isómeros, además de mezclas de los mismos, se pretenden que estén incluidos en esta invención.
- La invención incluye composiciones farmacéuticas de cualquiera de los compuestos de Fórmula Estructural (I), (Ia), (Ib), (Ic), (1d) o cualquier otra presentada anteriormente. La composición farmacéutica del compuesto de Fórmula Estructural (I), (Ia), (Ib), (Ic), (1d) puede comprender uno o más vehículos o diluyentes farmacéuticamente aceptables.
- 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 y sales de los mismos descritos en esta memoria también pueden estar presentes como los correspondientes hidratos (por ejemplo, hemihidrato, monohidrato, dihidrato, trihidrato, tetrahidrato) o solvatos. Los disolventes adecuados para la preparación de solvatos e hidratos pueden seleccionarse generalmente 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).
- Los compuestos moduladores de sirtuina de la invención modulan ventajosamente el nivel y/o la actividad de una proteína sirtuina, particularmente la actividad desacetilasa de la proteína sirtuina.
- De forma separada 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 efectivas para modular la actividad de desacetilación de una proteína sirtuina (por ejemplo, tal como una proteína SIRT1 y/o SIRT3).
- Un grupo "alquilo" o "alcano" es un hidrocarburo de cadena lineal o ramificada no aromático que está completamente saturado. Típicamente, un grupo alquilo de cadena lineal o ramificada tiene de 1 a aproximadamente 20 átomos de carbono, preferiblemente de 1 a aproximadamente 10 a menos que se defina otra cosa. Los ejemplos de grupos alquilo de cadena lineal y ramificada 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 ramificada C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> también se denomina como un grupo "alquilo inferior".
- Los términos "alqueno" ("alqueno") y "alquino" ("alquino") se refiere a grupos alifáticos insaturados análogos en longitud y posible sustitución a los grupos alquilo descritos anteriormente, pero que contienen al menos un doble o triple enlace respectivamente.
- El término "carbociclo aromático" se refiere a un sistema anular hidrocarbonado aromático que contiene al menos un anillo aromático. El anillo puede estar condensado o unido de otra forma a otros anillos carbocíclicos aromáticos o anillos carbocíclicos no aromáticos. Ejemplos de grupos carbociclo aromáticos incluyen grupos aromáticos carbocíclicos tales como fenilo, naftilo y antracilo.
- "Azabiciclo" se refiere a una molécula bicíclica que contiene un átomo de nitrógeno en el esqueleto anular. Los dos anillos del biciclo pueden estar condensados a dos átomos unidos mutuamente, por ejemplo, indol, a través de una secuencia de átomos, por ejemplo, azabiciclo[2.2.1]heptano o unido a un único átomo, por ejemplo, espirociclo.
- "Biciclo" o "bicíclico" se refiere a un sistema de dos anillos en que uno, dos o tres o más átomos están compartidos entre los dos anillos. Biciclo incluye biciclos condensados en que dos átomos adyacentes se comparten por cada uno de los dos anillos, por ejemplo, decalina, indol. Biciclo también incluye espirobiciclos en que dos anillos comparten un único átomo, por ejemplo, espiro[2.2]pentano, 1-oxa-6-azaespiro[3.4]octano. Biciclo incluye además biciclos en puente en que al menos tres átomos se comparten entre los dos anillos, por ejemplo, norbornano.

Compuestos "biciclo en puente" son sistemas anulares bicíclicos en que al menos tres átomos se comparten por ambos anillos del sistema, es decir, incluyen al menos un puente de uno o más átomos que conectan dos átomos cabeza de puente. Azabiciclo en puente se refiere a una molécula bicíclica en puente que contiene un átomo de nitrógeno en al menos uno de los anillos.

- 5 Los términos "carbociclo" y "carbocíclico", como se usa en esta memoria, se refiere a un anillo saturado o insaturado en que cada átomo del anillo es carbono. El término carbociclo incluye tanto carbociclos aromáticos como carbociclos no aromáticos. Los carbociclos no aromáticos incluyen tanto anillos cicloalcano, en que todos los átomos de carbono están saturados, como anillos cicloalqueno, que contienen al menos un doble enlace. "Carbociclo" incluye anillos monocíclicos de 5-7 miembros y bicíclicos de 8-12 miembros. Cada anillo de un carbociclo bicíclico puede seleccionarse de anillos no aromáticos y aromáticos. Carbociclo incluye moléculas bicíclicas en que uno, dos o tres o más átomos están compartidos entre los dos anillos. El término "carbociclo condensado" se refiere a un carbociclo bicíclico en que cada uno de los anillos comparte dos átomos adyacentes con el otro anillo. Cada anillo de un carbociclo condensado puede seleccionarse de anillos no aromáticos o aromáticos. En una realización ilustrativa, un anillo aromático, por ejemplo, fenilo, puede condensarse a un anillo no aromático o aromático, por ejemplo, ciclohexano, ciclopentano o ciclohexeno. Cualquier combinación de anillos bicíclicos no aromáticos o aromáticos, como permita la valencia, se incluye en la definición de carbocíclico. "Carbociclos" ilustrativos incluyen ciclopentano, ciclohexano, biciclo[2.2.1]heptano, 1,5-ciclooctadieno, 1,2,3,4-tetrahidronaftaleno, biciclo[4.2.0]oct-3-eno, naftaleno y adamantano. Carbociclos condensados ilustrativos incluyen decalina, naftaleno, 1,2,3,4-tetrahidronaftaleno, biciclo[4.2.0]octano, 4,5,6,7-tetrahidro-1H-indeno y biciclo[4.1.0]hept-3-eno. Los "carbociclos" pueden estar sustituidos en cualquiera de una o más posiciones capaces de portar un átomo de hidrógeno.

Un grupo "cicloalquilo" es un hidrocarburo cíclico que está completamente saturado (no aromático). Típicamente, un grupo cicloalquilo tiene de 3 a aproximadamente 10 átomos de carbono, más típicamente 3 a 8 átomos de carbono a menos que se defina otra cosa. Un grupo "cicloalquenilo" es un hidrocarburo cíclico que contiene uno o más dobles enlaces.

- 25 Un "halógeno" designa F, Cl, Br o I.

Una "sustitución de halógeno" o sustitución "halo" designa la sustitución de uno o más hidrógenos con F, Cl, Br o I.

- El término "heteroarilo" o "heterociclo aromático" incluye estructuras anulares sencillas sustituidas o no sustituidas aromáticas, preferiblemente anillos de 5 a 7 miembros, más preferiblemente anillos de 5 a 6 miembros, cuyas estructuras anulares incluyen al menos un heteroátomo, preferiblemente uno a cuatro heteroátomos, más preferiblemente uno o dos heteroátomos. El término "heteroarilo" incluye también sistemas anulares que tienen uno o dos anillos en donde al menos uno de los anillos es heteroaromático, por ejemplo, los otros anillos cíclicos pueden ser cicloalquilo, cicloalquinilo, cicloalquinilo, carbociclo aromático, heteroarilo y/o heterociclilo. Los grupos heteroarilo incluyen, por ejemplo, pirrol, furano, tiofeno, imidazol, oxazol, tiazol, pirazol, piridina, pirazina, piridazina y pirimidina.

- 35 Los términos "heterociclo" y "heterocíclico", como se usan en esta memoria, se refiere a anillo no aromático o aromático que comprende uno o más heteroátomos seleccionados de, por ejemplo, átomos de N, O, B y S, preferiblemente N, O o S. El término "heterociclo" incluye tanto "heterociclos aromáticos" como "heterociclos no aromáticos". Los heterociclos incluyen anillos monocíclicos de 4-7 miembros y bicíclicos de 8-12 miembros. Heterociclo incluye moléculas bicíclicas en que uno, dos o tres o más átomos están compartidos entre los dos anillos. Cada anillo de un heterociclo bicíclico puede seleccionarse de anillos no aromáticos y aromáticos. El término "heterociclo condensado" se refiere a un heterociclo bicíclico en que cada uno de los anillos comparte dos átomos adyacentes con el otro anillo. Cada anillo de un heterociclo condensado puede seleccionarse de anillos no aromáticos y aromáticos. En una realización ilustrativa, un anillo aromático, por ejemplo, piridilo, puede condensarse a un anillo no aromático o aromático, por ejemplo, ciclohexano, ciclopentano, pirrolidina, 2,3-dihidrofurano o ciclohexeno. Los grupos "heterociclo" incluyen, por ejemplo, piperidina, piperazina, pirrolidina, morfina, pirimidina, benzofurano, indol, quinolina, lactonas y lactamas. "Heterociclos condensados" ilustrativos incluyen benzodiazepina, indol, quinolina, purina y 4,5,6,7-tetrahidrobenzo[d]tiazol. Los "heterociclos" pueden estar sustituidos en cualquiera de una o más posiciones capaces de portar un átomo de hidrógeno.

- 50 Los "anillos monocíclicos" incluyen carbociclo o heteroarilo aromático de 5-7 miembros, cicloalquilo o cicloalquenilo de 3-7 miembros, y heterociclilo no aromático de 5-7 miembros. Grupos monocíclicos ilustrativos incluyen heterociclos o carbociclos sustituidos o no sustituidos tales como tiazolilo, oxazolilo, oxazinilo, tiazinilo, ditanilo, dioxanilo, isoxazolilo, isotiazolilo, triazolilo, furanilo, tetrahidrofuranilo, dihidrofuranilo, piranilo, tetrazolilo, pirazolilo, pirazinilo, piridazinilo, imidazolilo, piridinilo, pirrolilo, dihidropirrolilo, pirrolidinilo, piperidinilo, piperazinilo, pirimidinilo, morfolinilo, tetrahidrotiofenilo, tiofenilo, ciclohexilo, ciclopentilo, ciclopropilo, ciclobutilo, cicloheptanilo, azetidino, oxetanilo, tiiranilo, oxiranilo, aziridinilo y tiomorfolinilo.

Como se usa en esta memoria "sustituido" significa sustituir un átomo de hidrógeno en una estructura con un átomo o molécula distinta del hidrógeno. Un átomo sustituible tal como un "nitrógeno sustituible" es un átomo que porta un átomo de hidrógeno en al menos una forma de resonancia. El átomo de hidrógeno puede sustituirse por otro átomo o grupo tal como CH<sub>3</sub> o un grupo OH. Por ejemplo, el nitrógeno en una molécula de piperidina es sustituible si el



nitrógeno está unido a un átomo de hidrógeno. Si, por ejemplo, el nitrógeno de una piperidina está unido a un átomo distinto de hidrógeno, el nitrógeno no es sustituible. Un átomo que no es capaz de portar un átomo de hidrógeno en al menos una forma de residencia no es sustituible.

5 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.

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

15 También se incluyen en la presente invención sales, particularmente sales farmacéuticamente aceptables, de los compuestos 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).

20 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, hexina-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.

30 Las sales de adición de bases incluyen aquellas derivadas de bases inorgánicas, tales como hidróxidos, carbonatos, bicarbonatos de amonio o metal alcalino o alcalinotérreo, 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.

35 De acuerdo con otra realización, la presente invención proporciona métodos para producir los compuestos definidos anteriormente. Los compuestos pueden sintetizarse usando técnicas convencionales. Ventajosamente, estos compuestos se sintetizan convenientemente a partir de materiales de partida fácilmente disponibles.

40 Las transformaciones químicas sintéticas y metodologías útiles para sintetizar los compuestos descritos en esta memoria se conocen en la técnica e incluyen, por ejemplo, los descritos en R. Larock, *Comprehensive Organic Transformations* (1989); T. W. Greene y P. G. M. Wuts, *Protective Groups in Organic Synthesis*, 2<sup>a</sup>. 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).

En una realización ilustrativa, un compuesto terapéutico 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%.

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

55 En ciertas realizaciones, un compuesto modulador de sirtuina no tiene ninguna capacidad sustancial para 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 modulador de sirtuina y se elige para que tenga una CE<sub>50</sub> para activar la actividad sirtuina desacetilasa que es al menos 5 veces menor que el CE<sub>50</sub> 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 kits para realizar dichos ensayos pueden comprarse comercialmente. Véase por ejemplo, BioVision, Inc. (Mountain View, CA; red de extensión mundial en biovision.com) y Thomas Scientific (Swedesboro, NJ; red de extensión mundial tomassci.com).

5 En ciertas realizaciones, un compuesto modulador de sirtuina no tiene ninguna capacidad sustancial para modular los homólogos de sirtuina. En ciertas realizaciones, un activador de una proteína sirtuina humana puede no tener ninguna capacidad sustancial para activar una proteína sirtuina procedente de eucariotas inferiores, particularmente levadura o patógenos humanos, a concentraciones (por ejemplo, *in vivo*) efectivas para activar la actividad desacetilasa de la sirtuina humana. Por ejemplo, puede elegirse un compuesto modulador de sirtuina que tenga un CE<sub>50</sub> para activar una sirtuina humana, tal como SIRT1 y/o SIRT3, la actividad desacetilasa que es al menos 5 veces menor que la CE<sub>50</sub> 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 procedente de eucariotas inferiores, particularmente levadura o patógenos humanos, no tiene ninguna capacidad sustancial de inhibir una proteína sirtuina de seres humanos a concentraciones (por ejemplo, *in vivo*) efectivas 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 CI<sub>50</sub> para inhibir una sirtuina humana, tal como SIRT1 y/o SIRT3, la actividad desacetilasa que es al menos 5 veces menor que el valor CI<sub>50</sub> para inhibir 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.

20 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 algunas realizaciones, un compuesto modulador de sirtuina tiene la capacidad para modular tanto una proteína SIRT1 como SIRT3.

25 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*) efectivas para modular la actividad desacetilasa de SIRT1 humana. Por ejemplo, puede elegirse un compuesto modulador de sirtuina que tenga un DE<sub>50</sub> para modular la actividad desacetilasa de SIRT1 humana que sea al menos 5 veces menor que la DE<sub>50</sub> 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 menos. En algunas realizaciones, un modulador de SIRT1 no tiene ninguna capacidad sustancial para modular una proteína SIRT1.

35 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*) efectivas para modular la actividad desacetilasa de SIRT3 humana. Por ejemplo, puede elegirse un compuesto modulador de sirtuina que tenga una DE<sub>50</sub> para modular la actividad desacetilasa de SIRT3 humana que sea al menos 5 veces menor que la DE<sub>50</sub> para modular una o más de SIRT1, SIRT2, SIRT4, SIRT5, SIRT6 o SIRT7 humanas, e incluso más preferiblemente al menos 10 veces, 100 veces o incluso 1000 veces menor. En algunas realizaciones, un modulador de SIRT3 no tiene ninguna capacidad sustancial para modular una proteína SIRT1.

40 En ciertas realizaciones, un compuesto modulador de sirtuina puede tener una afinidad de unión por una proteína sirtuina de aproximadamente 10<sup>-9</sup>M, 10<sup>-10</sup>M, 10<sup>-11</sup>M, 10<sup>-12</sup>M o menos. Un compuesto modulador de sirtuina puede reducir (activador) o incrementar (inhibidor) el Km aparente de una proteína sirtuina para su sustrato o NAD<sup>+</sup> (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 de Km se determinan usando el ensayo de espectrometría de masas descrito en esta memoria. Los compuestos activadores preferidos reducen el Km de una sirtuina para su sustrato o cofactor hasta un grado mayor que el provocado por resveratrol a una concentración similar, o reducen el Km de una sirtuina para su sustrato o cofactor de forma similar al provocado por resveratrol a una concentración menor. Un compuesto modulador de sirtuina puede incrementar la Vmax 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 una DE<sub>50</sub> 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 modulador 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 respecto a la misma concentración de resveratrol. Un compuesto modulador de sirtuina puede tener una DE<sub>50</sub> 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

En ciertos aspectos, la invención proporciona compuestos para usar en métodos para modular el nivel y/o actividad de una proteína sirtuina.

5 En ciertas realizaciones, la invención proporciona 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 la 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 modulador de sirtuina.

15 Si desear 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 una sustancial similitud estructural.

20 En ciertas realizaciones, los compuestos moduladores de sirtuina descritos en esta memoria pueden tomarse solos o en combinación con otros compuestos. En ciertas realizaciones, 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 disminuye el nivel y/o la actividad de una proteína sirtuina puede administrarse con uno o más de los siguientes compuestos: nicotinamida (NAM), suramina; 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'); galato de (-)-epigallocatequina (hidroxi en sitios 5, 7, 3', 4', 5' y éster de galato 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 kit o paquete, tal como un envase blíster u otro paquete de múltiples cámaras; recipientes conectados, sellados de forma separada (por ejemplo, bolsas de aluminio) que pueden separarse por el usuario; o un kit donde el(los) compuesto(s) modulador(es) de sirtuina y otro(s) agente(s) terapéutico(s) están en recipientes separados). Cuando se usan formulaciones separadas, el compuesto modulador de sirtuina puede administrarse simultáneamente, de manera intermitente con, escalonada con, antes de, posterior a o combinaciones de los mismos, la administración de otro agente terapéutico.

45 En ciertas realizaciones, los métodos para reducir, prevenir o tratar enfermedades o trastornos usando un compuesto descrito en esta memoria pueden también comprender el aumento del nivel de proteína de una sirtuina, tal como SIRT1, SIRT2 y/o SIRT3 humana, u 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, aumentando 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 aumentando el nivel de SIRT3 introduciendo un ácido nucleico que codifica la secuencia de aminoácidos expuesta en el núm. de acceso en GenBank AAH01042.

55 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, contiene preferiblemente la estructura central 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 central 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.

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 desacetilar. 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.

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

En un aspecto, la descripción proporciona 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 modulador de sirtuina.

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*.

En un aspecto, las células que pretenden conservarse 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. Adicionalmente, 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 protegerlas contra la apoptosis incluyen células para consumo, por ejemplo, células de mamíferos no humanos (tal como carne) o células vegetales (tal como verduras).

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, para, por ejemplo, alterar, retardar o acelerar los procesos de desarrollo y/o crecimiento.

En otro aspecto, 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, que incluyen, por ejemplo, injertos de tejido sólido, trasplantes de órganos, suspensiones celulares, células madre, células de médula ósea, etc. Las células o el tejido pueden ser un autoinjerto, un aloinjerto, un isoinjerto o un xenoinjerto. Las células o el tejido puede tratarse con el compuesto modulador de sirtuina antes de la administración/implante, de forma concurrente con la

administración/implante y/o posterior a la administración/implante en un sujeto. Las células o el tejido puede 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.

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 aumenta 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 aumenta 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 la dermatitis de contacto irritante y la dermatitis de contacto alérgica), dermatitis atópica (también conocida como eczema alérgico), queratosis actínica, trastornos de queratinización (que incluye eczema), enfermedades de epidermólisis bullosa (que incluye el pénfigo), dermatitis exfoliativa, dermatitis seborreica, eritemas (que incluye 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 curación, que incluyen por ejemplo quemaduras de primer, segundo o tercer grado y/o 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 repartirse local o sistémicamente a un sujeto. En ciertas realizaciones, un compuesto modulador de sirtuina se reparte localmente a un 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; los métodos para reducir el índice de senescencia de un sujeto, por ejemplo, después del inicio de la senescencia; los métodos para extender la vida de un sujeto; los métodos para tratar o prevenir una enfermedad o proceso relacionado con la vida; los métodos para tratar o prevenir una enfermedad o proceso relacionado con la capacidad proliferativa de las células; y los métodos para tratar o prevenir una enfermedad o proceso resultante del daño o muerte celular. En ciertas realizaciones, el método no actúa disminuyendo 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 para aumentar en general la vida de sus células y de proteger sus células frente al estrés y/o frente a 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 suave 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 cardiaca, artritis, alta presión arterial y enfermedad de Alzheimer. Otros procesos que pueden tratarse incluyen trastornos oculares, por ejemplo, asociados con el envejecimiento del ojo, tales 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 la 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; líquen 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.

5 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.

#### Enfermedad cardiovascular

10 En otra realización, la descripción proporciona 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.

15 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 son tratables o previsibles con el uso de los compuestos y métodos descritos en esta memoria 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 poplíteas. Otras vasculopatías que pueden tratarse o prevenirse incluyen aquellas relacionadas con la agregación plaquetaria, las arteriolas retinianas, las arteriolas glomerulares, los vasos de los nervios, arteriolas cardíacas 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.

25 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.

30 En ciertas realizaciones, un compuesto modulador de sirtuina que aumenta el nivel y/o la actividad de una proteína sirtuina puede administrarse como parte de una terapia de combinación con otro agente cardiovascular. En ciertas realizaciones, un compuesto modulador de sirtuina que aumenta el nivel y/o la actividad de una proteína sirtuina puede administrarse como parte de una terapia de combinación 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 terapia de combinación con otro agente cardiovascular.

#### Muerte celular/Cáncer

35 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 que probablemente van a recibir una dosis de radiación o toxina. En ciertas realizaciones, la dosis de radiación o toxina se recibe como parte de un procedimiento relacionado con la actividad o médico, por ejemplo, administrada 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.

40 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 calórica se ha relacionado con una reducción en la incidencia de trastornos relacionados con la edad que incluyen 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 en el tumor. El cáncer de las células sanguíneas, por ejemplo, leucemia, puede tratarse administrando un compuesto modulador en la corriente sanguínea 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 co-administrarse con compuestos moduladores descritos en esta memoria que tienen actividad anti-cancerígena, por ejemplo, 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 sí 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 los 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 ( $DE_{50}$ ) 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  $DE_{50}$  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 (IT) 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 IT para un régimen quimioterapéutico convencional solo, e incluso más preferiblemente unas 5 veces, 10 veces o incluso 25 veces mayor.

#### 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 largo periodo de función cerebral normal, debido a la degeneración progresiva (por ejemplo, disfunción y muerte de las células nerviosas) de regiones cerebrales específicas. De forma alternativa, las enfermedades neurodegenerativas pueden tener un inicio rápido, tal como las asociadas con traumatismo o toxinas. El inicio real de la degeneración cerebral puede preceder a la expresión clínica en muchos años. Los ejemplos de enfermedades neurodegenerativas incluyen, aunque no están limitadas a, enfermedad de Alzheimer (EA), enfermedad de Parkinson (EP), enfermedad de Huntington (EH), esclerosis lateral amiotrófica (ELA; 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.

EA 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 están relacionadas con la muerte de tipos específicos de células cerebrales y la ruptura 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. EP es un trastorno del SNC que da por resultado movimientos corporales incontrolados, rigidez, temblor y disquinesia, y está asociada con la muerte de células cerebrales en un área del cerebro que produce dopamina. La ELA (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.

EH 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 almacenamiento de glucolípidos donde el gangliósido GM2 y sustratos glucolípidicos relacionados para la  $\beta$ -hexosaminidasa se acumulan en el sistema nervioso y desencadenan la neurodegeneración aguda.

Es bien conocido 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, EEB en ganado (enfermedad de las vacas locas), enfermedad de Scrapie en ovejas y cabras, y encefalopatía espongiiforme felina (EEF) 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 implica axonopatía. La axonopatía distal es un tipo de neuropatía periférica que resulta de algún desarreglo metabólico o tóxico 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.

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 (EM), incluyendo EM con recaída y EM monosintomática, y otros procesos desmielinantes, tales como, por ejemplo, polineuropatía desmielinante inflamatoria crónica (PDIC), 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 el traumatismo a los nervios, incluyendo traumatismo debido a enfermedad, lesión (incluida una intervención quirúrgica) o traumatismo ambiental (por ejemplo, neurotoxinas, alcoholismo, etc.).

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 - 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.

Las 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).

En otra realización, puede usarse un compuesto activador de sirtuina para tratar o prevenir una enfermedad de poliglutamina. Enfermedades de poliglutamina ilustrativas incluyen atrofia muscular espinobulbar (enfermedad de Kennedy), enfermedad de Huntington (EH), atrofia dentato-rubro-pálido-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, la descripción proporciona 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. Típicamente, la gravedad del daño que puede prevenirse dependerá en gran parte en el grado de reducción del flujo sanguíneo a la célula y de la duración de la reducción. En ciertas realizaciones, 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.

Otro aspecto abarca administrar un compuesto activador de sirtuina a un sujeto para tratar un proceso isquémico del sistema nervioso central. Puede tratarse un número de procesos isquémicos del sistema nervioso central mediante los compuestos activadores de sirtuina descritos en esta memoria. En ciertas realizaciones, el proceso isquémico es un ictus que da por resultado cualquier tipo de daño isquémico del 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 etiología 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.

En aún otro aspecto, un compuesto activador de sirtuina puede administrarse para reducir el tamaño del infarto del núcleo isquémico después de un proceso isquémico del sistema nervioso central. Además, un compuesto activador de sirtuina puede también administrarse de forma beneficiosa para reducir el tamaño de la penumbra isquémica o zona de transición después de un proceso isquémico del sistema nervioso central.



En ciertas realizaciones, 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 procesos. Por lo tanto, un régimen de fármacos de combinación puede incluir uno o más activadores de sirtuina y uno o más agentes anti-neurodegeneración.

## 5 Trastornos de coagulación de la sangre

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 así la formación de coágulos de sangre en el momento y el lugar equivocados.

10 Por consiguiente, la presente descripción proporciona tratamientos de anticoagulación y antitrombóticos que apuntan a inhibir la formación de coágulos sanguíneos para prevenir o tratar trastornos de coagulación de la sangre, tales como infarto de miocardio, ictus, pérdida de una extremidad por arteriopatía periférica o embolia pulmonar.

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

20 En un aspecto, la descripción proporciona 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 tromboticos. Como se usa en esta memoria, el término "trastorno trombotico" incluye cualquier trastorno o proceso caracterizado por coagulación o actividad hemostática excesiva o indeseada, o un estado hipercoagulable. Los trastornos tromboticos incluyen enfermedades o trastornos que implican la adhesión plaquetaria 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.

25 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 procesos. 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 anti-coagulación o anti-trombosis.

## 35 Control del peso

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, dieta, nivel de actividad, ingesta de medicación o diversas combinaciones de los mismos.

45 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 sanguínea, hipertensión, colesterol alto en sangre, dislipidemia, diabetes de tipo 2, resistencia a insulina, intolerancia a la glucosa, hiperinsulinemia, arteriopatía coronaria, angina de pecho, insuficiencia cardiaca 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 la insulina en respuesta a las terapias de combinación para el SIDA.

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 adiposas, o bien *in vitro* o *in vivo*. Dichos métodos pueden usarse para tratar o prevenir la obesidad.

5 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 que tiene sobrepeso, obeso, o un sujeto propenso a tener sobrepeso o convertirse en obeso. El método puede comprender administrar diariamente o cada dos días, o una vez por semana, una dosis, por ejemplo, en forma de una píldora, a un sujeto. La dosis puede ser una "dosis reductora del apetito".

10 En una realización ilustrativa, los compuestos moduladores de sirtuina que aumentan el nivel y/o la actividad de una proteína sirtuina pueden 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.

15 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.

#### Trastornos metabólicos/Diabetes

20 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 pre-diabético, diabetes de tipo II y/o complicaciones de los mismos. La administración de un compuesto modulador de sirtuina que aumenta 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 tiene resistencia a la insulina u otro síntoma precursor de diabetes de tipo II, que tiene diabetes de tipo II o que es propenso a desarrollar cualquiera de estos procesos. Por ejemplo, el sujeto puede ser un sujeto que tiene resistencia a insulina, por ejemplo, que tiene 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.

30 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 anti-diabéticos.

#### Enfermedades inflamatorias

35 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 inicio de la inflamación. Cuando se usan de manera profiláctica, los compuestos se proporcionan preferiblemente con antelación a cualquier respuesta o síntoma inflamatorio. La administración de los compuestos puede prevenir o atenuar las respuestas o síntomas inflamatorios.

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 o prevenir alergias y procesos respiratorios, que incluyen asma, bronquitis, fibrosis pulmonar, rinitis alérgica, toxicidad por oxígeno, enfisema, bronquitis crónica, síndrome de distrés respiratorio agudo 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.

45 De forma adicional, los compuestos moduladores de sirtuina que aumentan el nivel y/o actividad de una proteína sirtuina pueden usarse para tratar enfermedades autoinmunes, y/o inflamación asociada con enfermedades autoinmunes, tal como artritis, que incluye artritis reumatoide, artritis psoriásica y espondilitis anquilosante, además de enfermedades autoinmunes del órgano-tejido (por ejemplo, síndrome de Raynaud), colitis ulcerosa, enfermedad de Crohn, mucositis oral, escleroderma, miastenia grave, rechazo al trasplante, choque de endotoxinas, sepsis, psoriasis, eczema, dermatitis, esclerosis múltiple, tiroiditis autoinmune, uveitis, lupus eritematoso sistémico, enfermedad de Addison, enfermedad poliglandular autoinmune (también conocida como síndrome poliglandular autoinmune) y enfermedad de Grave.

55 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 en combinación con otros compuestos útiles para tratar o prevenir la inflamación.

## Sofocos

5 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 incluye el uso de compuestos moduladores de sirtuina que aumentan el nivel y/o la actividad de una proteína sirtuina, solos o en combinación 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 gravedad de los sofocos en mujeres menopáusicas y post-menopáusicas.

10 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 respecto 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 ilustrativos incluyen, por ejemplo, niacina, raloxifeno, antidepresivos, anti-psicóticos, agentes quimioterapéuticos, bloqueantes del canal de calcio y antibióticos.

25 En ciertas realizaciones, 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 agente vasodilatador o 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.

30 En otra realización, la descripción proporciona 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 anti-psicóticos. 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.

40 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 (IRS) 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 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 por bloqueantes del canal de calcio, tal como amlodipina.

45 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 por antibióticos. Por ejemplo, los compuestos moduladores de sirtuina que aumentan el nivel y/o la actividad de una proteína sirtuina pueden usarse en combinación con levofloxacina.

## Trastornos oculares

50 Un aspecto de la presente descripción es un método para inhibir, reducir o tratar de otro modo el deterioro de la visión administrando a un paciente una dosis terapéutica de un modulador de sirtuina seleccionado de un compuesto descrito en esta memoria o una sal, profármaco o un derivado metabólico farmacéuticamente aceptable del mismo.

55 En ciertos aspectos de la descripción, el deterioro de la visión está provocado por daño del nervio óptico o del sistema nervioso central. En realizaciones particulares, el daño del nervio óptico está provocado por alta presión intraocular, tal como aquella creada por el glaucoma. En otras realizaciones particulares, el daño del 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 de la descripción 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 alteración de la mácula (por ejemplo, degeneración macular exudativa o no exudativa).

5 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 de 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 de Irvine-Gass, orificio macular, membranas neovasculares sub-retinianas, neurorretinitis difusa subaguda unilateral, edema macular cistoide no pseudofáquico, 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 pro tracción, 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.

20 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 retiniana externa progresiva secundaria a VIH u otras enfermedades oculares asociadas a VIH y asociada a otras inmunodeficiencias. Además, 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.

Un aspecto de la descripción consiste en 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.

30 Otro aspecto de la descripción es un método para inhibir, reducir o tratar el deterioro de la visión en un sujeto que se somete a cirugía, incluyendo cirugía ocular u otras cirugías realizadas en posición boca abajo, 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.

35 Otro aspecto de la descripción 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 (DMAE), daño retiniano y similares, administrando al sujeto que necesita dicho tratamiento una dosis terapéutica de un modulador de sirtuina descrito en esta memoria.

40 Otro aspecto de la descripción es la prevención o el tratamiento del 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 puede incluir el provocado por CRT o exposición a la luz solar o UV.

45 En ciertas realizaciones, 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 procesos. 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.

50 En ciertas realizaciones, 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 ciertas realizaciones, 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

55 En ciertas realizaciones, la descripción proporciona métodos para tratar enfermedades o trastornos que se beneficiarían de 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 mayor actividad mitocondrial 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 de la mayor actividad mitocondrial incluyen enfermedades o trastornos asociados con la disfunción mitocondrial.

5 En ciertas realizaciones, los métodos para tratar enfermedades y trastornos que se beneficiarían con la mayor actividad mitocondrial pueden comprender identificar a un sujeto que padece una disfunción mitocondrial. Los métodos para el diagnóstico de una disfunción mitocondrial pueden implicar análisis genéticos moleculares, patológicos y/o bioquímicos. Las enfermedades y trastornos asociados con la 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 mayor actividad mitocondrial generalmente incluyen, por ejemplo, enfermedades en las que la lesión oxidativa mediada por radicales libres conduce a la degeneración tisular, enfermedades en las que las células se someten inapropiadamente a apoptosis y enfermedades en las que las células no pueden someterse a apoptosis.

15 En ciertas realizaciones, la descripción proporciona métodos para tratar una enfermedad o trastorno que se beneficiaría de la mayor actividad mitocondrial 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.

20 En realizaciones ilustrativas, la descripción proporciona métodos para tratar enfermedades o trastornos que se beneficiarían de la mayor actividad mitocondrial, administrando a un sujeto una cantidad terapéuticamente efectiva de un compuesto activador de sirtuina. Las enfermedades 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 óxido nítrico, hipoxia, etc.), y desregulación mitocondrial.

30 La 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 la velocidad de deterioro en las capacidades funcionales musculares y para mejorar el estado funcional muscular en pacientes con distrofia muscular.

35 En ciertas realizaciones, los compuestos moduladores 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 cardíacos, 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).

40 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.

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

#### Rendimiento muscular

50 En otras realizaciones, la descripción proporciona 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 individuos sanos, 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, aumentar 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.

55 El rendimiento 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 contracción muscular, un aumento en la amplitud de la contracción muscular, un acortamiento en el

5 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 mayor nivel de fortaleza, velocidad y resistencia en su rendimiento, tal como, por ejemplo, culturistas, ciclistas, corredores de larga distancia, corredores de corta distancia, etc. El mayor rendimiento deportivo se manifiesta por la capacidad para superar la fatiga muscular, capacidad para mantener la actividad durante periodos de tiempo más largos, y tener un entrenamiento más efectivo.

En el campo del rendimiento 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.

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

15 En ciertas realizaciones, la invención proporciona nuevas composiciones dietéticas que comprenden moduladores de sirtuina, un método para su preparación y un método para usar las composiciones para mejorar el rendimiento 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 que exigen esfuerzo muscular repetido. Dichas composiciones dietéticas pueden comprender adicionalmente electrolitos, cafeína, vitaminas, carbohidratos, etc.

#### Otros usos

20 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.

25 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 para tolerar las condiciones de la granja por más tiempo.

30 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 ciertas realizaciones, 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.

35 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 proteínas de forma recombinante pueden también tratarse como se describe en esta memoria.

40 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).

45 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.

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

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 mediante un agente conocido por modular la sirtuina, y monitorizar o determinar el nivel de modulación de la sirtuina en presencia del agente de ensayo respecto a 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 procedentes 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 kit 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 el uso en los ensayos pueden ser proteínas sirtuina de longitud completa o partes de las mismas. Ya que se ha mostrado en esta memoria que los compuestos activadores parecen interactuar con el extremo N de SIRT1, las proteínas para el uso en los ensayos incluyen partes N-terminal de sirtuinas, por ejemplo, aproximadamente los aminoácidos 1-176 o 1-255 de SIRT1; aproximadamente los aminoácidos 1-174 o 1-252 de Sir2.

30 En ciertas realizaciones, 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, donde un nivel menor de acetilación del sustrato en presencia del agente de ensayo respecto a 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 respecto a la ausencia del agente de ensayo indica que el agente de ensayo inhibe la desacetilación mediante la sirtuina.

35 En otra realización, el ensayo de cribado puede detectar la formación de un producto 2'/3'-O-acetil-ADP-ribosa de desacetilación dependiente de NAD mediada por sirtuina. Este producto de O-acetil-ADP-ribosa se forma en cantidades equimolares con el producto peptídico desacetilado de la reacción de desacetilación de sirtuina. Por consiguiente, un ensayo de cribado puede incluir (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 la cantidad de formación de O-acetil-ADP-ribosa, en donde un aumento en la formación de O-acetil-ADP-ribosa en presencia del agente de ensayo respecto a la ausencia del agente de ensayo indica que el agente de ensayo estimula la desacetilación mediante la sirtuina, mientras que una disminución en la formación de O-acetil-ADP-ribosa en presencia del agente de ensayo respecto a la ausencia del agente de ensayo indica que el agente de ensayo inhibe la desacetilación mediante la sirtuina.

45 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 menor de acetilación del sustrato en presencia del agente de ensayo respecto a 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 respecto a 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  $\mu$ M a aproximadamente 10 mM, preferiblemente de aproximadamente 10  $\mu$ M a 1 mM, incluso más preferiblemente de aproximadamente 100  $\mu$ M a 1 mM, tal como aproximadamente 200  $\mu$ M. Un sustrato preferido es una lisina acetilada, por ejemplo,  $\epsilon$ -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  $\mu$ M, preferiblemente de aproximadamente 0,1 a 10  $\mu$ M, tal como 1  $\mu$ M. La incubación de células con el compuesto de ensayo y el sustrato puede realizarse durante aproximadamente 10 minutos a 5 horas, preferiblemente durante aproximadamente 1-3 horas. Ya que TSA inhibe todos los HDAC de clase I y de clase II, y que ciertos sustratos, por ejemplo, Fluor de Lys,

es un sustrato pobre para SIRT2 e incluso un sustrato peor para SIRT3-7, dicho ensayo puede usarse para identificar moduladores de SIRT1 *in vivo*.

#### 5. Composiciones farmacéuticas

5 Los compuestos descritos en esta memoria pueden formularse de un modo convencional usando uno o más vehículos o excipientes fisiológicamente o farmacéuticamente aceptables. Por ejemplo, los compuestos y sus sales y solvatos farmacéuticamente aceptables pueden formularse para la administración, por ejemplo, por inyección (por ejemplo, SubQ, IM, IP), inhalación o insuflación ( bien a través de la boca o la nariz) o administración oral, bucal, sublingual, transdérmica, nasal, parenteral o rectal. En ciertas realizaciones, un compuesto 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 cefalorraquídeo, etc.).

15 Los compuestos pueden formularse para una diversidad de modos de administración, incluyendo 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.

20 Para la administración oral, las composiciones farmacéuticas pueden tomar la forma, por ejemplo, de comprimidos, pastillas para chupar o cápsulas preparadas por medios convencionales con excipientes farmacéuticamente aceptables tales como agentes ligantes (por ejemplo, almidón de maíz pregelatinizado, polivinilpirrolidona o hidroxipropilmetilcelulosa ); cargas (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 constitución 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 arábiga); 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.

35 Para la administración por inhalación (por ejemplo, reparto pulmonar), los compuestos pueden repartirse convenientemente en forma de una presentación de pulverización en 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 el 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.

40 Los compuestos pueden formularse para administración parenteral por inyección, por ejemplo, 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 constitución con un vehículo adecuado, por ejemplo, agua estéril libre de pirógenos, antes de su uso.

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

55 Además de las formulaciones previamente descritas, los compuestos también pueden formularse en forma de una preparación de depósito. Dichas formulaciones de actuación prolongada pueden administrarse por implantación (por ejemplo, de forma subcutánea o intramuscular) o por inyección intramuscular. Así, por ejemplo, los compuestos 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 el reparto 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 incapaz por sí mismo 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 alteración transitoria de la integridad del BBB por alteración 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.
- 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 de fosfatidilcolinas. Los liposomas abarcan todos los tipos de liposomas, que incluyen, aunque no están limitados a, vesículas unilamelares pequeñas, vesículas unilamelares grandes y vesículas multilamelares.
- 15 Otra forma de producir una formulación, particularmente una disolución, de un compuesto descrito en esta memoria, es a través del uso de ciclodextrina. Por ciclodextrina se entiende  $\alpha$ -,  $\beta$ -, o  $\gamma$ -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 ajustarse a las cavidades en búsqueda de lipófilos de la molécula de ciclodextrina.
- 20 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, tales como pacientes de edad o pediátricos, que tienen dificultad para deglutir las típicas formas de dosificación sólidas, como comprimidos y comprimidos oblongos. Adicionalmente, 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 para determinar la cantidad de enmascaramiento del sabor y el grado al cual el paciente puede objetar aspereza en la garganta del agente activo.
- 25 Las composiciones farmacéuticas (que incluyen preparados cosméticos) 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 compuestos descritos en esta memoria. En otras realizaciones, la composición farmacéutica comprende: (i) 0,05 a 1000 mg de los compuestos de la invención, o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos, y (ii) 0,1 a 2 gramos de uno o más excipientes farmacéuticamente aceptables.
- 30 En algunas realizaciones, un compuesto descrito en esta memoria se incorpora en una formulación tópica que contiene un vehículo tópico que se ajusta generalmente 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 una pomada, loción, crema, microemulsión, gel, aceite, disolución o similar, y puede estar comprendido por un material de origen que se da de forma natural o sintética. Es preferible que el vehículo seleccionado no afecte de forma adversa 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, parabenes, ceras y similares.
- 35 Las formulaciones pueden ser pomadas, lociones, cremas, microemulsiones y geles incoloros e inodoros.
- 40 Los compuestos pueden incorporarse en pomadas, que en general son preparados semisólidos típicamente se basan en vaselina o derivados de vaselina. La base de pomada específica a usar, como se apreciará por los expertos en la técnica, es una que proporcionará el óptimo reparto del fármaco y, preferiblemente, proporcionará otras características deseadas también, por ejemplo, emolencia o similares. Al igual que con otros transportes o vehículos, una base de pomada sería inerte, estable, no irritante y no sensibilizante.
- 45 Los compuestos pueden incorporarse en lociones, que en general son preparados a aplicar a la superficie de la piel sin fricción, y son preparados típicamente líquidos o semilíquidos en las que las 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.
- 50 Los compuestos 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
- 55

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.

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

10 Los compuestos 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 líquido de transporte (geles monofásicos). Aunque los geles comúnmente emplean líquidos acuosos de transporte, también pueden usarse alcoholes y aceites como el vehículo líquido.

15 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).

20 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.

25 Las afecciones del ojo pueden tratarse o prevenirse, por ejemplo, por inyección sistémica, tópica, intraocular de un compuesto, o por inserción de un dispositivo de liberación sostenida que libera un compuesto. Un compuesto puede repartirse en un vehículo oftálmico farmacéuticamente aceptable, de modo que el compuesto se mantiene 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, una pomada, aceite vegetal o un material encapsulante.  
30 Alternativamente, los compuestos de la invención pueden inyectarse directamente en el humor vítreo y acuoso. En una alternativa adicional, los compuestos pueden administrarse sistémicamente, tal como por inyección o infusión intravenosa, para tratamiento del ojo.

Los compuestos descritos en esta memoria pueden almacenarse en medio libre de oxígeno. Por ejemplo, una composición puede prepararse en una cápsula hermética para administración oral, tal como Capsugel de Pfizer, Inc.

35 Las células, por ejemplo, tratadas *ex vivo* con un compuesto como se describe en esta memoria, 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 médica, el lector se refiere a 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.

40 La toxicidad y la eficacia terapéutica de los compuestos pueden determinarse por procedimientos farmacéuticos estándar en cultivos celulares o animales experimentales. La  $DL_{50}$  es la dosis mortal para el 50% de la población. La  $DE_{50}$  es la dosis terapéuticamente efectiva en el 50% de la población. La relación de dosis entre efectos tóxicos y terapéuticos ( $DL_{50}/DE_{50}$ ) es el índice terapéutico. Se prefieren los compuestos que muestran grandes índices terapéuticos. Mientras pueden usarse compuestos que muestran efectos secundarios tóxicos, se deberá tener cuidado 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.

45 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  $DE_{50}$  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 alcanzar un intervalo de concentración en plasma circulante que incluye la  $CI_{50}$  (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 de forma  
50 más precisa las dosis útiles en seres humanos. Los niveles en plasma pueden medirse, por ejemplo, por cromatografía líquida de alto rendimiento.

## 6. Kits

También se proporcionan en esta memoria kits, por ejemplo, kits con propósitos terapéuticos o kits para modular la vida de las células o modular la apoptosis. Un kit puede comprender uno o más compuestos como los descritos en esta memoria, por ejemplo, en dosis pre-medidas. Un kit 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 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 compuesto 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 que es fácilmente evidente que las formas de dosificación separadas está previsto que se vendan y se administren como parte del mismo régimen. El compuesto y el otro agente preferiblemente se envasan juntos en un envase de tipo blíster u otro envase de múltiples cámaras, o como recipientes conectados, sellados por separado (tal como bolsas de aluminio o similares) que el usuario puede separar (por ejemplo, desgarrando en líneas de corte entre los dos envases).

En aún otra realización, la invención proporciona un kit que comprende, en recipientes separados, a) un compuesto 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 las características de la técnica. Dichas técnicas se explican totalmente 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).

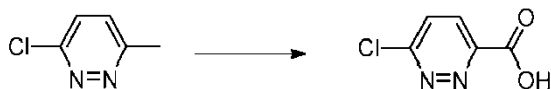
**Ejemplos**

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.

La presente invención está dirigida solo a compuestos de fórmula (I) y los ejemplos específicos abarcados por el conjunto actual de reivindicaciones. Todas las demás estructuras son realizaciones de referencia.

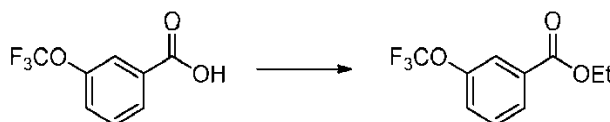
Ejemplo 1. Preparación de N-(tiazol-2-il)-3-(3-(trifluorometoxi)fenil)-[1,2,4]triazolo[4,3-b]piridazina-6-carboxamida:

Etapa 1. Síntesis de ácido 6-cloropiridazina-3-carboxílico:



A una disolución agitada de 3-cloro-6-metilpiridazina (5,0 g, 39,0 mmoles) en H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> concentrado (20,0 mL) se añadió K<sub>2</sub>Cr<sub>2</sub>O<sub>7</sub> (13,7 g, 46,8 mmoles) en porciones a 0°C. Después de la adición la mezcla se calentó a 50°C durante 2 h, la mezcla se vertió en hielo. La fase acuosa se extrajo con EtOAc seis veces. La fase orgánica se secó y se concentró para dar ácido 6-cloropiridazina-3-carboxílico (2,5 g, 40%). MS (ESI) calcd para C<sub>5</sub>H<sub>3</sub>ClN<sub>2</sub>O<sub>2</sub>: 157,99.

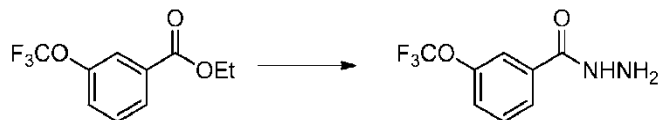
Etapa 2. Síntesis de 3-(trifluorometoxi)benzoato de etilo:



Una mezcla de ácido 3-(trifluorometoxi)benzoico (2,9 g, 14,55 mmoles) y H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> concentrado (1,0 mL) en EtOH (50,0 mL) se calentó a reflujo durante 16 h. La mezcla se concentró y repartió entre agua y acetato de etilo (EtOAc). La

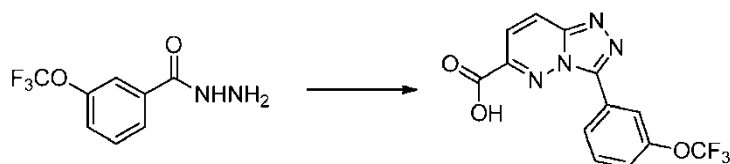
fase orgánica se secó y se concentró al vacío para dar 3-(trifluorometoxi)benzoato de etilo (2,9 g, 85%). MS (ESI) calcd para  $C_{10}H_9F_3O_3$ : 234,05.

Etapa 3. Síntesis de 3-(trifluorometoxi)benzohidrazida:



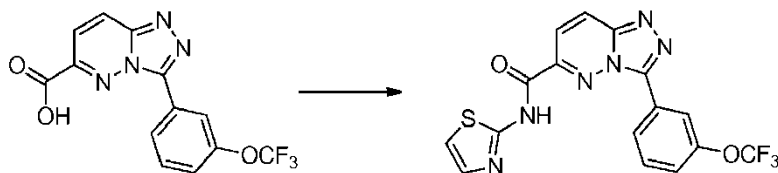
- 5 Una mezcla de 3-(trifluorometoxi)benzoato de etilo (1,0 g, 4,27 mmoles), hidrato de hidrazina (5,0 mL) en etanol (EtOH) (50,0 mL) se calentó a reflujo durante 16 h. La mezcla se concentró al vacío para dar 3-(trifluorometoxi)benzohidrazida (0,9 g, rendimiento 96%). MS (ESI) calcd para  $C_8H_7F_3N_2O_2$ : 220,05.

Etapa 4. Síntesis de ácido 3-(3-(trifluorometoxi)fenil)-[1,2,4]triazolo[4,3-b]piridazina-6-carboxílico:



- 10 Una mezcla de 3-(trifluorometoxi)benzohidrazida (0,6 g, 2,73 mmoles), ácido 6-cloropiridazina-3-carboxílico (0,65 g, 4,09 mmoles) e hidrocloreto de trietilamina (1,1 g, 8,18 mmoles) en xileno (50,0 mL) se calentó a  $120^\circ\text{C}$  durante 6 h. La mezcla se concentró al vacío y el residuo se purificó por cromatografía en columna para dar ácido 3-(3-(trifluorometoxi)fenil)-[1,2,4]triazolo[4,3-b]piridazina-6-carboxílico (0,23 g, rendimiento 28%). MS (ESI) calcd para  $C_{13}H_7F_3N_4O_3$ : 324,05.
- 15 Este procedimiento de acoplamiento general podría usarse para preparar una variedad de [1,2,4]triazolo[4,3-b]piridazina-6-carboxilatos 3-sustituídos sustituyendo el resto de ácido benzoico apropiado por ácido 3-(trifluorometoxi)benzoico en la etapa 2.

Etapa 5. Síntesis de N-(tiazol-2-il)-3-(3-(trifluorometoxi)fenil)-[1,2,4]triazolo[4,3-b]piridazina-6-carboxamida:

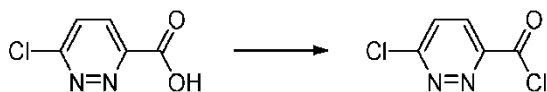


- 20 Se tomó tiazol-2-amina (37,0 mg, 0,37 mmoles) en *N,N*-dimetilformamida (DMF) (3,0 mL) junto con ácido 3-(3-(trifluorometoxi)fenil)-[1,2,4]triazolo[4,3-b]piridazina-6-carboxílico (80,0 mg, 0,247 mmoles), hexafluorofosfato de (2-(7-aza-1H-benzotriazol-1-il)-1,1,3,3-tetrametiluronio) (HATU) (141,0 mg, 0,37 mmoles) y *N,N*-diisopropiletilamina (DIEA) (48,0 mg, 0,37 moles). La mezcla de reacción resultante se agitó a  $60^\circ\text{C}$  durante 12h. Se añadió agua y la fracción acuosa se extrajo con EtOAc. La fase orgánica se secó con  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ , se concentró y se purificó por cromatografía en columna para dar N-(tiazol-2-il)-3-(3-(trifluorometoxi)fenil)-[1,2,4]triazolo[4,3-b]piridazina-6-carboxamida (30,0 mg, rendimiento del 30%). MS (ESI) calcd para  $C_{16}H_9F_3N_6O_2S$ : 406,05; encontrado: 406,95 [M+H].

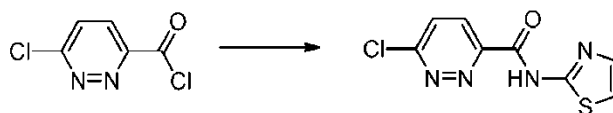
- Este procedimiento de acoplamiento general podría usarse para preparar una variedad de 3-(3-(trifluorometil)fenil)-, y 3-(3-(trifluorometoxi)fenil)-[1,2,4]triazolo[4,3-b]piridazina-6-carboxamidas sustituyendo el resto amina apropiado para tiazol-2-amina.

Ejemplo 2. Preparación de 3-(3-morfolinofenil)-N-(tiazol-2-il)-[1,2,4]triazolo[4,3-b]piridazina-6-carboxamida:

Etapa 1. Síntesis de cloruro de 6-cloropiridazina-3-carbonilo:

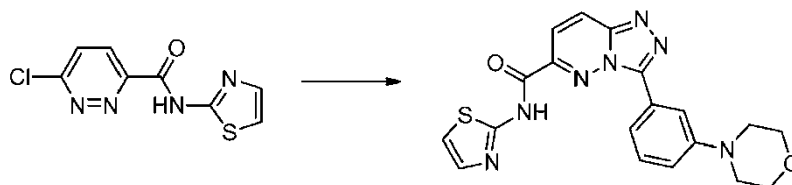


- 35 A una disolución de ácido 6-cloropiridazina-3-carboxílico (700,0 mg, 4,42 mmoles) en diclorometano (DCM) (15,0 mL) se añadió dicloruro de oxalilo (560,0 mg, 4,42 mmoles) en gotas. Después se añadieron 2 gotas de DMF y la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 2 h. La mezcla se concentró para dar cloruro de 6-cloropiridazina-3-carbonilo (690,0 mg, 88%). MS (ESI) calcd para  $C_5H_2Cl_2N_2O$ : 175,95. Etapa 2. Síntesis de 6-cloro-N-(tiazol-2-il)piridazina-3-carboxamida:



5 A una disolución de cloruro de 6-cloropiridazina-3-carbonilo (690,0 mg, 3,90 mmoles) en DCM (20,0 mL) se añadió tiazol-2-amina (586,0 mg, 5,85 mmoles). Se añadió trietilamina (1,18 g, 11,70 mmoles), y la reacción se agitó a temperatura ambiente durante 2 h. La reacción se apagó con agua y la fase orgánica se lavó con HCl acuoso 1,0 N, después se lavó con NaHCO<sub>3</sub> saturado, se secó, se concentró y se purificó por cromatografía en columna para dar 6-cloro-N-(tiazol-2-il)piridazina-3-carboxamida (655,0 mg, 70%). MS (ESI) calcd para C<sub>8</sub>H<sub>5</sub>ClN<sub>4</sub>OS: 239,99.

Este procedimiento de acoplamiento general podría usarse para preparar una variedad de 6-cloro-piridazina-3-carboxamidas sustituyendo el resto amina apropiado por tiazol-2-amina. Etapa 3. Síntesis de 3-(3-morfolinofenil)-N-(tiazol-2-il)-[1,2,4]triazolo[4,3-b]piridazina-6-carboxamida:

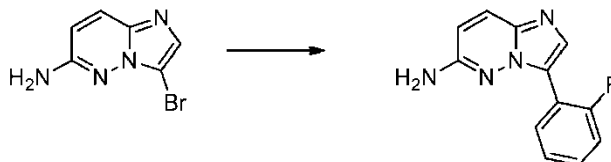


10 Una mezcla de 3-morfolinobenzohidrazida (83,0 mg, 0,374 mmoles), 6-cloro-N-(tiazol-2-il)piridazina-3-carboxamida (90,0 mg, 0,374 mmoles) y trietilamina (114,0 mg, 1,12 mmoles) en xileno (30,0 mL) se calentó a 120°C durante 6 h. La mezcla se concentró al vacío y el residuo se purificó por cromatografía en columna para dar 3-(3-morfolinofenil)-N-(tiazol-2-il)-[1,2,4]triazolo[4,3-b]piridazina-6-carboxamida (50,0 mg, rendimiento 32,8%). MS (ESI) calcd para C<sub>19</sub>H<sub>17</sub>N<sub>7</sub>O<sub>2</sub>S: 407,12; encontrado: 407,98 [M+H].

Este procedimiento de acoplamiento general podría usarse para preparar una variedad de 3-(3-morfolinofenil)-, y 3-(3-(metilsulfonil)fenil)-[1,2,4]triazolo[4,3-b]piridazina-6-carboxamidas sustituyendo la benzohidrazida apropiada por 3-morfolinobenzohidrazida.

Ejemplo 3. Preparación de N-(3-(2-fluorofenil)imidazo[1,2-b]piridazin-6-il)-1-metil-1H-pirazol-3-carboxamida:

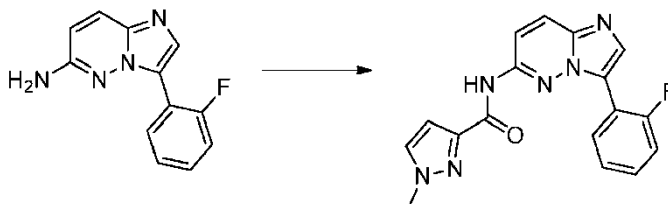
20 Etapa 1. Síntesis de 3-(2-fluorofenil)imidazo[1,2-b]piridazin-6-amina:



25 3-Bromoimidazo[1,2-b]piridazin-6-amina (1,8 g, 7,0 mmoles), ácido 2-fluorofenilborónico (1,33 g, 7,0 mmoles), Cs<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (4,57 g, 14,0 mmoles) y Pd[PPh<sub>3</sub>]<sub>4</sub> (0,4 g, 0,35 mmoles) se disolvieron en una mezcla de disolvente (dioxano:agua:etanol = 4:1:10 gotas). La reacción se agitó a 100°C durante aproximadamente 4 h. La mezcla se purificó en una columna en gel de sílice para dar 3-(2-fluorofenil)imidazo[1,2-b]piridazin-6-amina (1,05 g, 55%). MS (ESI) calcd para C<sub>12</sub>H<sub>9</sub>FN<sub>4</sub>: 228,08.

Este procedimiento de acoplamiento general podría usarse para preparar una variedad de imidazo[1,2-b]piridazin-6-aminas 3-sustituidas sustituyendo el ácido borónico o éster borónico apropiado por ácido 2-fluorofenilborónico.

Etapa 2. Síntesis de N-(3-(2-fluorofenil)imidazo[1,2-b]piridazin-6-il)-1-metil-1H-pirazol-3-carboxamida:



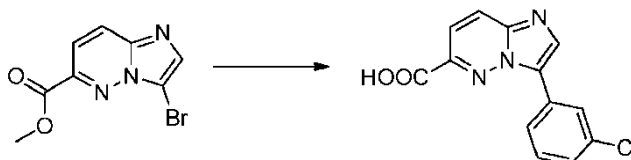
30 A una mezcla de cloruro de 1-metil-1H-pirazol-3-carbonilo (38,0 mg, 0,263 mmoles), 3-(2-fluorofenil)imidazo[1,2-b]piridazin-6-amina (60,0 mg, 0,263 mmoles) en DCM (8,0 mL) se añadió Et<sub>3</sub>N (53,1 mg, 0,526 mmoles) a 25°C. La reacción se dejó agitar durante 1 h, después se concentró y se añadió MeOH. El precipitado se recogió y se lavó con MeOH y se secó para dar N-(3-(2-fluorofenil)imidazo[1,2-b]piridazin-6-il)-1-metil-1H-pirazol-3-carboxamida. MS (ESI) calcd para C<sub>17</sub>H<sub>13</sub>FN<sub>6</sub>O: 336,11; encontrado: 336,81 [M+H].

35

Este procedimiento de acoplamiento general podría usarse para preparar una variedad de 3-(2-fluorofenil)-, 3-(3-fluorofenil)-, 3-(2-clorofenil)-, 3-(3-clorofenil)-, y 3-(3-(trifluorometil)fenil)-imidazo[1,2-b]piridazin-6-il)carboxamidas sustituyendo el cloruro de ácido apropiado por cloruro de 1-metil-1H-pirazol-3-carbonilo.

Ejemplo 4. Preparación de 3-(3-clorofenil)-N-(6-(trifluorometil)piridin-2-il)imidazo[1,2-b]piridazina-6-carboxamida:

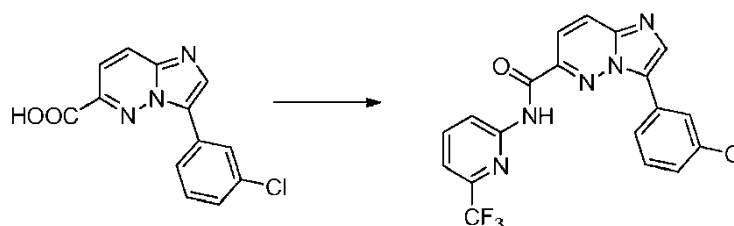
5 Etapa 1. Síntesis de ácido 3-(3-clorofenil)imidazo[1,2-b]piridazina-6-carboxílico:



3-Bromoimidazo[1,2-b]piridazin-6-carboxilato de metilo (0,8 g, 3,1 mmoles), ácido 3-clorofenilborónico (0,58 g, 3,75 mmoles),  $\text{Cs}_2\text{CO}_3$  (2,03 g, 6,25 mmoles) y  $\text{Pd}[\text{PPh}_3]_4$  (0,18 g, 0,156 mmoles) se disolvieron en una mezcla de disolvente (dioxano:agua: etanol = 4:1:10 gotas). La reacción se agitó a  $100^\circ\text{C}$  durante aproximadamente 4 h. La mezcla se concentró y se añadió agua (20,0 mL). Las impurezas se extrajeron con DCM. El agua se separó y se filtró. El pH de la fase acuosa se ajustó a 4-5 para dar un sólido. El sólido se filtró y se secó para dar ácido 3-(3-clorofenil)imidazo[1,2-b]piridazina-6-carboxílico (0,7 g, 81%). MS (ESI) calcd para  $\text{C}_{13}\text{H}_8\text{ClN}_3\text{O}_2$ : 273,03.

Este procedimiento de acoplamiento general podría usarse para preparar una variedad de ácidos imidazo[1,2-b]piridazin-6-carboxílicos 3-sustituidos sustituyendo el ácido borónico apropiado o resto éster borónico por ácido 3-clorofenilborónico.

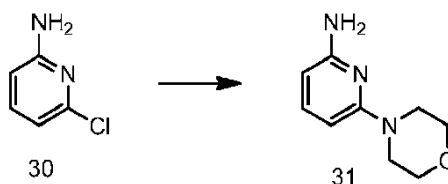
15 Etapa 2. Síntesis de 3-(3-clorofenil)-N-(6-(trifluorometil)piridin-2-il)imidazo[1,2-b]piridazina-6-carboxamida:



Se disolvieron ácido 3-(3-clorofenil)imidazo[1,2-b]piridazina-6-carboxílico (150,0 mg, 0,55 mmoles), 6-(trifluorometil)piridin-2-amina (180,0 mg, 1,11 mmoles), DIEA (142,0 mg, 1,11 mmoles) y HATU (422,0 mg, 1,11 mmoles) en DMF (30,0 mL). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 6 h, luego se vertió en agua y se filtró. El sólido se lavó con agua. La purificación dio 3-(3-clorofenil)-N-(6-(trifluorometil)piridin-2-il)imidazo[1,2-b]piridazina-6-carboxamida (62,0 mg, 28%). MS (ESI) calcd para  $\text{C}_{19}\text{H}_{11}\text{ClF}_3\text{N}_5\text{O}$ : 417,06; encontrado: 417,80 [M+H].

Este procedimiento de acoplamiento general podría usarse para preparar una variedad de 3-(3-clorofenil)-, 3-(3-fluorofenil)-, 3-(2-clorofenil)-, 3-(2-fluorofenil)-, y 3-(3-(trifluorometil)fenil)-imidazo[1,2-b]piridazina-carboxamidas sustituyendo el resto amina apropiado por 6-(trifluorometil)piridin-2-amina.

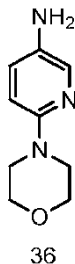
25 Ejemplo 5. Preparación de 6-morfolinopiridin-2-amina:



Una mezcla de 6-cloropiridin-2-amina (19,3 g, 150 mmoles),  $\text{K}_2\text{CO}_3$  (41,7 g, 0,30 moles) y morfolina (38,9 mL, 450 mmoles) en DMSO (150,0 mL) se agitó a  $190^\circ\text{C}$  (baño de aceite) durante 10 h. Después de enfriar a temperatura ambiente, se añadió agua (300,0 mL) y la mezcla se extrajo con acetato de etilo (4 x 150,0 mL). Las fases orgánicas combinadas se lavaron con agua (3 x 25,0 mL), se secaron sobre  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  y se concentraron *al vacío*. El residuo se purificó por cromatografía en gel de sílice (10:1 éter de petróleo: acetato de etilo) para dar 6-morfolinopiridin-2-amina como un sólido blanco (9,0 g, 54,8 mmoles). MS (ESI) calcd para  $\text{C}_9\text{H}_{13}\text{N}_3\text{O}$  (m/z): 179,11, encontrado 180 [M+H].

30

Se preparó 6-morfolinopiridin-3-amina



mediante la misma secuencia anterior, comenzando con 6-cloropiridin-3-amina.

Ejemplo

6.

5 Actividad biológica

Se usaron ensayos basados en espectrometría de masas para identificar los moduladores de la actividad SIRT1. El ensayo basado en TAMRA utilizó un péptido que tenía 20 residuos de aminoácidos como sigue: Ac-EE-K(biotina)-GQSTSSHSK(Ac)NleSTEG-K(5TMR)-EE-NH<sub>2</sub> (SEQ ID NO: 1) en donde K(Ac) es un residuo de lisina acetilado y Nle es una norleuquina. El péptido se marcó con el fluoróforo 5TMR (excitación 540 nm/emisión 580 nm) en el extremo C. La secuencia del sustrato peptídico se basó en p53 con varias modificaciones. Además, el residuo de metionina presente de forma natural en la secuencia se reemplazó con la norleuquina, ya que la metionina puede ser susceptible de oxidación durante la síntesis y la purificación. El ensayo basado en Trp utilizó un péptido que tenía unos residuos de aminoácidos como sigue: Ac-R-H-K(K(Ac))-W-NH<sub>2</sub> (SEQ ID NO: 2).

10

15

20

25

El ensayo de espectrometría de masas basado en TAMRA se realizó como sigue: Se incubó sustrato peptídico 0,5 μM y βNAD<sup>+</sup> 120 μM con SIRT1 10 nM durante 25 minutos a 25°C en un tampón de reacción (Tris-acetato 50 mM, pH 8, NaCl 137 mM, KCl 2,7 mM, MgCl<sub>2</sub> 1 mM, DTT 5 mM, 0,05% de BSA). La proteína SIRT1 se obtuvo clonando el gen SirT1 en un vector que contiene promotor T7, que se transformó después y se expresó en células bacterianas BL21(DE3). El compuesto de ensayo se añadió a concentraciones variables a esta mezcla de reacción y las reacciones resultantes se monitorizaron. Después de 25 minutos de incubación con SIRT1, se añadieron 10 μL de ácido fórmico al 10% para detener la reacción. Las reacciones resultantes se sellaron y se congelaron para análisis de espectrometría de masas posterior. La determinación de la cantidad de sustrato peptídico desacetilado formado (o, de forma alternativa, la cantidad de O-acetil-ADP-ribosa (OAADPR) generada) mediante la reacción de desacetilación dependiente de NAD mediada por sirtuina permitió la medida precisa de actividad SIRT1 relativa en presencia de concentraciones variables del compuesto de ensayo frente a reacciones de control que carecen del compuesto de ensayo.

30

35

40

El ensayo de espectrometría de masas Trp se realizó como sigue: Se incubaron sustrato peptídico 0,5 μM y βNAD<sup>+</sup> 120 μM con SIRT1 10 nM durante 25 minutos a 25°C en un tampón de reacción (HEPES 50 mM, pH 7,5, NaCl 1500 mM, DTT 1 mM, 0,05% de BSA). La proteína SIRT1 se obtuvo clonando el gen SirT1 en un vector que contiene promotor T7, que se expresó después en células bacterianas BL21(DE3) y se purificó como se describe después en mayor detalle. El compuesto de ensayo se añadió a concentraciones variables a esta mezcla de reacción y las reacciones resultantes se monitorizaron. Después de 25 minutos de incubación con SIRT1, se añadieron 10 μL de ácido fórmico al 10% para detener la reacción. Las reacciones resultantes se sellaron y se congelaron para análisis de espectrometría de masas posterior. La actividad relativa de SIRT1 se determinó entonces midiendo la cantidad de O-acetil-ADP-ribosa (OAADPR) formada (o, de forma alternativa, la cantidad de péptido Trp desacetilado generado) mediante la reacción de desacetilación de sirtuina dependiente de NAD en presencia de concentraciones variables del compuesto de ensayo frente a reacciones de control que carecen del compuesto de ensayo. El grado al que el agente de ensayo activó la desacetilación por SIRT1 se expresó como CE<sub>1,5</sub> (es decir, la concentración de compuesto necesaria para aumentar la actividad de SIRT1 un 50% sobre el control que carece de compuesto de ensayo), y Activación máxima porcentual (es decir, la actividad máxima respecto al control (100%) obtenida por el compuesto de ensayo).

45

50

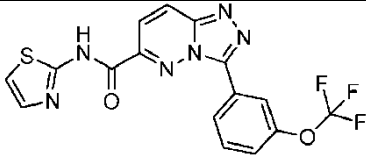
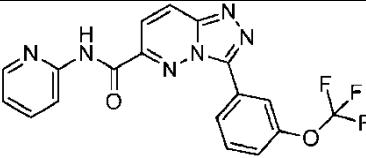
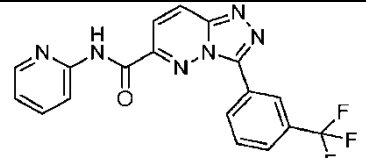
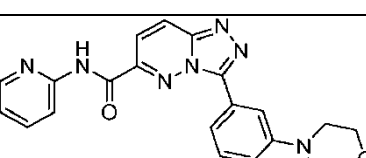
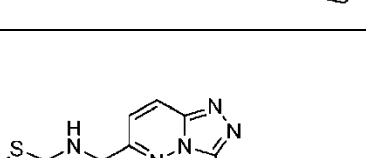
Un control para la inhibición de actividad de sirtuina se llevó a cabo añadiendo 1 μL de nicotinamida 500 mM como control negativo al comienzo de la reacción (por ejemplo, permite la determinación de la inhibición máxima de sirtuina). Se realizó un control para la activación de actividad de sirtuina usando 10 nM de proteína sirtuina, con 1 μL de DMSO en lugar del compuesto, para determinar la cantidad de desacetilación del sustrato en un punto temporal dado dentro del intervalo lineal del ensayo. Este punto temporal fue el mismo que el que se usó para los compuestos de ensayo y, dentro del intervalo lineal, el punto final representa un cambio en la velocidad. Para el ensayo anterior, la proteína SIRT1 se expresó y purificó como sigue. El gen de SirT1 se clonó en un vector que contenía el promotor T7 y se transformó en BL21(DE3). La proteína se expresó por inducción con IPTG 1 mM como una proteína de fusión marcada con His N-terminal a 18°C durante toda la noche, y se cosechó a 30.000 x g. Las células se lisaron con lisozima en tampón de lisis (Tris-HCl 50 mM, Tris[2-carboxietil] fosfina (TCEP) 2 mM, ZnCl<sub>2</sub> 10 μM, NaCl 200 mM) y se trataron adicionalmente con sonicación durante 10 min para la lisis completa. La proteína se purificó en una columna Ni-NTA (Amersham) y se mezclaron las fracciones que contenían la proteína pura, se concentraron y

se pasaron por una columna de exclusión molecular (Sephadex S200 26/60 global). El pico que contenía la proteína soluble se recogió y se pasó por una columna de intercambio iónico (MonoQ). El gradiente de elución ( NaCl 200 mM - 500 mM) produjo la proteína pura. Esta proteína se concentró y dializó frente al tampón de diálisis (Tris-HCl 20 mM, TCEP 2 mM) durante toda la noche. La proteína se repartió en alícuotas y se congeló a -80°C hasta uso posterior.

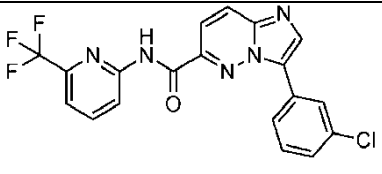
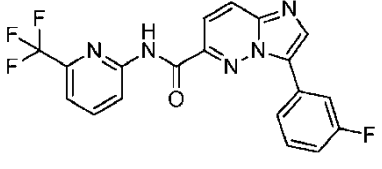
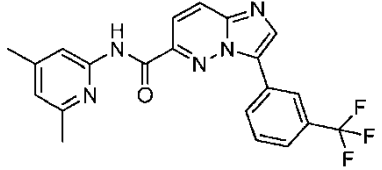
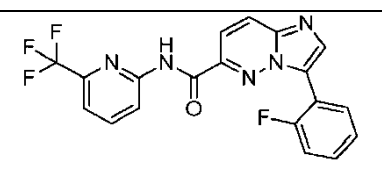
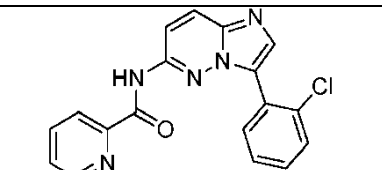
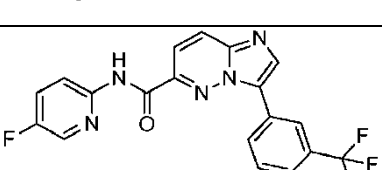
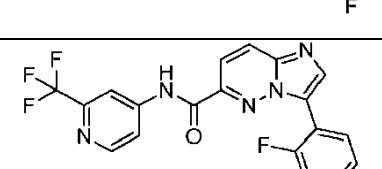
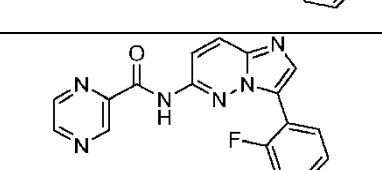
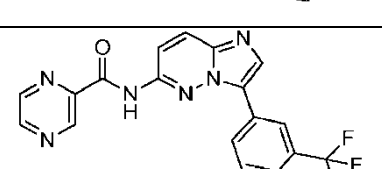
Los compuestos moduladores de sirtuina de Fórmula (I) que activaron SIRT1 se identificaron usando el ensayo anteriormente descrito y se muestran a continuación en la Tabla 1. Los valores  $CE_{1.5}$  representan la concentración de los compuestos de ensayo que dan por resultado la activación al 150% de SIRT1. Los valores de  $CE_{1.5}$  para los compuestos de activación de Fórmula (I) se representan por A ( $CE_{1.5} < 1 \mu M$ ), B ( $CE_{1.5} 1 - 25 \mu M$ ), C ( $CE_{1.5} > 25 \mu M$ ). La activación de nivel máximo porcentual se representa por A (Activación de nivel  $\geq 350\%$ ) o B (Activación de nivel  $< 350\%$ ). "NE" significa no ensayado; "ND" significa no determinable.

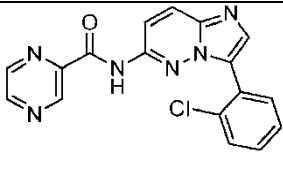
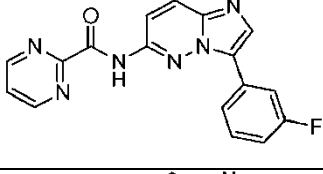
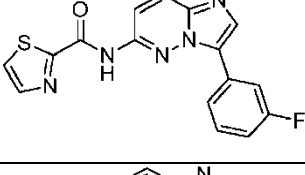
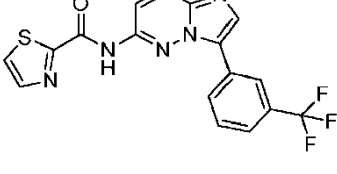
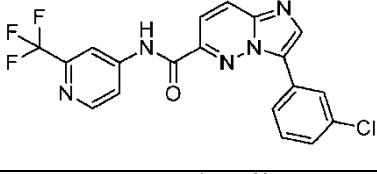
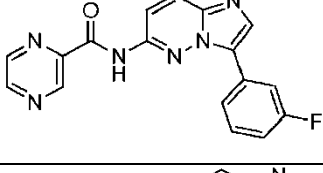
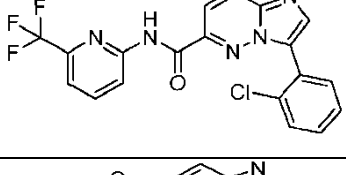
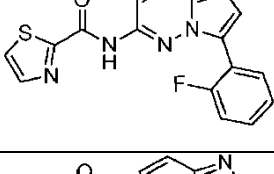
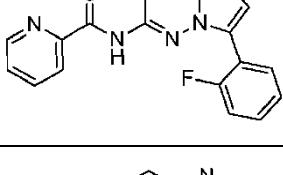
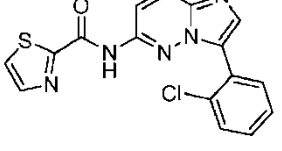
Los compuestos moduladores de sirtuina de Fórmula (I) que activaron SIRT1 se identificaron usando el ensayo descrito anteriormente y se muestran a continuación en la Tabla 1. Los valores de  $CE_{1.5}$  representan la concentración de compuestos de ensayo que dan por resultado la activación del 150% de SIRT1. Los valores de  $CE_{1.5}$  para los compuestos de activación de Fórmula (I) se representan por A ( $CE_{1.5} < 1 \mu M$ ), B ( $CE_{1.5} 1 - 25 \mu M$ ), C ( $CE_{1.5} > 25 \mu M$ ). La activación de nivel máximo porcentual se representa por A (Activación de nivel  $\geq 350\%$ ) o B (Activación de nivel  $< 350\%$ ). "NE" significa no ensayado; "ND" significa no determinable.

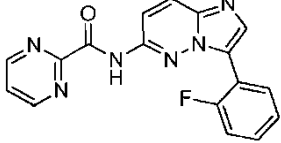
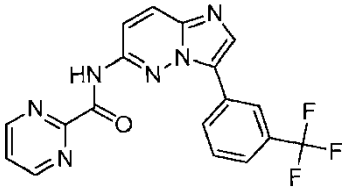
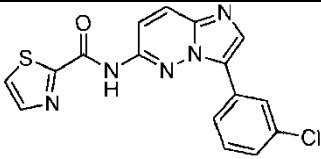
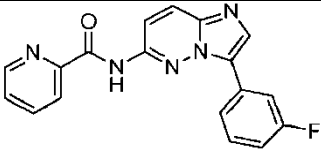
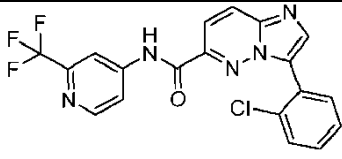
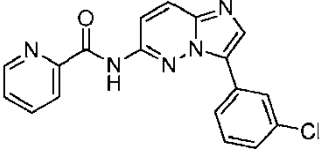
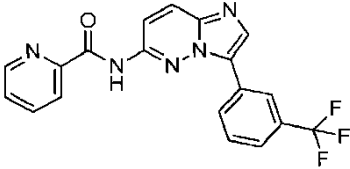
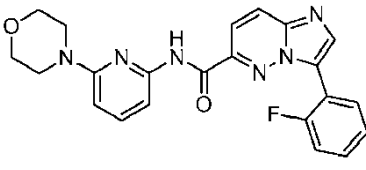
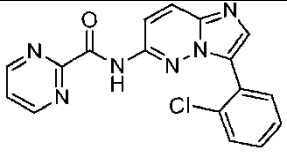
Tabla 1. Compuestos de fórmula (I)

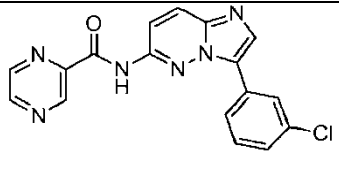
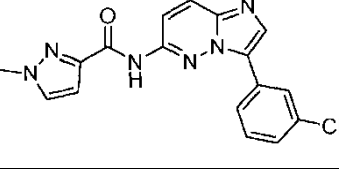
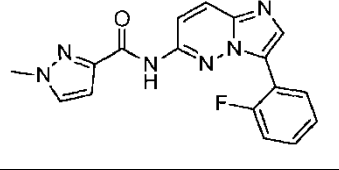
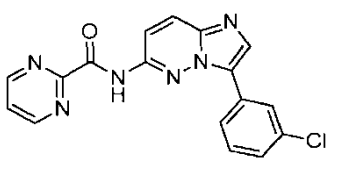
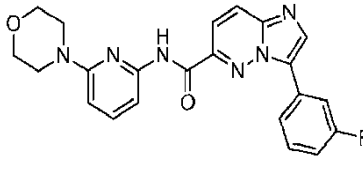
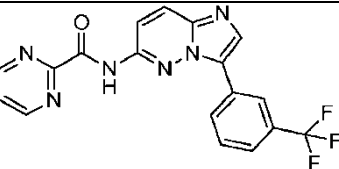
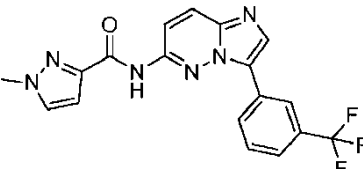
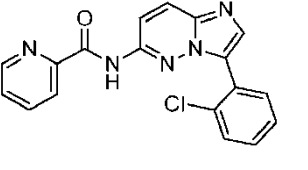
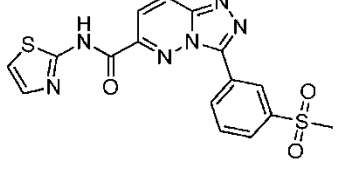
Compuesto núm.	[M+H] <sup>+</sup>	Estructura	TAMRA		TYP	
			$CE_{1.5}$ ( $\mu M$ )	% de act. de nivel	$CE_{1.5}$ ( $\mu M$ )	% de act. de nivel
1	407		C	B	B	B
2	401		C	B	NE	NE
3	385		C	NE	NE	NE
4	402		C	B	C	B
5	408		C	B	C	B



6	418		C	B	C	B
7	402		B	B	NE	NE
8	412		B	B	C	B
9	402		B	B	NE	NE
10	452		B	B	NE	NE
11	402		B	B	NE	NE
12	402		B	B	NE	NE
13	335		C	B	NE	NE
14	385		C	B	C	B

15	351		C	B	C	B
16	335		C	B	C	B
17	340		B	B	NE	NE
18	390		C	B	C	B
19	418		B	B	C	B
20	335		B	B	NE	NE
21	418		C	B	C	B
22	340		C	B	C	B
23	334		C	B	C	B
24	356		B	B	NE	NE

25	335		B	B	NE	NE
26	452		B	B	NE	NE
27	356		B	B	NE	NE
28	334		B	B	NE	NE
29	418		B	B	NE	NE
30	350		B	B	NE	NE
31	384		B	B	NE	NE
32	419		C	B	NE	NE
33	351		A	A	NE	NE

34	351		A	B	NE	NE
35	353		A	B	NE	NE
36	337		A	B	NE	NE
37	351		B	B	NE	NE
38	419		C	B	C	B
39	385		NE	NE	C	B
40	387		C	B	NE	NE
41	350		C	B	NE	NE
42	401		C	B	NE	NE

43	337		C	B	NE	NE
44	435		C	B	C	B
45	353		C	B	NE	NE
46	435		B	B	NE	NE
47	468		A	A	NE	NE
48	469		A	A	A	B
49	391		C	B	NE	NE
50	402		C	B	NE	NE

En ciertas realizaciones, el compuesto de la invención se selecciona de cualquiera de los números de compuesto 9, 10, 12, 16, 18, 20, 22, 23, 25, 26, 27, 29, 30, 31, 33, 34, 35, 36, 47 y 48.

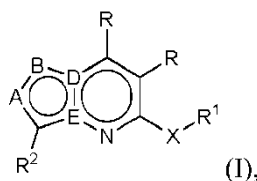
#### Equivalentes

- 5 La presente invención proporciona entre otras cosas compuestos moduladores de sirtuina y compuestos para usar en métodos para modular el nivel y/o actividad de la proteína sirtuina. A pesar de que se han tratado realizaciones específicas de la invención, la memoria anterior es ilustrativa y no restrictiva. Muchas variaciones de la invención

serán evidentes para los expertos en la técnica tras la revisión de esta memoria. El alcance total de la invención se determinaría por referencia a las reivindicaciones.

## REIVINDICACIONES

1. Un compuesto de la fórmula (I):



o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en donde:

5 D es C, tanto E como B son N, y A es N o CR;

cada R se selecciona independientemente de hidrógeno, halo, OH, C≡N, alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>, alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> halo-sustituido, alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> alcoxi C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> sustituido, alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub> hidroxil-sustituido, O-R<sup>3</sup>, -O-(alquil C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)-OR<sup>3</sup>, S-(alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>), S-(alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> halo-sustituido), N(alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> hidroxil-sustituido)<sub>2</sub>, N(alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> metoxil-sustituido)<sub>2</sub>, N(alquil C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)(alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> hidroxil-sustituido), N(alquil C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)(alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> metoxil-sustituido), cicloalquilo C<sub>3</sub>-C<sub>7</sub>, y heterociclo no aromático de 4 a 8 miembros;

R<sup>1</sup> es un heterociclo aromático monocíclico, en donde R<sup>1</sup> está opcionalmente sustituido con uno o más sustituyentes seleccionados independientemente de halo, C≡N, alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>, alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> halo-sustituido, alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> alcoxi C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> sustituido, alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub> hidroxil-sustituido, O-R<sup>3</sup>, O-(alquil C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)-OR<sup>3</sup>, =O, cicloalquilo C<sub>3</sub>-C<sub>7</sub>, SO<sub>2</sub>R<sup>3</sup>, S-R<sup>3</sup>, (alquil C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)-N(R<sup>3</sup>)(R<sup>3</sup>), N(R<sup>3</sup>)(R<sup>3</sup>), O-(alquil C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)-N(R<sup>3</sup>)(R<sup>3</sup>), O-(alquil C<sub>0</sub>-C<sub>4</sub>)-CR<sup>3</sup>R<sup>3</sup>-(alquil C<sub>0</sub>-C<sub>4</sub>), (alquil C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)-O-(alquil C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)-N(R<sup>3</sup>)(R<sup>3</sup>), C(=O)-N(R<sup>3</sup>)(R<sup>3</sup>), (alquil C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)-C(=O)-N(R<sup>3</sup>)(R<sup>3</sup>), O-(alquil C<sub>0</sub>-C<sub>4</sub>)-CR<sup>x</sup>R<sup>x</sup>-(alquilo C<sub>0</sub>-C<sub>4</sub>), CR<sup>x</sup>R<sup>x</sup>, fenilo, O-fenilo, segundo heterociclo, O-(segundo heterociclo), 3,4-metilendioxi, 3,4-metilendioxi halo-sustituido, 3,4-etilendioxi y 3,4-etilendioxi halo-sustituido, en donde cualquier sustituyente fenilo, heterociclo saturado o segundo heterociclo de R<sup>1</sup> está opcionalmente sustituido con uno o más sustituyentes independientemente seleccionados de halo, C≡N, alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>, alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> halo-sustituido, O-(alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> halo-sustituido), O-(alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>), S-(alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>), S-(alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> halo-sustituido), y N(R<sup>3</sup>)(R<sup>3</sup>), y R<sup>1</sup> puede ser adicionalmente un heterociclo aromático bicíclico;

R<sub>2</sub> es un heterociclo o un carbociclo aromático, en donde R<sub>2</sub> está opcionalmente sustituido con uno o más sustituyentes seleccionados independientemente de flúor, bromo, cloro, C≡N, alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>, alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> halo-sustituido, alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> alcoxi C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> sustituido, alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub> hidroxil-sustituido, O-R<sup>3</sup>, O-(alquil C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)-OR<sup>3</sup>, =O, cicloalquilo C<sub>3</sub>-C<sub>7</sub>, SO<sub>2</sub>R<sup>3</sup>, S-R<sup>3</sup>, -(alquil C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)-N(R<sup>3</sup>)(R<sup>3</sup>), N(R<sup>3</sup>)(R<sup>3</sup>), O-(alquil C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)-N(R<sup>3</sup>)(R<sup>3</sup>), O-(alquil C<sub>0</sub>-C<sub>4</sub>)-CR<sup>3</sup>R<sup>3</sup>-(alquil C<sub>0</sub>-C<sub>4</sub>), (alquil C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)-O-(alquil C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)-N(R<sup>3</sup>)(R<sup>3</sup>), C(=O)-N(R<sup>3</sup>)(R<sup>3</sup>), (alquil C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)-C(=O)-N(R<sup>3</sup>)(R<sup>3</sup>), fenilo, O-fenilo, segundo heterociclo, O-(segundo heterociclo), 3,4-metilendioxi, 3,4-metilendioxi halo-sustituido, 3,4-etilendioxi o 3,4-etilendioxi halo-sustituido, en donde cualquier sustituyente fenilo, heterociclo saturado o segundo heterociclo de R<sub>2</sub> está opcionalmente sustituido con uno o más sustituyentes seleccionados independientemente de halo, C≡N, alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>, alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> halo-sustituido, O-(alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> halo-sustituido), O-(alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>), S-(alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>), S-(alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> halo-sustituido) y NR<sup>3</sup>R<sup>3</sup>.

cada R<sup>3</sup> se selecciona independientemente de hidrógeno y alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> opcionalmente sustituido con uno o más de OH, O-(alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>), halo, NH<sub>2</sub>, NH(alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>), N(alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)<sub>2</sub>, NH(alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> metoxil-sustituido), NH(alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> hidroxil-sustituido), N(alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> metoxil-sustituido) (alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> hidroxil-sustituido), N(alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> hidroxil-sustituido)<sub>2</sub> o N(alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> metoxil-sustituido)<sub>2</sub>; o

dos R<sup>3</sup> se toman junto con el átomo de nitrógeno o carbono al que están unidos para formar un heterociclo saturado de 4 a 8 miembros que comprende opcionalmente un heteroátomo adicional seleccionado independientemente de N, S, S(=O), S(=O)<sub>2</sub>, y O, en donde el heterociclo formado por dos R<sup>3</sup> está opcionalmente sustituido en cualquier átomo de carbono con uno o más de -OH, alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>, alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> halo-sustituido, halo, NH<sub>2</sub>, NH(alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>), N(alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)<sub>2</sub>, -O(alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>), NH(alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> hidroxil-sustituido), N(alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> hidroxil-sustituido)<sub>2</sub>, N(alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> metoxil-sustituido) (alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> hidroxil-sustituido), NH(alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> metoxil-sustituido), o N(alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> metoxil-sustituido)<sub>2</sub>, y opcionalmente sustituido por cualquier átomo de nitrógeno sustituible con alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> o alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> halo-sustituido;

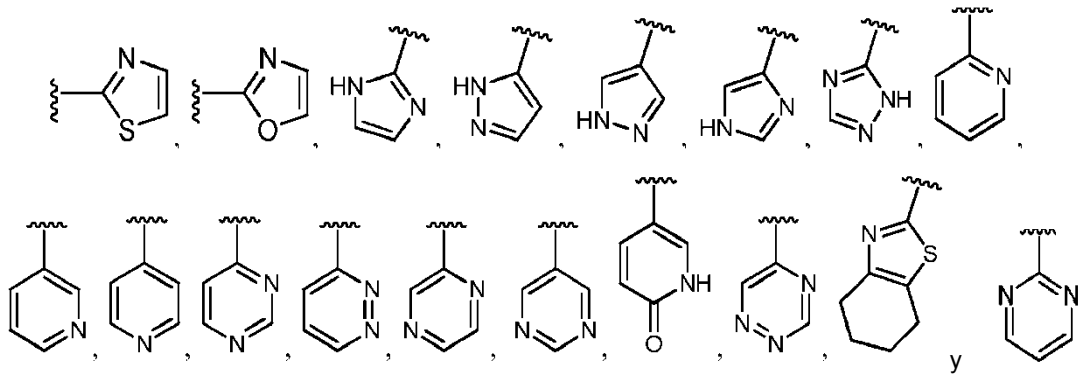
dos R<sup>x</sup> tomados junto con el átomo de carbono al que están unidos forman un carbociclo o heterociclo de 4 a 8 miembros que comprende opcionalmente uno o dos heteroátomos independientemente seleccionados de N, S, S(=O), S(=O)<sub>2</sub>, y O, en donde el carbociclo o heterociclo está opcionalmente sustituido en cualquier átomo de carbono con uno o más de OH, alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>, alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> halo-sustituido, halo, NH<sub>2</sub>, y N(R<sup>3</sup>)(R<sup>3</sup>), y opcionalmente sustituido en cualquier átomo de nitrógeno sustituible con alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> o alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> halo-sustituido; y

X se selecciona de C(=O)-NH-† y NH-C(=O)†,

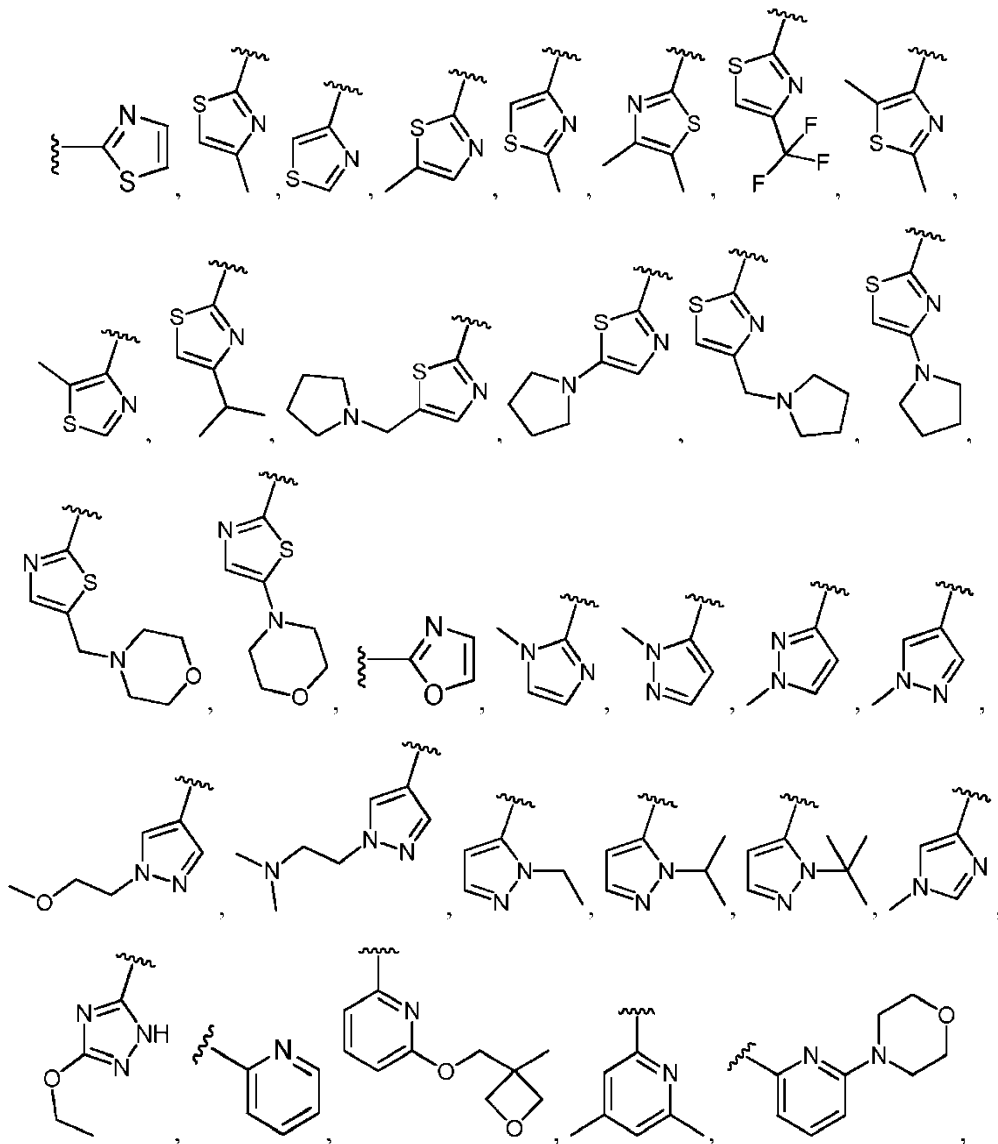
en donde:

† representa donde X está unido a R<sup>1</sup>.

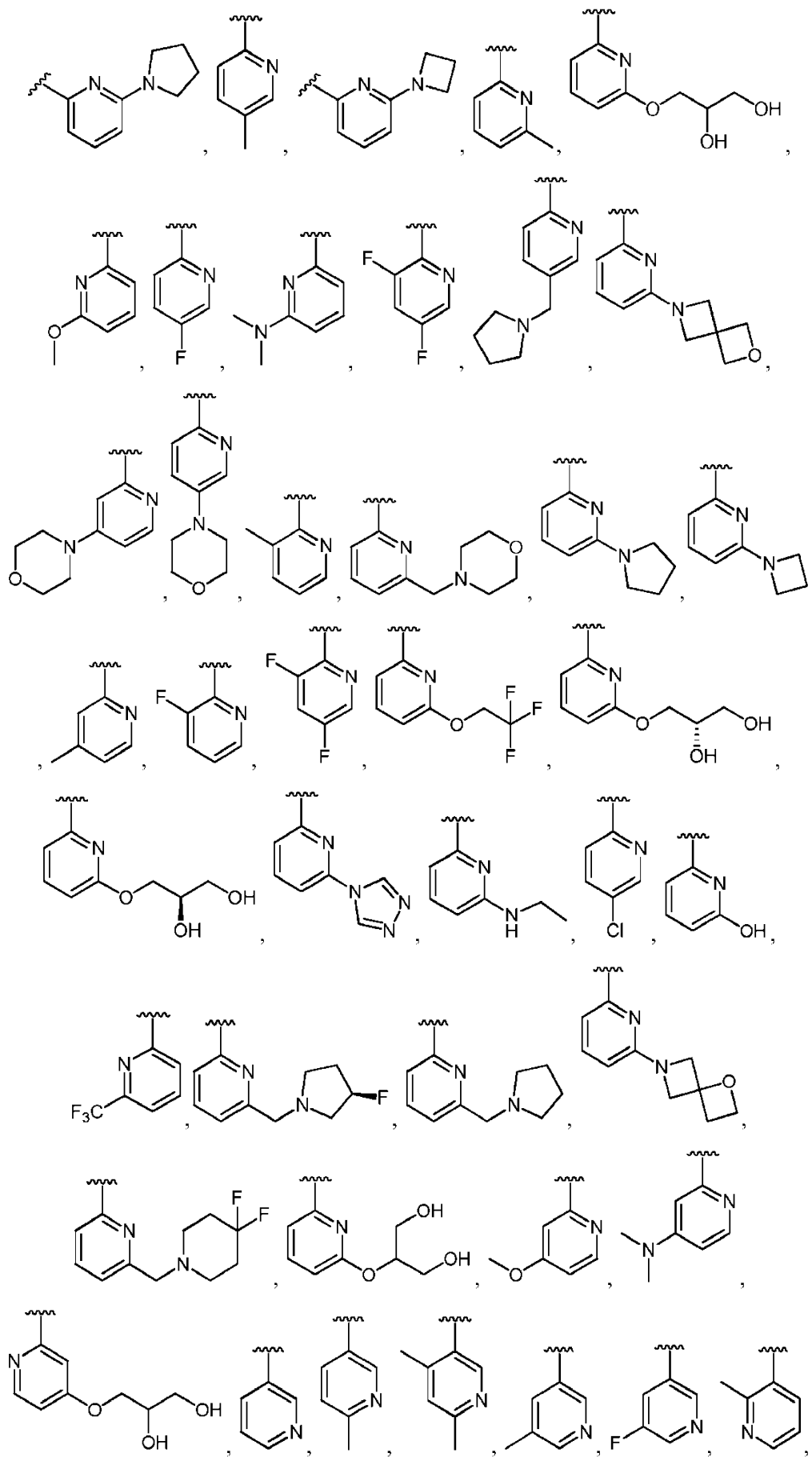
2. El compuesto según la reivindicación 1, en donde R<sup>1</sup> se selecciona del opcionalmente sustituido:

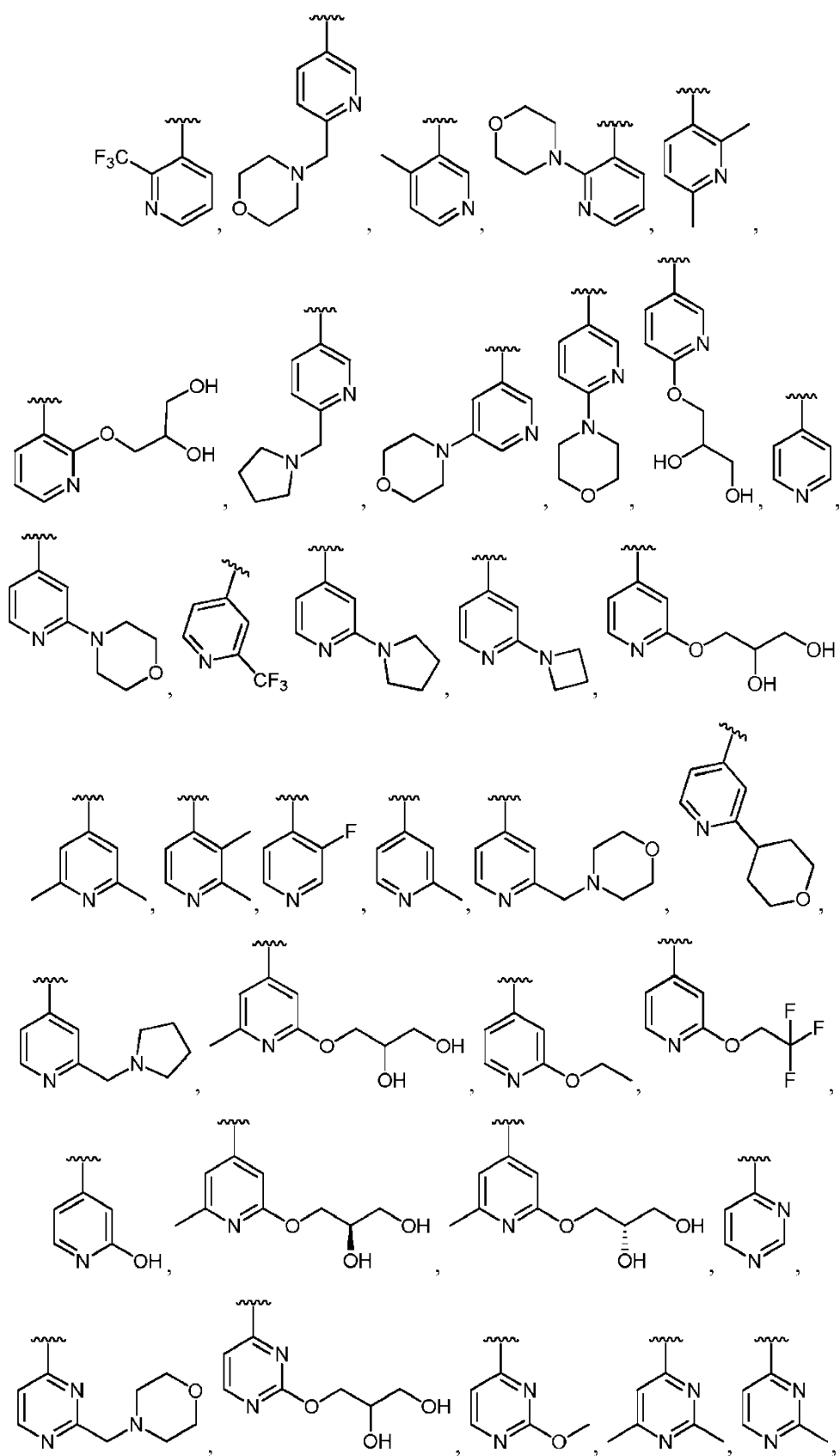


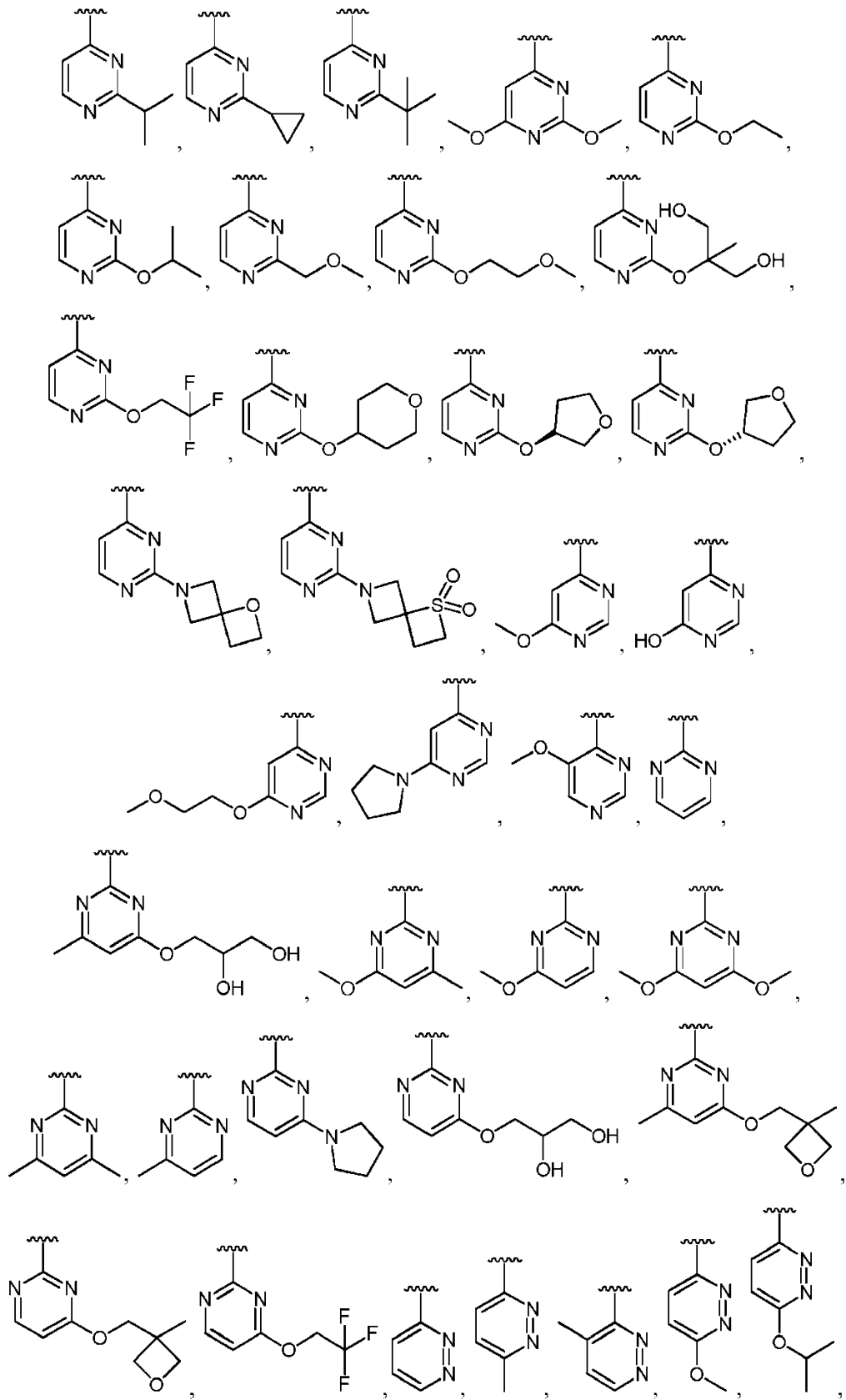
5 3. El compuesto según la reivindicación 1, en donde R<sup>1</sup> se selecciona de:

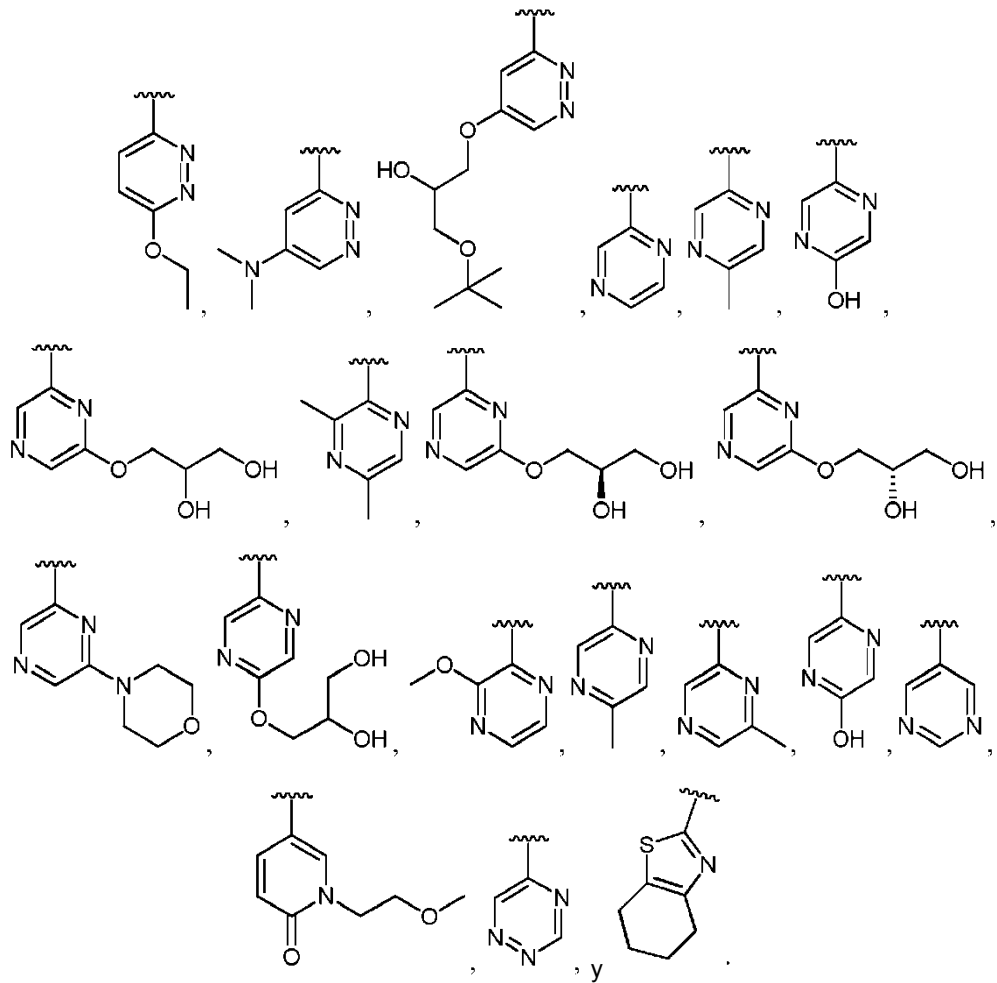




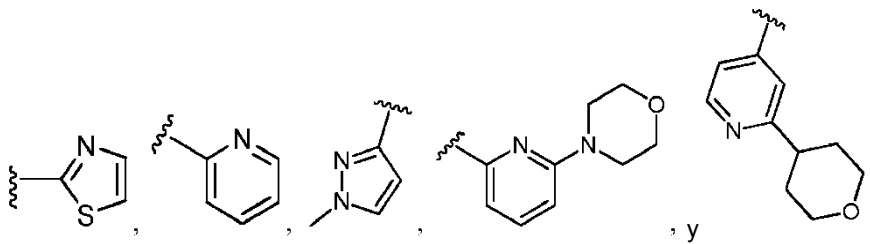




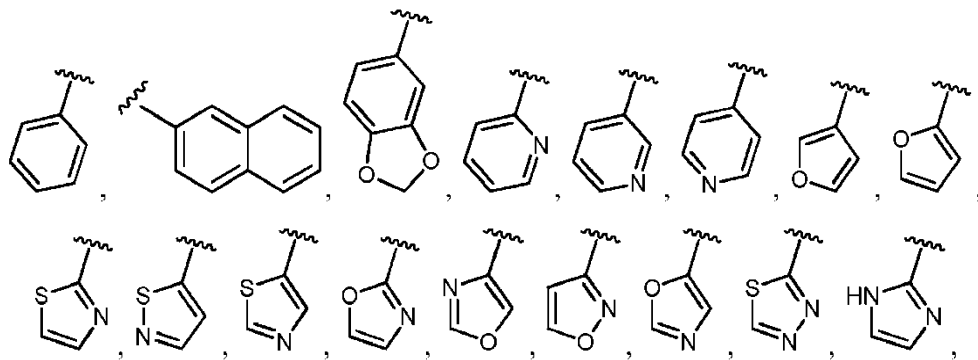


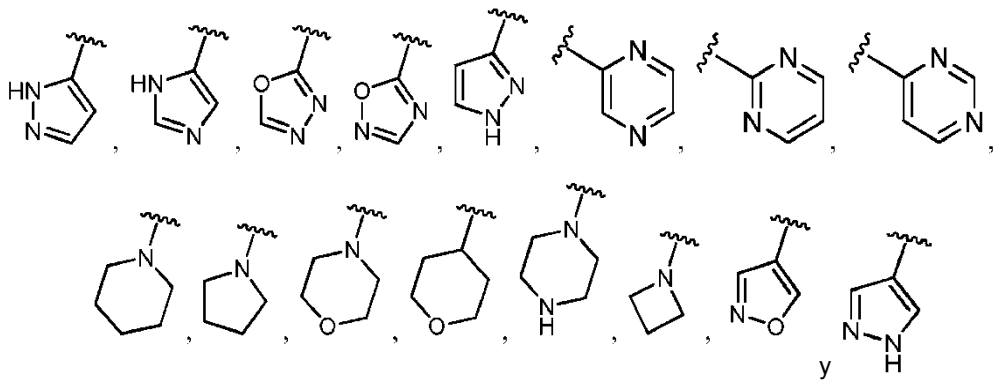


5 4. El compuesto según la reivindicación 3, en donde R<sup>1</sup> se selecciona de:



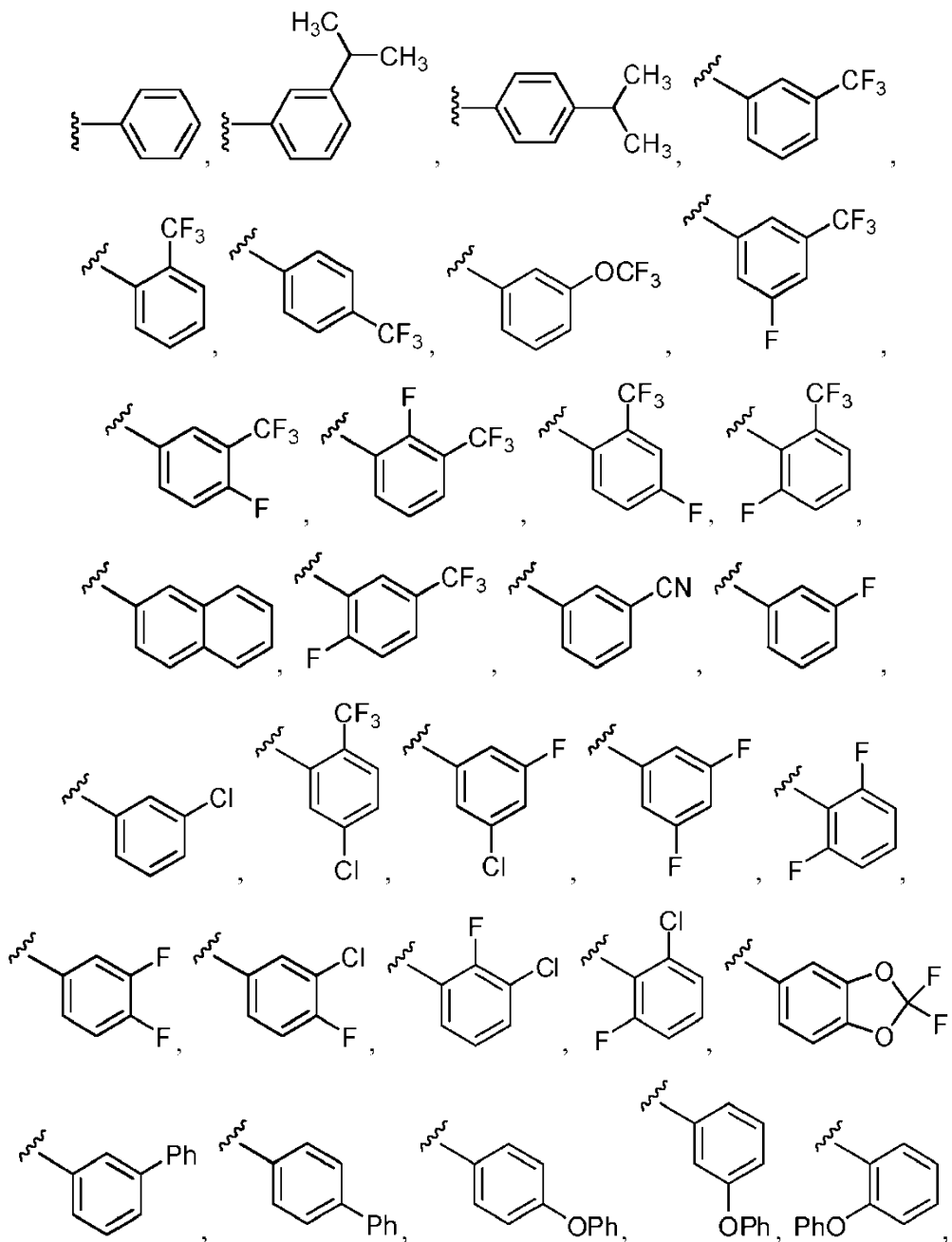
5. El compuesto según cualquier reivindicación anterior, en donde R<sup>2</sup> se selecciona del opcionalmente sustituido:



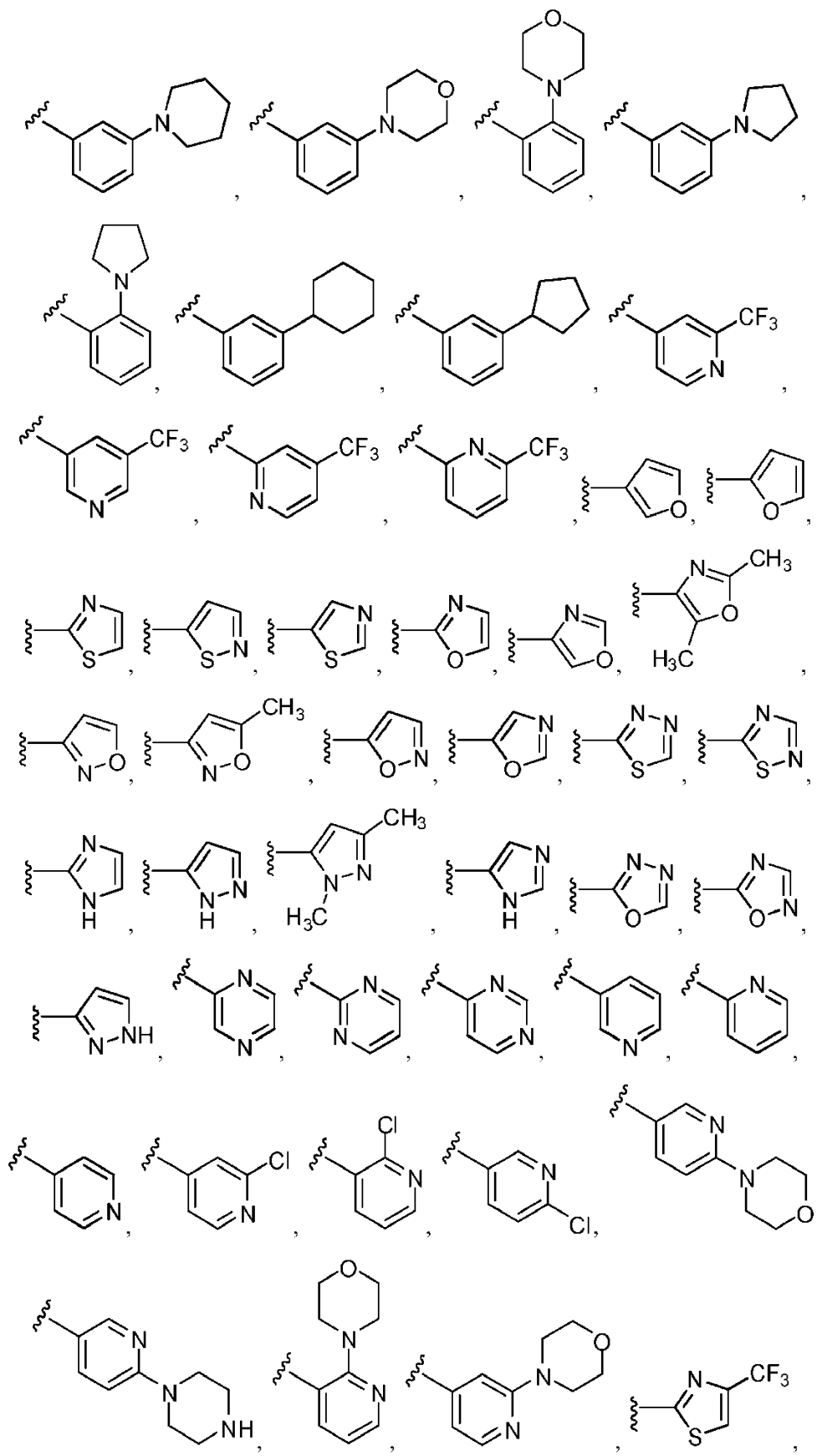


6. El compuesto según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en donde R<sup>2</sup> se selecciona de:

5



10





8. El compuesto según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en donde R<sup>2</sup> se selecciona de carbociclo aromático opcionalmente sustituido y heterociclo no aromático opcionalmente no sustituido.

9. El compuesto según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4 o 8, en donde R<sup>2</sup> está opcionalmente sustituido con uno o más sustituyentes seleccionados independientemente de bromo, flúor, cloro, alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>, O-R<sup>3</sup> y N(R<sup>3</sup>)(R<sup>3</sup>).

5 10. El compuesto según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9, en donde R se selecciona de hidrógeno, halo, alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>, O-R<sup>3</sup> y heterociclo no aromático de 4 a 8 miembros.

11. Un compuesto según la reivindicación 1, que es:

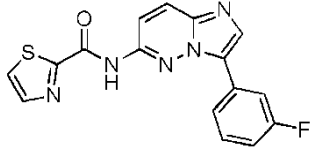
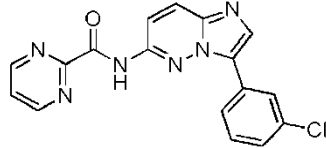
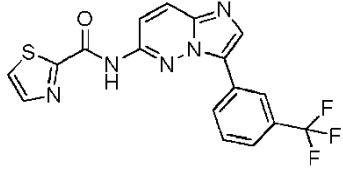
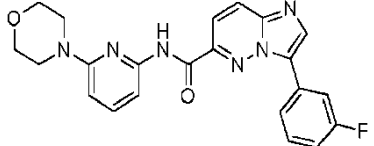
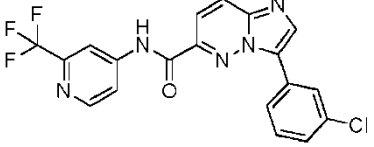
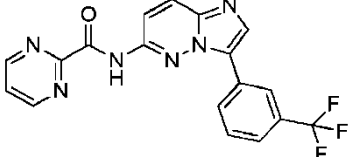
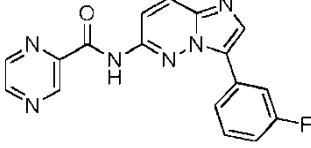
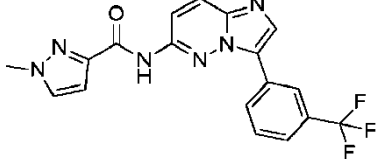
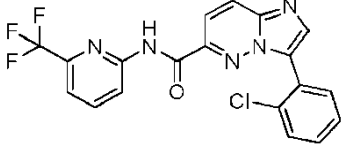
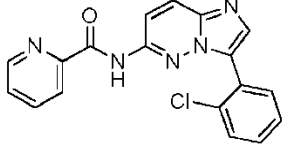
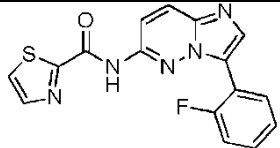
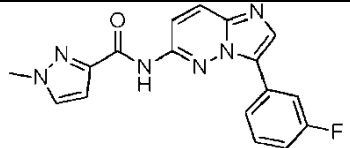
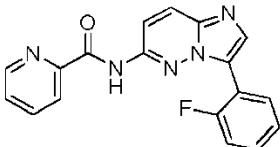
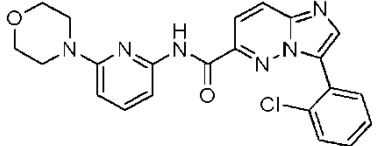
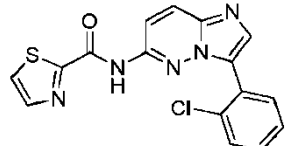
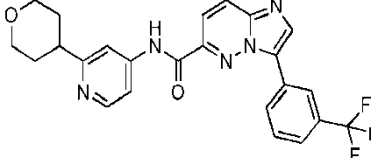
Comp. núm.	Estructura	Comp. núm.	Estructura
1		5	
2		42	
3		49	
4			

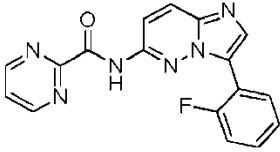
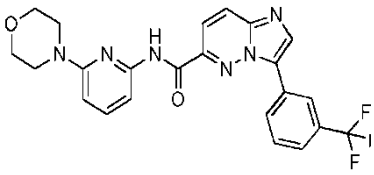
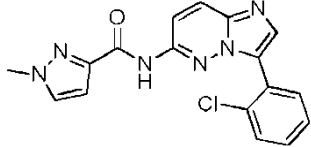
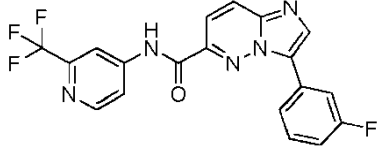
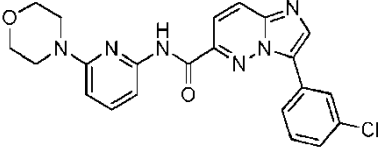
12. Un compuesto según la reivindicación 1, que es:

Comp. núm.	Estructura	Comp. núm.	Estructura
6		26	
7		27	



8		28	
9		29	
10		30	
11		31	
12		32	
13		33	
14		34	
15		35	
16		36	

17		37	
18		38	
19		39	
20		40	
21		41	
22		43	
23		44	
24		47	

25		48	
45		50	
46			

13. Una composición farmacéutica que comprende un vehículo o diluyente farmacéuticamente aceptable y un compuesto según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 12.

5 14. Un compuesto según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 12 para usar en el tratamiento de un sujeto que sufre de o es susceptible a 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.